



**KİTOSAN-GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL YÜKLENMİŞ
OLEUROPEİNİN RATLARDA STREPTOZOSİN İLE
İNDÜKLENEN DİYABET ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Nevra AYDEMİR CELEP

Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Rüstem Anıl UĞAN**

Doktora Tezi-2026



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**KİTOSAN-GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL YÜKLENMİŞ
OLEUROPEİNİN RATLARDA STREPTOZOSİN İLE
İNDÜKLENEN DİYABET ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Nevra AYDEMİR CELEP

**Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Rüstem Anıl UĞAN**

**ERZURUM
2026**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Diabetes Mellitus	4
2.1.1. Diyabetin Metabolik ve Hücresel Mekanizmaları	4
2.1.1.1. Pankreasın Yapısı ve Fonksiyonları	4
2.1.1.2. İnsülinin Biyolojik Rolü	5
2.1.1.3. Pankreastan İnsülin Salgılanması	6
2.1.1.4. Diyabetin Metabolik Bozuklukları	8
2.1.1.5. Hücresel Mekanizmalar ve Pankreatik β -Hücre Fonksiyonları	9
2.1.2. Diyabetin Epidemiyolojisi	11
2.1.3. Diyabet Tanı Kriterleri.....	12
2.1.4. Diyabet Sınıflandırması	13
2.1.4.1. Tip I Diyabet.....	13
2.1.4.2. Tip II Diyabet.....	15
2.1.4.3. Gestasyonel Diyabet	16
2.1.4.4. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri.....	17
2.1.5. Diyabet Tedavisi	17

2.1.5.1. T1DM Tedavisi.....	17
2.1.5.2. T2DM Tedavisi.....	18
2.1.6. Deneysel Diyabet Modelleri	20
2.1.6.1. Cerrahi Yöntemle Oluşturulan Diyabet Modelleri	21
2.1.6.2. Genetik Temelli Diyabet Modelleri	21
2.1.6.3. Kimyasal Ajanlarla Oluşturulan Diyabet Modelleri	21
2.1.7. Diyabetin Komplikasyonları.....	22
2.1.7.1. Mikrovasküler Komplikasyonlar	23
2.1.7.2. Makrovasküler Komplikasyonlar	24
2.2. Olea Europaea.....	26
2.3. Gümüş Nanopartiküller (Ag-NP'ler).....	27
2.4. Kitosan (K)	28
3. MATERYAL VE METOT.....	29
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Deney Hayvanları	29
3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve Hazırlanışları.....	29
3.1.2.1. Kitosan-Gümüş Nanopartikül (K-AgNP) Sentezi ve Karakterizasyonu	29
3.1.2.2. Streptozosinin Hazırlanması	33
3.2. Metot	34
3.2.1. Hayvanların Bakımı ve Grupların Oluşturulması	34
3.2.2. K-AgNP+Oleuropein Uygulanışı	34
3.2.3. Deneyin Sonlandırılması.....	35
3.2.4. Histopatolojik Analizler.....	36
3.2.5. İmmünohistokimyasal Analizler.....	36
3.2.6. Biyokimyasal Analizler	38

3.2.6.1. Kan Serumu Ölçümleri	38
3.2.6.2. Pankreas Dokusundaki Biyokimyasal Parametrelerin Analizleri	38
3.2.7. İstatiksel Analizler	40
4. BULGULAR.....	42
4.1. Yaşamsal Bulgular	42
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	45
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	48
4.4. Biyokimyasal Bulgular	58
4.4.1. Serum İnsülin Seviyesi	58
4.4.2. Serum C-peptid Seviyesi	59
4.4.3. Doku GSH (Glutasyon) Seviyesi	60
4.4.4. Doku MDA (Malondialdehit) Düzeyi.....	61
4.4.5. Doku SOD1 (Süperoksit Dismutaz 1) Protein Düzeyi	62
4.5. Moleküler Bulgular.....	63
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	77
KAYNAKLAR	79
EKLER	101
EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu.....	101
EK-2. Etik Kurul Onay Formu	102

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi, tecrübesi ve akademik birikimiyle bana yol gösteren; araştırma sürecinin her aşamasında bilimsel desteğini ve kıymetli yönlendirmelerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Rüstem Anıl UĞAN'a en derin saygı, minnettarlık ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın yürütülmesi ve geliştirilmesi sürecinde bilgi birikimleri, değerli tecrübeleri ve yapıcı katkılarıyla çalışmama önemli destek sağlayan Sayın Prof. Dr. Elif ÇADIRCI ve Prof. Dr. Yasin BAYIR'a içten teşekkürlerimi sunarım. Doktora sonrası araştırmalarım kapsamında 2218 Doktora Sonrası Burs Programı (Proje No: 123C140) çerçevesinde sağlanan bilimsel ve maddi destek dolayısıyla TÜBİTAK'a, ayrıca proje sürecindeki kıymetli rehberliği ve destekleri için Sayın Prof. Dr. Adem KARA'ya teşekkürlerimi ifade ederim. Tez çalışmamın deneysel aşamalarında değerli katkıları ve destekleriyle yanımda olan Sayın Prof. Dr. Zekai HALICI'ya ve Doç. Dr. Semin GEDİKLİ'ye teşekkür ederim. Bu çalışmayı TDK-2024-14586 numaralı proje kapsamında destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne şükranlarımı sunarım. Çalışmam süresince biyokimyasal analizlerdeki değerli katkılarından dolayı Arş. Gör. Aylin AYDIN'a teşekkür ederim. Doktora eğitimim boyunca gösterdikleri sabır, anlayış ve sevgileriyle her zaman yanımda olan, her zaman bana güç veren sevgili eşime, kıymetli kızıma ve aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Nevra AYDEMİR CELEP

ÖZET

Kitosan-Gümüş Nanopartikül Yüklü Oleuropeinin Ratlarda Streptozosin ile İndüklenen Diyabet Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Oleuropeinin güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden yararlanılarak diyabet üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada, oleuropein yüklü kitosan-gümüş nanopartiküllerinin antidiyabetik etkileri deneysel Tip 1 diyabet modeli üzerinde değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında öncelikle kitosan-gümüş nanopartikülleri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Ardından nanopartiküllere oleuropein yüklenerek uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda tasarlanan çalışmada, kitosan-gümüş nanopartikül yüklü oleuropeinin Tip 1 diyabet tedavisindeki terapötik potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada, kitosan-gümüş nanopartikül (K-AgNP) yüklü oleuropeinin sıçanlarda streptozosin (STZ) ile oluşturulan deneysel Tip 1 diyabet modelindeki terapötik etkileri araştırılmıştır. Deney gruplarına 14 gün boyunca K-AgNP ve/veya oleuropein uygulanmıştır; pankreas dokusu ve kan glikoz düzeyleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Pankreas dokusunda PI3K, AKT1, GLUT2, insülin ve TNF- α protein ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle; Caspase-3, Bcl-2, GSK3 β , mTOR ve NF- κ B proteinleri Western Blot yöntemiyle analiz edilmiştir. Serumda C-peptid ve insülin düzeyleri ELISA ile ölçülmüş; pankreas dokusunda MDA, GSH ve SOD1 düzeyleri belirlenerek oksidatif stres değerlendirilmiştir.

Bulgular: İmmünohistokimyasal analizlerde DM+K-AgNP+OLE grubunda pankreas dokusunda PI3K, AKT1, GLUT2 ve insülin protein ekspresyonlarında artış, TNF- α ekspresyonunda ise azalma gözlenmiştir. Western Blot analizlerinde DM+K-AgNP+OLE grubunda Caspase-3, GSK3 β ve NF- κ B protein ekspresyonlarında azalma; Bcl-2 ve mTOR ekspresyonlarında artış belirlenmiştir. ELISA analizlerinde DM+K-AgNP+OLE grubunda serum C-peptid ve insülin düzeylerinde artış saptanmıştır. Ayrıca DM+K-AgNP+OLE grubunda pankreas dokusunda MDA düzeyinin azaldığı, GSH ve SOD1 seviyelerinin ise arttığı belirlenmiştir.

Sonuç: Elde edilen bulgular, uygulanan yaklaşımın pankreas dokusunda oluşan hasarı azalttığını, oksidatif stresi baskıladığını ve hücrel sinyal yollarını düzenleyerek koruyucu etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, kitosan-gümüş nanopartikül, oleuropein, pankreas

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Chitosan-Silver Nanoparticle-Loaded Oleuropein on Streptozocin-Induced Diabetes in Rats

Aim: The effects of oleuropein on diabetes have been investigated by utilizing its strong antioxidant and anti-inflammatory properties. In this study, the antidiabetic effects of oleuropein-loaded chitosan-silver nanoparticles were evaluated on an experimental Type 1 diabetes model. First, chitosan-silver nanoparticles were synthesized and characterized. Then, oleuropein was loaded onto the nanoparticles, and applications were carried out. This study aimed to determine the therapeutic potential of chitosan-silver nanoparticle-loaded oleuropein in the treatment of Type 1 diabetes.

Materials and Methods: In this study, the therapeutic effects of oleuropein-loaded chitosan-silver nanoparticles (K-AgNP) were investigated in cellular and streptozocin (STZ)-induced experimental Type 1 diabetes models. K-AgNP and/or oleuropein were administered to the experimental groups for 14 days, and their effects on pancreatic tissue and blood glucose levels were evaluated.

In pancreatic tissue, the expression levels of PI3K, AKT1, GLUT2, insulin, and TNF- α were determined by immunohistochemical analysis, while the expression levels of Caspase-3, Bcl-2, GSK3 β , mTOR, and NF- κ B were analyzed by Western blot. Serum C-peptide and insulin levels were measured by ELISA, and MDA, GSH, and SOD1 levels in pancreatic tissue were determined to evaluate oxidative stress.

Results: Immunohistochemical analyses revealed that in the DM+K-AgNP+OLE group, protein expression levels of PI3K, AKT1, GLUT2, and insulin in pancreatic tissue were increased, whereas TNF- α expression was decreased. Western blot analyses showed that in the DM+K-AgNP+OLE group, protein expression of Caspase-3, GSK3 β , and NF- κ B was decreased, while expression of Bcl-2 and mTOR was increased. ELISA analyses demonstrated that serum C-peptide and insulin levels were increased in the DM+K-AgNP+OLE group. In addition, in the DM+K-AgNP+OLE group, MDA levels in pancreatic tissue were decreased, whereas GSH and SOD1 levels were increased.

Conclusion: These findings suggest that the applied approach may reduce pancreatic tissue damage, suppress oxidative stress, and exert protective effects by regulating cellular signaling pathways.

Key Words: Chitosan-silver nanoparticle, diabetes, oleuropein, pancreas

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADA	: American Diabetes Association
AgNP	: Gümüş nanopartikül
AKT	: Protein Kinaz B Alfa (AKR mouse Thymoma oncogene)
APG	: Açlık Plazma Glukozu
ATP	: Adenozin trifosfat
Bcl-2	: B-hücreli lenfoma 2
Ca²⁺	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik adenosin monofosfat
DAB	: 3.3'-diaminobenzidin
DKA	: Diyabetik ketoasidoz
DPP-4	: Dipeptidil peptidaz-4
ER	: Endoplazmik retikulumda
FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GIP	: Glikoza bağımlı insülinotropik peptit
GLP-1	: Glukagon benzeri peptid-1 agonistleri
GLUT-2	: Glukoz taşıyıcısı 2
GSH	: Glutasyon
GSK3β	: Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta
HbA1c	: Hemogloblin A1c
HLA	: İnsan lökosit antijeni
i.p.	: İntraperitoneal
IFN-γ	: İnterferon gama
IL-1β	: İnterlökin 1 beta
K	: Kitosan
K_{ATP}	: ATP-duyarlı potasyum kanalları
MDA	: Malondialdehit
mg/dL	: miligram / desilitre

mTOR	: Mechanistic Target of Rapamycin
NaOH	: Sodyum hidroksit
ng/mg	: nanogram / miligram protein
NPH	: Nötral protamin Hagedorn
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
PAH	: Periferik arter hastalığı
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PCOS	: Polikistik over sendromu
PDI	: Polidispersite indeksi
pg/mL	: pikogram / mililitre
PI3K	: Fosfoinositid 3-Kinaz (Phosphoinositide 3-Kinase)
PP	: Pankreatik polipeptit
PPARγ	: Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD1	: Süperoksit Dismutaz 1
STZ	: Streptozosin
T1DM	: Tip 1 diyabet
T2DM	: Tip 2 diyabet
TNF-α	: Tümör nekroz faktör alfa
VKİ	: Vücut kitle indeksi
Vis-UV	: Ultraviyole spektroskopisi
XRD	: X-ışını kırınımı
ZP	: Zeta potansiyeli

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Pankreas β hücrelerinden insülinin sekresyonu.....	7
Şekil 2.2. Glikoz kaynaklı insülin salıverilmesinin çift aşamalı profili	8
Şekil 3.1. A: Gümüş Nitrat'a ait FI-TR spekturumu B; Kitosan gümüş nanopartiküle ait FI-TR spekturumu.....	30
Şekil 3.2 Kitosan'a ait UV-Vis spektrumu.....	31
Şekil 3.3. K-AgNP'ye ait zeta potansiyeli ve parçacık boyut dağılımı	32
Şekil 3.4. K-AgNP'ye ait taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü	33
Şekil 4.1 Deney süresince ratlara ait ağırlık değişimlerinin zamana bağlı gösterimi.....	43
Şekil 4.2. Deney süresince ratlara ait açlık kan glukoz seviyesi değişimlerinin zamana bağlı gösterimi	44
Şekil 4.3. Deney gruplarına ait fotomikrogaflar.....	47
Şekil 4.4. Pankreas dokusunda PI3K immün reaktivitesi.....	49
Şekil 4.5. Pankreas dokusunda AKT1 immün reaktivitesi.....	51
Şekil 4.6. Pankreas dokusunda GLUT2 immün reaktivitesi	53
Şekil 4.7. Pankreas dokusunda İnsülin immün reaktivitesi.....	55
Şekil 4.8. Pankreas dokusunda TNF- α immün reaktivitesi	57
Şekil 4.9. Gruplara ait serum insülin seviyeleri (pg/mL)	59
Şekil 4.10. Gruplara ait serum C-peptid seviyeleri (pg/mL)	60
Şekil 4.11. Gruplara ait pankreas dokusu GSH seviyeleri (ng/mg protein)	61
Şekil 4.12. Gruplara ait pankreas dokusu MDA düzeyleri (ng/mg protein).....	62
Şekil 4.13. Gruplara ait pankreas dokusu SOD1 düzeyleri (ng/mg protein).....	63
Şekil 4.14. Çalışma gruplarında Caspase-3 ve Bcl-2 protein ekspresyonlarının Western blot analizleri ve bunlara ait kantitatif yoğunluk grafikleri.	64

Şekil 4.15. Çalışma gruplarında GSK3 β , NF- κ B ve mTOR protein ekspresyonlarının
Western blot analizleri ve bunlara ait kantitatif yoğunluk grafikleri. 65



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Pankreastan salınan hormonlar ve fonksiyonları	5
Tablo 2.2. İnsülinin metabolik süreçler üzerindeki etkileri	6
Tablo 2.3. Diyabet tanısında kullanılan kriterler	12
Tablo 2.4. T2DM tedavisinde kullanılan oral antidiyabetikler	19
Tablo 3.1. Kitosan gümüş nanopartiküllerinin ortalama değerleri	32
Tablo 3.2. K-AgNP sentezinde kullanılan kimyasallar ve temin kaynakları	33
Tablo 3.3. Deney grupları	35
Tablo 3.4. Western blot analizinde kullanılan antikorlar ve üreticileri.....	40
Tablo 4.1. Gruplardaki ratların deney süresince ölçülen vücut ağırlıkları (gr).....	43
Tablo 4.2. Gruplardaki ratların deney süresince ölçülen açlık kan glukozu değerleri (mg/dL)	45
Tablo 4.3. Tüm gruplara ait pankreas dokularında PI3K, AKT1, GLUT2, İnsülin ve TNF- α immünohistokimyasal reaktivite skorları.....	58

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), pankreasın yeterli miktarda insülin salgılayamaması ya da salgılanan insülinin hücreler tarafından etkili bir şekilde kullanılamaması sonucu gelişen ve kan şekeri seviyesinin kronik olarak yüksek seyretmesiyle tanımlanan bir metabolik bozukluktur (World Health Organization, 2024). Kronik hiperglisemi, makrovasküler ve mikrovasküler yapılarda hasar oluşturarak çeşitli komplikasyonların gelişimine zemin hazırlar (Chawla ve ark., 2016). Diyabetin küresel düzeyde görülme sıklığının artış gösterdiği bilinmektedir. Diabetes mellitus ve beraberinde gelişen komplikasyonlar, ülkeler, sağlık sistemleri, diyabet hastaları ve onların yakınları üzerinde önemli bir ekonomik yük meydana getirmektedir (IDF, 2021). Hızla artan obezite ve hareketsizlik nedeniyle gelişen diyabet, insülin üretimi ya da kullanımındaki bozukluklarla karakterizedir ve iki ana tipe ayrılır: Tip 1 diyabet, insülin bağımlı olan bir formken, Tip 2 diyabet, insülin bağımsız olup genellikle erişkin yaşta ortaya çıkan bir türdür (Sanyaolu ve ark., 2023).

Diyabetin patofizyolojisinde, pankreasın Langerhans adacıklarında işlevsel beta hücre kitlesinin kaybı önemli bir yer tutmaktadır. Bazı hipotezler, bu kaybın, 'yardımlı intihar' benzeri bir olaylar zinciriyle meydana geldiğini ileri sürmektedir. Bu süreçte, işlevini yitiren beta hücresinin bağışıklık sistemi tarafından daha görünür hale gelmesi ve bağışıklık sisteminin aşırı tepki vererek bu hücreyi yok etmesi sonucu beta hücresinin ölümünün gerçekleştiği düşünülmektedir (Atkinson ve ark., 2011; Katsarou ve ark., 2017; Roep ve ark., 2021). Tip 2 diyabette ise patofizyolojinin temelini insülin direnci ve buna eşlik eden progresif beta hücre disfonksiyonu oluşturmaktadır. Periferik dokularda özellikle kas, karaciğer ve yağ dokusunda insülinin etkisinin azalması sonucunda glukozun hücre içine alımı bozulmakta ve hepatik glukoz üretimi artmaktadır. Bu duruma karşı başlangıçta pankreas beta hücreleri artmış insülin sekresyonu ile kompensasyon

sağlamaya çalışsa da zamanla glukotoksisite, lipotoksisite, oksidatif stres ve inflamatuvar süreçlerin etkisiyle beta hücre fonksiyonları giderek azalmakta ve relatif insülin yetersizliği gelişmektedir. Sonuç olarak, hem insülin direnci hem de beta hücre fonksiyon kaybı birlikte kronik hipergliseminin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Dludla ve ark., 2023).

Doğal ürünler, ilaç keşfi için önemli bir potansiyel kaynak olarak kabul edilmekte ve ilaç araştırma ve geliştirme süreçlerinde yer almaktadır. Diabetes mellitus tedavisinde, biguanidler, sülfonilüreler, tiazolidindionlar, α -glukozidaz inhibitörleri gibi çeşitli oral antidiyabetik ilaçlar ve insülin kullanılmaktadır. DM tedavisinde yaygın olarak tercih edilen biguanid türevi metformin, ilk olarak Galega officinalis bitkisindeki galegine bileşiği sayesinde keşfedilmiştir. Bunun yanı sıra, α -glukozidaz inhibe edici özellik gösteren birçok tıbbi bitki bulunmaktadır. Son yıllarda, geleneksel bitkisel tedavi ürünleri, daha az yan etki ile diyabetik komplikasyonların engellenmesine ve hipergliseminin düzeltilmesine yardımcı olabilecek potansiyel terapötik ajanlar olarak ilgi görmektedir (Hundal ve ark., 2003; Z. Yin ve ark., 2014).

Oleuropein, zeytin ağacının (*Olea europaea*) özellikle yapraklarında bol miktarda bulunan fenolik bir bileşiktir. Zeytin yapraklarının en karakteristik ve biyolojik olarak etkili bileşenlerinden biri olan oleuropein, güçlü antioksidan özellikleri ile dikkat çeker. Bu bileşik hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda serbest radikalleri etkisiz hale getirme kapasitesi sayesinde hücreleri ve dokuları oksidatif hasara karşı koruyabildiği gösterilmiştir. Antioksidan etkisini, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu baskılayarak ve vücudun kendi antioksidan savunma mekanizmalarını destekleyerek gösterdiği düşünülmektedir. Oleuropeinin serbest radikal giderici özelliği, bu maddenin oksidatif stres üzerindeki koruyucu rolünü ortaya koyan birçok çalışmada açıkça belgelenmiştir (Cicerale ve ark., 2012).

Kitosan (K), yara iyileşme sürecinde önemli roller üstlenen doğal bir biyopolimerdir. Makrofaj aktivitesini artırarak inflamatuvar yanıtı destekler, nötrofillerin göçünü kolaylaştırır ve fibroblast çoğalmasını teşvik ederek granülasyon dokusu oluşumuna katkı sağlar (Ahmad ve ark., 2022; Goy ve ark., 2009). Ayrıca, pozitif yüklü yapısı sayesinde mikroorganizmaların negatif yüklü hücre zarlarıyla etkileşerek zar bütünlüğünü bozar ve hücre ölümüne yol açar. Bu özelliği sayesinde, hem bakterilere hem de mantarlara karşı etkili bir antimikrobiyal ajan olarak kabul edilmektedir (Ke ve ark., 2021; Li ve ark., 2020). Biyouyumlu, toksik olmayan ve biyobozunur yapısı nedeniyle tıpta geniş kullanım alanı bulmaktadır.

Gümüş nanopartikülleri (AgNP'ler) ise güçlü antimikrobiyal etkileri ve doku onarımını destekleyici özellikleriyle dikkat çeker. Hücre proliferasyonunu ve kolajen sentezini teşvik ederek yara iyileşmesini hızlandırır (Hamdan ve ark., 2017; Mihai ve ark., 2019; Vijayakumar ve ark., 2019). K ile kombinasyonu hem enfeksiyon kontrolü hem de doku rejenerasyonu açısından sinerjik bir etki oluşturarak, yara iyileşmesine yönelik çok işlevli bir tedavi stratejisi sunar.

Bu tez çalışmasında, oleuropein'in kitosan-gümüş nanopartiküllerle birlikte uygulanmasının diyabete bağlı gelişen hiperglisemi, oksidatif stres ve doku hasarları üzerindeki biyolojik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmanın diyabetle ilişkili komplikasyonların azaltılmasına yönelik yeni tedavi yaklaşımlarının araştırılmasına bilimsel katkı sağlaması beklenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus, pankreastaki β hücrelerinden insülinin yetersiz salgılanması, hiç üretilmemesi ya da üretilen insülinin etkili şekilde kullanılamaması sonucunda ortaya çıkan hiperglisemi ile seyreden kronik bir metabolik bozukluktur. Hiperglisemiye genellikle karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında meydana gelen çeşitli düzensizlikler de eşlik eder (İğci ve ark., 2024). DM'nin tipik klinik belirtileri arasında poliüri, kilo kaybı, polidipsi ve görme bulanıklığı yer alır. Semptomlar çoğunlukla yavaş gelişir ve hafif seyirlidir. Kişi herhangi bir belirti göstermese dahi, uzun süreli hafif hiperglisemi sonucunda zamanla doku hasarı oluşabilir (Devi ve ark., 2023).

2.1.1. Diyabetin Metabolik ve Hücrel Mekanizmaları

2.1.1.1. Pankreasın Yapısı ve Fonksiyonları

Pankreas, karın boşluğunda yer alan ve hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyonları bulunan bir organdır. Vücuttaki yaklaşık %98-99'luk kısmı sindirim enzimleri salgılayan asiner hücrelerden ve boşaltım kanallarından oluşurken, sadece %1-2'si hormon üreten Langerhans adacıklarından meydana gelir. Ekzokrin yapısı sindirime destek sağlarken, endokrin kısmı özellikle kan şekeri düzenlenmesinde görev alır. Bu iki farklı işlev pankreasın organizmadaki kritik rolünü ortaya koyar (Kassardjian ve ark., 2020; Talathi ve ark., 2025).

Langerhans adacıkları, pankreasın endokrin bölgesinde bulunan ve hormon salgılayan hücre kümeleridir. Bu adacıklar pankreasın toplam kütlesinin yaklaşık %1-2'sini oluşturur ve kan akışının yaklaşık %10-15'ini alır. Her bir adacık alfa (α), beta (β), delta (δ), epsilon (ϵ) ve pankreatik polipeptit (PP) hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerinden oluşur. Beta hücreleri, adacıkların merkezinde yoğunlaşırken, alfa hücreleri genellikle periferde bulunur (George ve ark., 2023; Lehrstrand ve ark., 2024).

Beta hücreleri, insülin ve amilin gibi hormonları salgılayarak kan glikoz seviyelerini düşürmeye yardımcı olurken, alfa hücreleri, glukagon salgılayarak kan şekerini yükseltir. Bu iki hormon arasındaki denge, glikoz homeostazının sağlanmasında kritik bir rol oynar (Suba ve ark., 2024).

Pankreasta beta hücreleri insülin, alfa hücreleri glukagon, delta hücreleri somatostatin ve PP hücreleri pankreatik polipeptid hormonlarını salgılar (Tegehall ve ark., 2025). Pankreastan salınan hormonlar ve bunların fonksiyonları Tablo 2.1'de sunulmuştur (Kayaalp, 2012).

Tablo 2.1. Pankreastan salınan hormonlar ve fonksiyonları

Salgılanan Hormon	Hücre Tipi	İşlevi
İnsülin	Beta Hücreleri	Kan şekerini düşürür
Glukagon	Alfa Hücreleri	Kan şekerini yükseltir
Somatostatin	Delta Hücreleri	İnsülin ve glukagon salınımını inhibe eder
Pankreatik polipeptit	PP Hücreleri	İştah üzerinde rol oynar

2.1.1.2. İnsülinin Biyolojik Rolü

İnsülin, 51 amino asitten oluşan peptit yapısında bir hormondur. Bu hormon, pankreasın endokrin bölgesini oluşturan Langerhans adacıklarındaki β hücreleri tarafından sentezlenir ve salgılanır. Genellikle anabolik etkili olan insülin, glikoz, lipid, protein ve nükleik asitlerin sentezlenmesi ve depolanmasında görev alan metabolik süreçleri düzenler. Hücre zarında bulunan insülin reseptörlerini aktive ederek, birçok endojen maddenin hücre içine taşınmasını sağlar.

İnsülin reseptörü (IR), α ve β alt birimlerinden oluşan bir yapıya sahiptir ve yalnızca insülin değil, insülin benzeri büyüme faktörleri I ve II tarafından da aktive edilebilmektedir. IR'nin A ve B olmak üzere iki izoformu bulunur; bu izoformlardan B tipi, insüline karşı daha özgül olup, karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi metabolik açıdan

aktif organlarda yoğun şekilde eksprese edilir. Bu nedenle insülinin çoğu metabolik etkisinin B izoformu aracılığıyla gerçekleştiği kabul edilmektedir. İnsülin, dolaylı ya da doğrudan neredeyse tüm organ sistemlerinin işleyişine etki eder. Farmakokinetik açıdan değerlendirildiğinde, insülinin biyolojik yarı ömrü yaklaşık 5–8 dakika olarak bildirilmiştir. Vücutta insülinin yıkımı, öncelikli olarak karaciğer ve böbreklerde bulunan insülinaz enzimi aracılığıyla gerçekleşir (Kayaalp, 2012; Park ve ark., 2021). İnsülinin başlıca metabolik süreçler üzerindeki etkilerine ilişkin bilgiler Tablo 2.2’de sunulmuştur (Kayaalp, 2012).

Tablo 2.2. İnsülinin metabolik süreçler üzerindeki etkileri

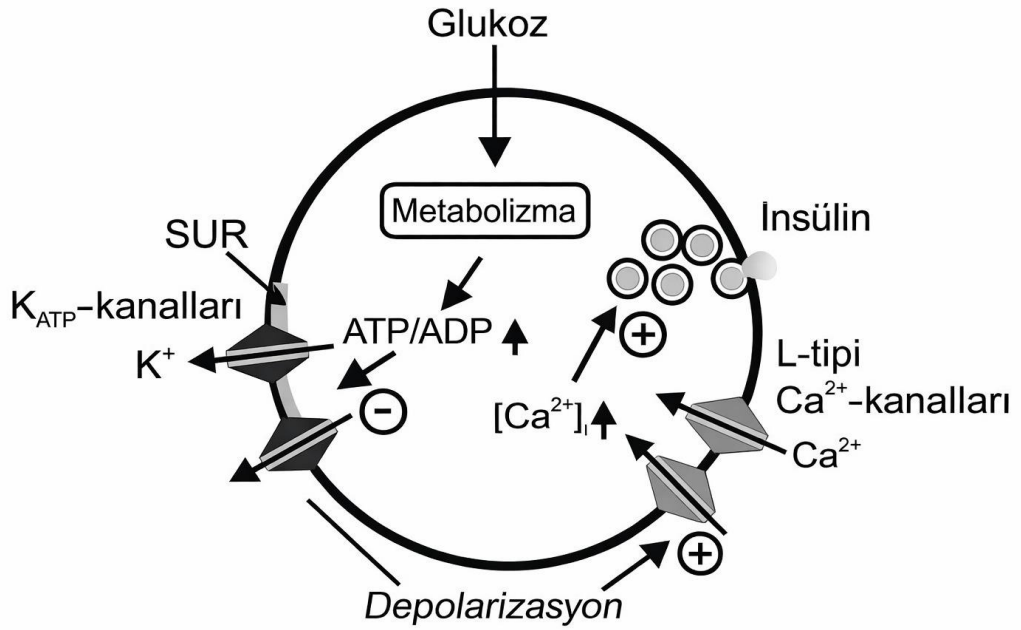
Metabolizma	Metabolik olay	Etkisi
Glikoz metabolizması	Glikojenez	Artar
	Glikoz oksidasyonu	Artar
	Glukoneojenez	Azalı
	Glukojenoliz	Azalı
	Ketojenez	Azalı
Yağ metabolizması	Lipoliz	Azaltır
	Lipojeniz	Artırır
Protein metabolizması	Protein sentezi	Artırır
	Glukoneojenez	Azaltır
	Proteoliz	Azaltır
	Üreojenez	Azaltır
Diğer maddelerin metabolizması	ATP oluşumu	Artırır
	DNA ve RNA oluşumu	Artırır

2.1.1.3. Pankreastan İnsülin Salgılanması

İnsülin, kandaki glikoz düzeyinin yükselmesine karşılık olarak pankreasın β hücrelerinden salgılanır. Bu hücrelerin membranında glikozu tanıyan reseptörler ve glikozun hücre içine alınmasını sağlayan GLUT2 bulunur. GLUT2 ile hücre içine giren glikoz, glukokinaz enzimiyle glikoz-6-fosfata dönüştürülür ve mitokondride adenozin

trifosfat (ATP) üretimini tetikler. Hücre içi ATP miktarının artışı, ATP-duyarlı potasyum (K_{ATP}) kanallarının kapanmasına yol açar. Bu durum hücre membranının depolarizasyonuna, voltaj bağımlı kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarının açılmasına ve kalsiyumun hücre içine girmesine neden olur. Sonuçta, glikoza duyarlı bu süreçler hızlı insülin salımını başlatır (Kayaalp, 2012; Park ve ark., 2021).

İnsülinin pankreas β hücresinden salıverilme süreci Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



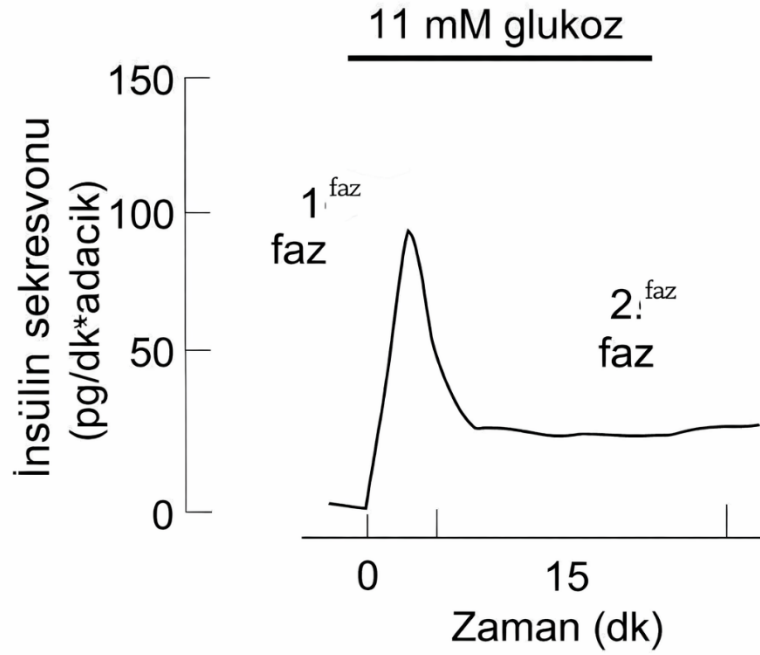
Şekil 2.1. Pankreas β hücrelerinden insülinin sekresyonu

K_{ATP} : ATP ile regüle edilen K^+ kanalı, SUR: sülfonilüre reseptörü

Pankreas β hücrelerinde glikozun uyarımıyla gerçekleşen insülin salınımı iki fazlı bir yapı sergiler. İlk faz, hücre içi Ca^{2+} düzeylerinin artışıyla tetiklenir ve hücrede önceden depolanmış insülin granüllerinin ekzositozuyla hızlıca gerçekleşir. Bu hızlı salınım süresi kısadır ve ardından sekresyon hızı düşer. Daha sonra, insülin salımının daha yavaş fakat uzun süreli bir artış gösterdiği ikinci faz başlar. Bu geç faz; sitozolik Ca^{2+} , ATP ve siklik adenosin monofosfat (cAMP) üretiminin yanı sıra, artan insülin ihtiyacıyla aktive olur.

İlk fazda yalnızca depolanmış insülin serbest bırakılırken, ikinci fazda hem mevcut depo insülin hem de yeni sentezlenen insülin dolaşıma verilir (Kayaalp, 2012; Park ve ark., 2021).

Glikoza bağlı insülin salıverilmesinin iki aşamalı profili Şekil 2.2’de yer almaktadır (Rorsman ve ark., 2000).



Şekil 2.2. Glikoz kaynaklı insülin salıverilmesinin çift aşamalı profili

2.1.1.4. Diyabetin Metabolik Bozuklukları

Tip 1 diyabet, pankreastaki insülin üreten β hücrelerinin otoimmün mekanizmalarla zarar görmesi sonucu ortaya çıkan kronik bir metabolik bozukluktur. Bu durum, insülin sentezinin tamamen veya büyük oranda azalmasına neden olur. İnsülin eksikliği nedeniyle glukoz hücre içine alınamaz ve böylece kan glukoz seviyeleri yükselerek hiperglisemi gelişir. Glukoz kullanımının azalmasıyla birlikte, organizma alternatif enerji kaynaklarına yönelir; bu durum artan lipoliz ve yükselen serbest yağ asidi düzeyleriyle sonuçlanır. Sonuç olarak, keton cisimlerinin artışı ketogenez ve ketoasidoz

riskini artırır. Hücrel enerji metabolizmasındaki bu bozukluklar protein ve lipid metabolizmasının da ciddi şekilde bozulmasına yol açar. Tip 1 diyabette görülen metabolik dengesizlikler, hem akut dönem komplikasyonlarının hem de kronik organ hasarlarının gelişiminde önemli bir rol oynar (Atkinson ve ark., 2014).

2.1.1.5. Hücrel Mekanizmalar ve Pankreatik β -Hücre Fonksiyonları

β -Hücre fonksiyonlarında bozulma

Tip 1 diyabetin temel özelliği otoimmün süreçler sonucu β -hücrelerin tahribidir. Bu süreçte, otoantijenlere karşı duyarlı T hücreleri β hücrelere saldırarak insülin üretimini engeller. Bu durum, insülin eksikliği ve glikoz homeostazının bozulmasına yol açar (Roep ve ark., 2021) .

Pankreas β -hücreleri insülin sentezi ve salgılanması sürecinde yoğun protein üretimine maruz kalırlar. Bu durum, özellikle metabolik yük arttığında, endoplazmik retikulumda (ER) protein katlanma kapasitesinin zorlanmasına ve ER stresinin oluşmasına neden olur (Cao ve ark., 2020). ER stresi, hücre içinde biriken yanlış katlanmış veya birikmiş proteinlerin artmasıyla tetiklenen hücrel bir yanıt olup, bu durumda hücre proteostazını sağlamak için çeşitli koruyucu mekanizmalar devreye girer. Ancak stresin kronikleşmesi halinde, bu mekanizmalar yetersiz kalır ve hücre ölümünü başlatan sinyal yolları aktive olur. Özellikle unfolded protein response (UPR) yolları aracılığıyla, apoptotik süreçler tetiklenir; bunlar arasında CHOP (C/EBP homologous protein) ekspresyonunun artışı ve kaspaz aktivasyonu gibi olaylar yer alır. Sonuç olarak, uzun süreli ER stresi β -hücre apoptozuna yol açarak insülin üretim kapasitesinin azalmasına ve Tip 1 diyabet patogenezinde katkıda bulunur (Eizirik ve ark., 2008; Engin, 2016).

Mitokondriyal disfonksiyon, pankreas β -hücrelerinde enerji üretimi ve metabolik denetimin bozulmasına yol açarak Tip 1 diyabetin patogenezinde önemli bir rol oynar.

Bu durum, glikozun hücre içine alınması ve metabolize edilmesiyle ATP üretimini sağlanarak insülin salıverilmesinin tetiklenmesini engeller. Mitokondriyal bozukluklar, oksidatif stres, ROS artışı ve mitokondriyal DNA hasarı gibi mekanizmalarla β -hücre fonksiyonlarını bozar (Aoyagi ve ark., 2024; Rivera ve ark., 2024).

Genetik yatkınlık β -hücre fonksiyonlarındaki bozulmada önemli bir rol oynar. Özellikle WFS1 geni gibi belirli genetik varyasyonlar, β -hücre stresine duyarlılığı artırabilir ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunabilir (Robertson ve ark., 2024).

β -hücrelerinin dediferansiyasyonu da fonksiyon kaybı yaşadığını göstermektedir. Bu süreç, β -hücrelerinin insülin üretme kapasitesini kaybetmesine ve dolayısıyla pankreatik β -hücre fonksiyonlarının bozulmasına yol açar (Webster ve ark., 2024). Özellikle β -hücrelerinde Pdx1, MafA ve Nkx6.1 gibi olgunlaşma belirteçlerinin ekspresyonunun azalması ve Ngn3, Nanog gibi progenitör hücre belirteçlerinin reaktivasyonu dediferansiyasyonun göstergelerindendir. Bu değişiklikler, β -hücrelerinin insülin üretme kapasitesini kaybetmesine ve dolayısıyla pankreatik β -hücre fonksiyonlarının bozulmasına yol açar (Bensellam ve ark., 2018).

β -Hücre ölümü ve hastalıktaki önemi

Tip 1 diyabette pankreas β hücreleri bağışıklık sisteminin saldırısına maruz kalır; bu süreç “insülitis” olarak adlandırılan inflamatuvar bir reaksiyonla adacıkların mononükleer hücrelerle işgal edilmesiyle başlar ve uzun dönemde β hücrelerinin büyük çoğunluğunun kaybına yol açar (Saisho, 2014). β hücre ölümünde, aktive olmuş makrofajlar ve T hücreleriyle doğrudan temas veya bu hücrelerin salgıladığı sitokinler, nitrik oksit ve serbest oksijen radikalleri gibi çözünür araçlar etkili olur (Eizirik ve ark., 2001). IL-1 β , IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinlerin birlikte uzun süreli etkisi, β hücrelerde fonksiyonel bozukluk ve programlı hücre ölümü olan apoptoza neden olur (Hostens ve ark., 1999; Ohara-Imaizumi ve ark., 2004).

Apoptoz Tip 1 diyabette β hücre ölümünün başlıca mekanizmasıdır ve çeşitli dışsal sinyaller, hücre içi enerji durumu ve gen ekspresyon değişiklikleriyle düzenlenir. IL-1 β , NF- κ B adlı transkripsiyon faktörünü aktive ederek β hücrelerde sitokin ve stres yanıtı genlerinin ekspresyonunu artırır; bu süreç iNOS aracılığıyla nitrik oksit üretimini tetikler ve hücre fonksiyonunu bozarken apoptozu başlatır (Giannoukakis ve ark., 2000; Heimberg ve ark., 2001). IFN- γ , JAK-STAT yolunu aktive ederek IL-1 β etkisini güçlendirir ve β hücrelerin ölümüne katkıda bulunur. Ayrıca, hücre içi sinyal yollarından JNK, p38 MAPK ve ERK aktivasyonu da apoptozu destekler (Cnop ve ark., 2005).

ER stresi, ER kalsiyum homeostazının bozulmasıyla ortaya çıkar ve protein katlanma bozukluklarına yol açar. Bu stres yanıtı, CHOP gibi proapoptotik faktörlerin aktive edilmesiyle β hücre ölümüne zemin hazırlar (Schröder ve ark., 2005). Mitokondriler ise hem hücre fonksiyonunu sürdürmede hem de apoptozun başlatılmasında kritik rol oynar; sitokrom c salınımıyla caspaz kaskadı aktive edilir. Bcl-2 ailesi proteinleri bu süreci düzenlerken, aşırı sitokin etkisi mitokondriyal fonksiyonu bozar (Kaufman ve ark., 2015). Sonuç olarak, hücrede çekirdek, mitokondri ve ER arasındaki karmaşık etkileşimler β hücrenin yaşayıp yaşamayacağını belirler ve Tip 1 diyabette β hücre kitlesinin azalmasına yol açar (Kaufman ve ark., 2015; Newmeyer ve ark., 2003).

2.1.2. Diyabetin Epidemiyolojisi

2022 yılı itibarıyla, dünya çapında 18 yaş ve üzeri yaklaşık 828 milyon bireyde diyabet tespit edilmiştir. Bu rakam, 1990 yılındaki yaklaşık 422 milyon kişiye kıyasla önemli bir artışı göstermektedir. DM oranı, 1990'daki %7 seviyesinden 2022'de %14'e yükselmiştir. Bu artış, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde daha belirgin hale gelmiş ve tedaviye erişimdeki eşitsizlikler, sağlık sistemleri üzerinde büyük bir baskı

oluşturmuştur (Reuters, 2024).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, dünya genelinde 422 milyon kişide DM bulunmaktadır. 2019 yılı itibarıyla doğrudan DM nedeniyle 1,5 milyon kişi hayatını kaybetmiştir. Ayrıca, DM'ye bağlı gelişen kardiyovasküler hastalıklar ve kronik böbrek hastalığı gibi komplikasyonlar da dolaylı yoldan ölümlere yol açmaktadır (World Health Organization, 2024).

2.1.3. Diyabet Tanı Kriterleri

Amerikan Diyabet Derneği (ADA), diyabet tanısı koymak için belirli kriterler ortaya koymuştur. Bu kriterler arasında açlık plazma glikozu, hemoglobin A1c (HbA1c) seviyesi ve Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) yer almaktadır (American Diabetes Association, 2021). Diyabet tanısında kullanılan kriterler, Tablo 2.3'te ayrıntılı olarak sunulmuştur (American Diabetes Association, 2021; T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2021).

Tablo 2.3. Diyabet tanısında kullanılan kriterler

Tanı Yöntemi	Tanı Kriteri	Açıklama
Açlık Plazma Glukozu (APG)	≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L)	En az 8 saatlik açlık sonrası ölçülen plazma glukoz düzeyidir. Bu ölçüm, diyabet tanısı koymak için yaygın ve düşük maliyetli bir yöntemdir.
Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)	75 gram glukoz yüklemesinden 2 saat sonra ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)	Gece boyunca açlık sonrası 75 gram glukoz içirilir ve 2 saat sonra kan glukoz düzeyi ölçülür. Bu test, özellikle diyabet riski yüksek bireylerde tanı koymak için faydalıdır.
HbA1c Değeri	≥ 6.5	Bu test, NGSP sertifikalı ve DCCT standardizasyonuna uygun bir laboratuvarda gerçekleştirilmelidir. HbA1c, uzun dönemli glukoz kontrolünü yansıtır ve diyabet tanısında kullanılır.
Rastgele Plazma Glukozu	≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)	Diyabete özgü semptomlar (örneğin, poliüri, polidipsi, açıklanamayan kilo kaybı) gösteren bireylerde, günün herhangi bir saatinde ölçülen plazma glukoz düzeyidir. Bu ölçüm, semptomatik bireylerde tanı koymak için kullanılır.

Diyabete özgü belirgin semptomlar (örneğin, aşırı susama, sık idrara çıkma, istemsiz kilo kaybı, tekrarlayan enfeksiyonlar veya diyabetik koma) mevcut olan bireylerde, tanı için tek bir test sonucu yeterli olabilir. Ancak semptom göstermeyen bireylerde tanının doğruluğunu sağlamak amacıyla ilk test sonucunun aynı veya farklı bir testle başka bir gün teyit edilmesi önerilmektedir (İmamoğlu ve ark., 2015).

Plazma glukoz düzeylerinin normalin üzerinde olmasına rağmen diyabet tanı kriterlerini karşılamadığı durumlar "prediyabet" olarak adlandırılır. Prediyabet, diyabet gelişimi açısından yüksek risk taşımasının yanı sıra, kardiyovasküler hastalıklar için de önemli bir risk faktörüdür (Salman ve ark., 2020).

2.1.4. Diyabet Sınıflandırması

Diyabet, zaman içinde farklı adlandırmalar ve tanımlamalarla sınıflandırılmıştır. Ancak, 2021 yılında Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından yayımlanan güncel kılavuzda, diyabet dört ana kategoriye ayrılmıştır (American Diabetes Association, 2021; İmamoğlu ve ark., 2022):

1. Tip I Diyabet
2. Tip II Diyabet
3. Gestasyonel Diyabet
4. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri

2.1.4.1. Tip I Diyabet

Tip 1 diyabet (T1DM), pankreastaki beta hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucu mutlak insülin eksikliğiyle karakterize bir hastalıktır. Klinik belirtiler beta hücre rezervinin %80-90 oranında azaldığında ortaya çıkar. Genellikle çocukluk ve ergenlik dönemlerinde daha sık görülmekle birlikte, her yaşta ortaya çıkabilir. Toplumdaki diyabet vakalarının yaklaşık %5-10'unu Tip 1 diyabet oluşturur (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2024).

Tip 1 diyabet, bağışıklık sisteminin beta hücrelerine karşı otoantikorlar geliştirdiği immün aracılı (otoimmün) form ve otoimmün belirteçlerin bulunmadığı, nedeni bilinmeyen idiyopatik form olmak üzere iki alt tipe ayrılır.

İmmün Aracılı Diyabet

Bu formda, bağışıklık sistemi pankreasın β hücrelerine karşı hücresel düzeyde bir saldırı başlatarak hasara yol açar. Genellikle çocukluk ve ergenlik dönemlerinde en sık rastlanan diyabet türüdür. Geçmişte "insülin bağımlı diyabet" veya "çocukluk çağı diyabeti" olarak da adlandırılmıştır. β hücrelerinin yıkım hızı bireyler arasında farklılık gösterebilir; bebeklik ve çocukluk dönemlerinde bu süreç daha hızlı ilerlerken, yetişkinlerde daha yavaş seyredebilir (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2025).

İdiyopatik Diyabet

Bu tipte, kalıcı bir insülin eksikliği mevcut olmasına rağmen, β hücrelerine yönelik otoimmün bir yanıtın kanıtı bulunmamaktadır. Tip 1 diyabetli bireylerin yalnızca küçük bir bölümü bu kategoriye girer. Bu formun belirli bir nedeni saptanamamıştır; ancak güçlü bir genetik yatkınlık gösterdiği bilinmektedir (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2025).

Tip 1 diyabetin gelişiminde genetik yatkınlık, çevresel etmenler ve otoimmün süreçler birlikte rol oynar. Her ne kadar genetik faktörler hastalığın oluşumunda önemli bir etkiye sahip olsa da, T1DM Mendel kalıtım desenlerine uymayan, karmaşık ve çok etkenli bir hastalık olarak kabul edilir. Vaka analizleri, T1DM tanısı konulan bireylerin yaklaşık %85'inin aile öyküsünde diyabet bulunmadığını göstermektedir. Bu durum, hastalığın ortaya çıkmasında tek bir genetik faktörün yeterli olmadığını, aksine çok sayıda genetik ve çevresel etmenin etkileşiminin etkili olduğunu ortaya koymaktadır (Sharma ve ark., 2024). Tip 1 diyabetin genetik risk faktörleri arasında, insan lökosit antijeni (HLA)

bölgesinde bulunan belirli haplotipler öne çıkmaktadır. Özellikle HLA-DR3-DQ2 ve HLA-DR4-DQ8 haplotipleri T1DM gelişme riskiyle güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Bu haplotiplerin her ikisini taşıyan bireylerde hastalık riski daha da artmaktadır. Ancak bu yüksek riskli haplotipler genel nüfusta da bulunmakta ve bu genetik varyantlara sahip bireylerin yalnızca küçük bir kısmı T1DM geliştirmektedir. Bu durum, hastalığın ortaya çıkmasında çevresel faktörlerin ve diğer genetik etmenlerin de önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Giwa ve ark., 2020).

T1DM histolojik olarak insülitis ve bununla ilişkili adacık hücre hasarı ile karakterizedir. T1DM'deki otoimmünite, insülin üreten β hücrelerine özgüdür. Bununla birlikte, otoimmüniteyi indüklemekten sorumlu spesifik mekanizmalar henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Barlow ve ark., 2025). Tip 1 diyabet, pankreasın Langerhans adacıklarında meydana gelen insülit (bağışıklık hücrelerinin adacıklara infiltrasyonu) sonucu, insülin üreten β hücrelerinin ilerleyici ve otoimmün kaynaklı tahribatıyla karakterizedir (Huber ve ark., 2024).

2.1.4.2. Tip II Diyabet

Tip 2 diyabet (T2DM), pankreasın β hücrelerinden insülin salgısının azalması, vücut hücrelerinin insüline karşı direnç geliştirmesi veya bu iki durumun birlikte görülmesi sonucu ortaya çıkan bir metabolik bozukluktur. Önceden "insüline bağımlı olmayan diyabet" veya "yetişkin başlangıçlı diyabet" olarak adlandırılan bu hastalık, tüm diyabet vakalarının yaklaşık %90-95'ini oluşturmaktadır (American Diabetes Association, 2021; DeFronzo ve ark., 2015).

Tip 2 diyabetin etiyopatogenezinde genetik yatkınlık, çevresel etmenler ve bireysel yaşam tarzı alışkanlıkları birlikte etkilidir (Baynest ve ark., 2015). Tip 2 diyabetin gelişiminde yaş, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği gibi faktörler önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, gestasyonel diyabet (GDM), hipertansiyon, dislipidemi ve

polikistik over sendromu (PCOS) öyküsü olan bireylerde T2DM riski artmaktadır. Belirli etnik gruplar, özellikle Afrikalı Amerikalılar, Kızılderililer, Hispanikler/Latinler ve Asyalı Amerikalılar, T2DM'ye daha yatkındır. Genetik faktörler de etkilidir; birinci derece akrabalarında diyabet öyküsü bulunan bireylerde T2DM riski, Tip 1 diyabete kıyasla daha yüksektir (American Diabetes Association, 2021).

Tip 2 diyabet, genellikle yetişkinlerde görülse de son zamanlarda çocuklar ve ergenlerde de artan bir sıklıkla teşhis edilmektedir. Hastaların çoğu fazla kilolu veya obezdir. Bu nedenle, yaşam tarzı değişiklikleri, fiziksel aktivitenin artırılması, dengeli beslenme ve kilo kontrolü önerilmektedir. Hastalığın başlangıcı genellikle belirti vermeden ilerler; ancak bazı hastalar bulanık görme, ellerde ve ayaklarda uyuşma veya karıncalanma, ayak ağrıları, tekrarlayan mantar enfeksiyonları veya yaraların geç iyileşmesi gibi belirtilerle sağlık kuruluşlarına başvururlar (Pramanik ve ark., 2024).

2.1.4.3. Gestasyonel Diyabet

Gestasyonel diyabet, gebelik öncesinde diyabet tanısı olmayan bireylerde, genellikle gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde ortaya çıkan ve doğumdan sonra genellikle düzelen bir diyabet türüdür (American Diabetes Association, 2021). Gestasyonel diyabetin altında yatan mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte, bu durumun gelişiminde β hücre disfonksiyonu ve insülin direncinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Plows ve ark., 2018). Gestasyonel diyabet risk faktörleri arasında annenin ileri yaşı, yüksek vücut kitle indeksi (VKİ), önceki gebelikte GDM öyküsü veya fetal makrozomi, ailede T2DM veya GDM öyküsü ve diyabet prevalansının yüksek olduğu etnik kökenler bulunmaktadır (Alduayji ve ark., 2023). Çok merkezli bir araştırmada, gestasyonel diyabetin prevalansı %9 ile %26 arasında değişmekte olup, ortalama %18 olarak bildirilmiştir (Aydın ve ark., 2019). Gestasyonel diyabetin hem anne

hem de bebek açısından çeşitli komplikasyonlara yol açabileceği bilinmektedir (Jooyeop ve ark., 2024).

Gestasyonel diyabet taraması için iki ayrı yöntem mevcuttur. Tanı amacıyla ya tek aşamalı 75 gram glikozla yapılan OGTT uygulanabilir ya da önce 50 gram glikozla ön tarama testi yapıp, ardından 100 gram glikozla 3 saatlik OGTT içeren iki aşamalı yöntem tercih edilebilir (Gomes ve ark., 2024).

2.1.4.4. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri

Diyabetin bu türleri arasında monogenik diyabet (örneğin, neonatal diyabet ve genç yaşta görülen tip 2 diyabet), ekzokrin pankreas hastalıklarına bağlı diyabet (kistik fibrozis veya pankreatit gibi) ve ilaç kullanımına bağlı gelişen diyabet (glukokortikoid kaynaklı) yer almaktadır (American Diabetes Association, 2021).

2.1.5. Diyabet Tedavisi

2.1.5.1. T1DM Tedavisi

Tip 1 diabetes mellitus durumunda mutlak insülin eksikliği söz konusu olduğundan, tedavide tek seçenek insülin replasmanıdır. İnsülinler etki sürelerine göre dört ana gruba ayrılır:

Hızlı etkili insülinler grubunda insülin lispro, insülin aspart ve insülin glulisin yer alır. Bu tür insülinler çok kısa sürede etkisini gösterir ve etkileri kısa sürer.

Kısa etkili insülinler arasında ise nötral regüler insülin bulunur. Etkisi hızlı başlar ve bu grup içerisinde intravenöz (i.v.) yolla uygulanabilen tek insülin nötral regüler insülinidir.

Orta etkili insülinler, genellikle izofan insülin ya da nötral protamin Hagedorn (NPH) insülin olarak bilinir. NPH insülin yaklaşık 2 ila 5 saat içinde etkisini gösterir ve 4 ila 12 saat arasında süren bir etki süresine sahiptir.

Uzun etkili insülinler grubunda insülin glarjin ve insülin detemir bulunur. Bu insülinlerin etkisi yavaş başlasa da, uzun süreli bir etki sağlarlar (Rafi ve ark., 2025).

2.1.5.2. T2DM Tedavisi

T2DM tedavisinde öncelikli olarak oral antidiyabetik ilaçlar tercih edilmektedir. Ancak bu ilaçlar yeterli glisemik kontrolü sağlamadığında, tedaviye insülin eklenmesi gerekebilir. Bu süreçte çeşitli oral antidiyabetik gruplar kullanılmaktadır. Bunlar arasında sülfonilüreler, meglitinidler, biguanid grubu ilaçlar, tiazolidindionlar, glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) agonistleri, dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri, α -glukozidaz inhibitörleri ve safra asidi sekestranları yer almaktadır. Bu ilaçlar, farklı etki mekanizmalarıyla kan şekeri kontrolünü sağlamaya yardımcı olur.

Tip 2 diyabet tedavisinde tercih edilen oral antidiyabetik ilaçlar ile bunların etki mekanizmalarına ilişkin bilgiler Tablo 2.4'te sunulmuştur (Katzung ve ark., 2021).

Tablo 2.4. T2DM tedavisinde kullanılan oral antidiyabetikler

İlaç Grubu	Etki Mekanizması	İlaç
Sülfonilüre Türeveli İlaçlar	Pankreas β hücrelerinde bulunan potasyum kanallarının kapanması hücre zarında depolarizasyona neden olur. Bu durum voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının açılmasını tetikler ve kalsiyum iyonlarının hücre içine girmesini sağlar. Böylece, önceden sentezlenmiş ve veziküllerde depolanmış insülinin salınımı artar.	Glipizid Glibenklamid Gliklazid
Meglitinidler	Pankreas β hücrelerindeki ATP duyarlı potasyum kanallarını inhibe ederek insülin sekresyonunu uyarırlar. Bu ilaçların kanal üzerindeki bağlanma özellikleri ve blokaj süreleri sülfonilürelerden farklılık gösterir.	Nateglinid Repaglinid
Biguanidler	Karaciğerde artmış glikoneojenezi baskılayarak glikoz salınımını azaltırlar. Periferik dokuların glikozu kullanma kapasitesini artırır. İnsülin salınımını uyarmadan, periferik insülin duyarlılığını artırıcı etki gösterirler. Ayrıca, ince bağırsakta glikoz emilimini azaltarak glisemik kontrol sağlarlar.	Metformin
Tiazolidindionlar	İnsülin direncini azaltır ve hedef hücrelerdeki insülin duyarlılığını artırır. Bu etkilerini gösterebilmeleri için ortamda mutlaka insülin bulunması gerekir. İnsülinin hedef hücrelerinden özellikle yağ dokusu hücrelerinde yer alan peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama (PPAR γ) adlı reseptöre bağlanarak etki gösterir.	Pioglitazon Rosiglitazon
Glukagon Benzeri Polipeptit-1 (GLP-1) Agonistleri	T2DM’de yemek sonrası GLP salınımı azalır. Bu durum, glukagonun yeterince baskılanamamasına ve karaciğerden glikoz çıkışının artmasına neden olur. Bu ilaçlar GLP-1’in etkisini güçlendirerek etki gösterir. Glikoza bağlı insülin salınımını artırma, glukagon salgısını azaltma, mide boşalmasını yavaşlatma ve iştahı baskılama gibi çeşitli etkileri bulunmaktadır.	Liraglutid Eksenatid

Tablo 2.4. (Devamı)

Dipeptidil Peptidaz-4 (DPP-4) İnhibitörleri	İnkretinler, insülin salgısını uyarma yeteneğine sahip ancak yarılanma ömürleri oldukça kısa olan hormonlardır; DPP-4 enzimi tarafından kısa sürede yıkılırlar. Bu ilaçlar, GLP-1 ve glikoza bağımlı insülinotropik peptit (GIP) gibi inkretinlerin etkisiz hale getirilmesini engeller. Bu mekanizma sayesinde, insülin salınımı artırılırken glukagon sekresyonu baskılanır.	Vildagliptin Sitagliptin Saksagliptin
α-glukozidaz inhibitörleri	Bağırsaklardaki disakkaritleri parçalayan glikozidaz enzimini inhibe ederek disakkaritlerin emilimini azaltırlar. Nişasta ve disakkaritlerin sindirimini yavaşlatarak emilim süresini geciktirir ve yemek sonrası kan glikozundaki ani yükselmeleri önler. Akarboz ve miglitol, bağırsakta bulunan α-glukozidaz enzimine karşı kompetitif inhibitör olarak görev yaparlar.	Miglitol Akarboz Guar sakızı
Safra asidi sekestranları	Safra asitlerine bağlanma özelliği gösterirler. Etkilerini nasıl gösterdikleri tam olarak aydınlatılamamış olsa da, farnesoid X reseptörünün aktivasyonunu azaltarak ve enterohepatik dolaşımı etkileyerek etki ettikleri düşünülmektedir.	Kolesevelam

2.1.6. Deneysel Diyabet Modelleri

Diyabette uygun deneysel modeller, hastalığın patogenezi, komplikasyonları, hastalığa yatkınlığı artıran genetik ve çevresel etkenlerin anlaşılması ile terapötik ajanların değerlendirilmesinde temel araçlardır (Martín-Carro ve ark., 2023).

Hayvan modellerinde diyabet oluşturmak amacıyla farklı yöntemlerden yararlanılmaktadır.

2.1.6.1. Cerrahi Yöntemle Oluşturulan Diyabet Modelleri

Pankreasın tamamen çıkarılması (total pankreatektomi) ile cerrahi olarak diyabet modeli oluşturulabilir.

Bu işlemle, pankreas β hücre kitlesi ortadan kaldırılarak diyabetik durum sağlanır.

Ancak, cerrahi girişimin enfeksiyon riski taşıması, işlemin teknik beceri ve donanım gerektirmesi, ayrıca pankreatektomi sonrası analjezik ve antibiyotik desteği zorunluluğu bu yöntemin yaygın kullanımını kısıtlayan başlıca faktörlerdir (X. Peng ve ark., 2023).

2.1.6.2. Genetik Temelli Diyabet Modelleri

Tip 1 diyabet modeli geliştirmek amacıyla en sık kullanılan hayvanlar, hastalığın kendiliğinden ortaya çıktığı non-obez diyabetik fareler ve biobreeding sıçanlardır.

Bu modeller, özellikle otoimmün diyabetin taklit edilmesi ve araştırılması için yaygın şekilde tercih edilmektedir (Serreze ve ark., 2024).

2.1.6.3. Kimyasal Ajanlarla Oluşturulan Diyabet Modelleri

Diyabet modeli oluşturmak amacıyla en yaygın kullanılan iki kimyasal ajan, streptozosin(STZ) ve alloksandır.

Bu ajanlar, pankreas Langerhans adacıklarında yalnızca β hücrelerini hedef alarak hasar oluşturur; α ve δ hücrelere zarar vermeden seçici β hücre tahribatına neden olurlar (Singh ve ark., 2024).

STZ, *Streptomyces achromogenes* kökenli bir antineoplastik ve geniş spektrumlu antibiyotik bileşiktir (Capdevila ve ark., 2022). STZ'nin toksik etkisini gösterebilmesi için hücre içine alınması gerekmektedir. Pankreas β hücrelerinde, glikozun hücre içine taşınmasını sağlayan glikoz taşıyıcısı (GLUT2) bulunur. Glikoz analogu olan STZ, bu taşıyıcı aracılığıyla hücre içine alınır ve β hücrelerinde birikir. β hücreleri, glikoz alımında

pankreasın diğer hücrelerine göre daha spesifiktir (Lenzen ve ark., 2008; Wang ve ark., 1998).

STZ'nin sitotoksik etkisinin temel nedeni, molekül yapısında bulunan metilnitrozüre grubudur. Hücreye girdikten sonra, metilnitrozüre grubundaki metil hücre DNA'sına bağlanarak hasar oluşturur ve bu durum DNA'nın parçalanmasına yol açar (Eleazu ve ark., 2013). DNA hasarına karşı hücredeki ilk yanıt, poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) enzimlerinin aktive olmasıdır. Bu aktivasyon, hücre içindeki nikotinamid adenin dinükleotit (NAD⁺) seviyelerinin tükenmesine yol açar ve sonuç olarak pankreas adacık hücrelerinde proinsülin üretimi baskılanır (Okamoto ve ark., 2003).

Tek doz 35-65 mg/kg STZ intraperitoneal (i.p.) uygulaması ile sıçanlarda T1DM modeli oluşturulmaktadır. Ayrıca, düşük doz STZ (30-35 mg/kg) ve yüksek yağlı diyet kombinasyonu veya yenidoğan sıçanlara doğumdan sonraki 2. günde 100 mg/kg STZ uygulaması ile T2DM modeli elde edilmektedir (King ve ark., 2012; Sharma ve ark., 2023).

Alloksan diyabet oluşturmak için STZ'den sonra en sık tercih edilen kimyasal ajandır. Alloksan uygulanan hayvanlarda ketozis görülme sıklığı ve buna bağlı ölüm oranı yüksektir. Ayrıca, alloksan verilen hayvanlarda pankreasın rejenerasyonu sonucu hipergliseminin geri dönüşü erken ve yaygın olarak gözlemlenir. Alloksanın diyabet oluşturmak için kullanılan dozları ile toksik etkiler gösterdiği dozlar birbirine oldukça yakın olduğu için, dozajın özenle ayarlanması gerekmektedir (Kim ve ark., 2024). Bu sebeplerle, laboratuvar hayvanlarında diyabet oluşturmak amacıyla genellikle alloksan yerine STZ tercih edilmektedir (Fajarwati ve ark., 2023).

2.1.7. Diyabetin Komplikasyonları

Diabetes mellitusun yol açtığı komplikasyonlar akut ve kronik olarak iki ana başlıkta toplanır. DM tedavi stratejilerinde, akut komplikasyonların ortaya çıkmasını engellemek ile kronik komplikasyon riskini uzun vadede azaltmak hayati önem taşımaktadır (Chamine ve ark., 2022).

Diyabetin akut komplikasyonları arasında hipoglisemi, laktik asidoz, diyabetik ketoasidoz (DKA) ve hiperozmolar hiperglisemik durum yer alır. Kan glikoz düzeyinin 70 mg/dl'nin altına düşmesi hipoglisemi olarak tanımlanır. Hipoglisemi, aşırı dozda insülin veya oral antidiyabetik kullanımı, yoğun fiziksel aktivite, artmış insülin duyarlılığı ya da yetersiz beslenme gibi çeşitli nedenlerle gelişebilir. Laktik asidoz ise kanda laktat düzeylerinin yükselmesiyle ortaya çıkan, nadir ancak nedenine bağlı olarak yüksek mortalite riski taşıyan ciddi bir metabolik asidozdur. DKA'da, mutlak insülin eksikliği nedeniyle lipoliz baskılanamaz; bu da ketonemi ve ketonüri ile sonuçlanır. Hiperozmolar hiperglisemik durumda ise temel sorun dehidratasyondur. Bu tabloda insülin tamamen yok değildir; mevcut olan az miktardaki insülin lipolizi baskılamaya yettiği için keton cisimleri oluşmaz (Rewers ve ark., 2018).

Diyabetin kronik komplikasyonları, mikrovasküler ve makrovasküler olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Mikrovasküler komplikasyonlar arasında diyabetik nefropati, nöropati ve retinopati yer alırken, makrovasküler komplikasyonlar arasında ise koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı bulunmaktadır (American Diabetes Association, 2021).

2.1.7.1. Mikrovasküler Komplikasyonlar

Retinopati

Diyabetik retinopati, erişkin bireylerde görme kaybının en yaygın nedenlerinden biridir. Hastalığın süresinin uzaması, kalıcı hiperglisemi ve eşlik eden hipertansiyon, retinopati gelişiminde önemli risk faktörleri arasında yer alır. Ayrıca, endotel işlev

bozukluğu, diyabetik böbrek hastalığı ve obezite de bu komplikasyonun ortaya çıkma olasılığını artıran etkenlerdendir (Wong ve ark., 2016). Tedavi sürecinde normoglisemiye ulaşılması, diyabetik retinopatinin başlangıcını önlemekle kalmaz, ayrıca hastalığın ilerlemesini de yavaşlatır (Rajalakshmi ve ark., 2016).

Nöropati

Diyabetik nöropati, özellikle periferik sinir sistemindeki duyu ve otonom sinir uçlarında görülen, sinir hücrelerinin dejenerasyonu ile karakterize bir bozukluktur. Diyabetli bireylerin yarısından fazlasında nöropati gelişir (Yang ve ark., 2025). Genellikle ayaklarda başlayan uyuşma, karıncalanma, yanma hissi ve kas güçsüzlüğü gibi belirtiler hastalar arasında sıklıkla gözlemlenir (Peltier, 2023). Diyabetik nöropati gelişme riskini artıran etkenler arasında yüksek kan şekeri, yüksek trigliserid düzeyleri, obezite, hipertansiyon, dislipidemi ve metabolik sendrom sayılabilir (Kazamel ve ark., 2021).

Nefropati (Diyabetik böbrek hastalığı)

Diyabetik nefropati, diyabetli bireylerde anlamlı düzeyde albuminüri, glomerüler yapı bozuklukları ve azalmış glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ile karakterize edilen bir böbrek komplikasyonudur (Pelle ve ark., 2022). Diyabetik nefropati, diyabetli bireylerde kalıcı olarak artmış trombün albümini atılımı, glomerül yapısının bozulması ve düşük GFR ile karakterize ciddi bir böbrek komplikasyonudur (Mohammed ve ark., 2024).

2.1.7.2. Makrovasküler Komplikasyonlar

Diyabet, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve trombositler gibi birçok hücrenin fonksiyonlarını etkileyerek vasküler sistemde bozulmalara yol açmaktadır (Creager ve ark., 2003). Diyabette makrovasküler komplikasyonların temel nedeni, arter duvarlarında daralmaya yol açan ateroskleroz sürecidir (J. Yin ve ark., 2024). Kronik hiperglisemi,

dislipidemi ve insülin direnci gibi metabolik bozukluklar, arter duvarlarını ateroskleroz gelişimine karşı daha duyarlı hâle getiren faktörlerdir (Hasheminasabgorji ve ark., 2021).

Ateroskleroz, koroner veya periferik arter duvarlarında kronik inflamasyon ve hasarın bir sonucu olarak gelişmektedir. Endotel hasarına ve inflamasyona yanıt olarak, oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein partikülleri arterlerin endotel duvarında birikmektedir. Angiotensin II (Ang II) bu partiküllerin oksidasyonunu kolaylaştırmaktadır. Tip 2 diyabette, aterom oluşumunun yanı sıra trombosit adezyonunda ve hiperkoagülasyonda artış olduğu gösterilmiştir. Azot monoksit üretimindeki bozulma, trombositlerde serbest radikal oluşumunun artması ve kalsiyum düzeylerindeki bozulmalar trombosit agregasyonunda artışa neden olmaktadır. Pıhtılaşma eğiliminin artması ve fibrinolizisdeki bozulma, kardiyovasküler komplikasyon riskini artırmaktadır (Jiang ve ark., 2022).

Koroner arter hastalığı

Diyabet, koroner arter hastalığı olan bireylerde hastalık şiddetini artırmakta ve akut koroner sendrom gelişen hastalarda mortaliteyi yükseltmektedir (Attar ve ark., 2022). Koroner arter hastalığı gelişiminde yaş, diyabet süresi, dislipidemi ve hipertansiyon önemli risk faktörleri arasında yer almaktadır (Yao ve ark., 2023).

Periferik arter hastalığı

Diyabet, periferik arter hastalığı (PAH) gelişiminde önemli bir risk faktörü olup, bu hastalık alt ekstremitelerde tıkanıklık ve dolaşım bozukluklarına yol açmaktadır. Diyabetli bireylerde PAH görülme oranı, genel popülasyona kıyasla 2 ila 4 kat daha fazladır. PAH, alt ekstremitelerde amputasyonu için önemli bir risk faktörü olup, yaş, hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara kullanımı ve diyabet bu riski artıran başlıca etmenlerdir (Haile ve ark., 2025; Thiruvoipati ve ark., 2015).

Serebrovasküler hastalık

Diyabet, koroner ve periferik damarlar üzerindeki etkilerinin yanı sıra serebrovasküler arter dolaşımını da olumsuz etkileyerek inme riskini artırmaktadır. Diyabetli bireylerde ekstrakraniyal ateroskleroz prevalansı artmakta ve glisemik kontrolün sağlanamaması inme riskini %150 ila %400 oranında artırmaktadır (Mosenzon ve ark., 2023).

2.2. Olea Europaea

Olea europaea'nın yapraklarında ve olgunlaşmamış zeytin meyvelerinde en yüksek oranda bulunan fenolik bileşik oleuropeindir. Zeytinyağı ya da sofralık zeytinlerde tespit edilen polifenollerin büyük bir kısmı bu bileşiğin hidroliz ürünlerinden oluşmaktadır (Mir-Cerdà ve ark., 2024). Yapılan laboratuvar çalışmalarında oleuropeinin belirgin antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve etkinliğinin, tokoferolün suda çözünebilen analogu ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu gösterilmiştir (Al-Rimawi ve ark., 2024).

Oleuropeinin biyolojik etkilerinden biri, reaktif oksijen türleri arasında yer alan süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi molekülleri doğrudan nötralize edebilmesidir (Visioli ve ark., 1998). Ayrıca bu bileşik bağışıklık yanıtında görev alan nötrofillerin “solunum patlaması” (respiratory burst) sırasında aşırı miktarda ürettiği oksidanları sınırlayabilmektedir. Solunum patlaması, fagositlerin patojenleri yok etmek için hızlı ve yoğun şekilde serbest radikal üretmesiyle karakterizedir; ancak kontrolsüz olduğunda çevre dokularda hasara yol açar. Oleuropeinin özellikle hipokloröz asit ve onun türevleri gibi bu süreçte oluşan radikalleri baskıladığı rapor edilmiştir (Chimi ve ark., 1991).

Oksijen kökenli serbest radikaller ateroskleroz gelişiminde önemli bir role sahiptir. Bu moleküller, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu artırarak

damar duvarında reaktif oksijen türleriyle etkileşime giren çeşitli yan ürünlerin ortaya çıkmasına yol açar. Bu da plak oluşumunu tetikleyen süreçlerden biridir (Witztum, 1987).

Deneysel hayvan modellerinde, doymuş yağ asitlerinden zengin diyetlerin farklı dokularda oksidatif stresi artırdığı ve lipit peroksidasyonunu yükselttiği bildirilmiştir. Buna karşılık, zeytinyağıyla desteklenen diyetler lipit peroksidasyonunu baskılamakta, dokularda glutatyon temelli antioksidan savunma mekanizmalarını aktive etmektedir (Somova ve ark., 2003). Ayrıca zeytinyağının hiperlipidemi düzeylerini azaltarak aterosjenik indeksi düşürdüğü gösterilmiştir (De La Cruz ve ark., 2000).

2.3. Gümüş Nanopartiküller (Ag-NP'ler)

Gümüş nanopartikülleri, sahip oldukları benzersiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler nedeniyle bilim ve teknoloji alanlarında büyük ilgi görmektedir (Desireddy ve ark., 2013; Fayaz ve ark., 2010; Kumar ve ark., 2008). Bu nanopartiküller, özellikle güçlü antibakteriyel etkileri ile ön plana çıkmaktadır; bakteri hücre zarını parçalama, enzim fonksiyonlarını bozma ve reaktif oksijen türlerinin üretimini tetikleme gibi mekanizmalarla etki gösterirler (J. S. Kim ve ark., 2007).

Ag-NP'ler, sağlık ve biyomedikal uygulamalarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. Örneğin, tıbbi tedavilerde doğrudan antibakteriyel ajan olarak, ilaç taşıma sistemlerinde hedefe yönlendirilmiş nanopartikül olarak, medikal cihazların yüzey kaplamalarında mikrobiyal kontaminasyonu önlemek için, yara örtüleri ve bandajlarda enfeksiyonu azaltmak için ve kontraseptif ürünlerde sperm aktivitesini azaltmak amacıyla kullanılmaktadır (Benyettou ve ark., 2015; Marassi ve ark., 2018; Patra ve ark., 2018; You ve ark., 2012).

Buna karşın, yaygın kullanımına rağmen, Ag-NP'lerin toksik etkilerine dair araştırmalar hâlâ sınırlıdır. Son çalışmalar, Ag-NP'lerin over (yumurtalık) dokusunda hasara yol açabileceğini göstermiştir (El-Nouri ve ark., 2013; Gaurav ve ark., 2015). Bu

hasar, hücre membran bütünlüğünün bozulması, mitokondriyal fonksiyonların azalması ve oksidatif stresin artması gibi mekanizmalarla gerçekleşebilir. Ayrıca, başka bir araştırmada Ag-NP'lerin ovulasyon sürecini durdurabildiği ve dolayısıyla üreme fonksiyonlarını olumsuz etkileyebildiği bildirilmiştir (Ghorbanzadeh ve ark., 2011).

2.4. Kitosan (K)

Kitosan, biyolojik aktiviteleri nedeniyle tıp, gıda ve kimya sektörlerinde giderek daha fazla ilgi görmektedir (Razdan ve ark., 1994). Bu biyopolimer antioksidan, yaşlanmayı geciktirici ve antimikrobiyal özellikler sergiler (Younes ve ark., 2015). Kitosanın nanoparçacık formu (K-NP'ler), özellikle ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadır; çünkü bu form, ilacın kontrollü ve yavaş salınımını sağlayarak etkinliğini artırır, stabilitesini güçlendirir ve olası toksisiteyi azaltır (Liao ve ark., 2007; Razdan ve ark., 1994).

Kitosan nanoparçacıkları, sadece ilaç taşımada değil, aynı zamanda biyomolekülleri koruma ve hücresel düzeyde DNA hasarını önleme görevlerinde de kullanılmaktadır. Örneğin, kitosan nanoparçacıklarla kaplanmış selenyum hücre içi reaktif oksijen türlerinin neden olduğu DNA hasarını önemli ölçüde azaltabilmektedir (Zheng ve ark., 2011). Bunun yanı sıra, kitosan nanoparçacıklarının yüzey modifikasyonu, hedeflenen ilaç salınımı ve biyouyumlu taşıma sistemleri geliştirmede de avantaj sağlamaktadır. Bu özellikleri sayesinde, K-NP'ler modern biyomedikal uygulamalarda hem güvenli hem de etkili bir taşıyıcı olarak öne çıkmaktadır.

3. MATERİYAL VE METOT

Çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarları bünyesinde yürütülmüştür.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada, deneysel diyabet modeli oluşturmak için 4 aylık ve 250–300 gram ağırlığındaki 48 adet erkek Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Çalışmadaki tüm aşamaların etik kurallara uygun olduğu, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 29.04.2024 tarihli ve 2024/04 sayılı oturumunda alınan 105 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve Hazırlanışları

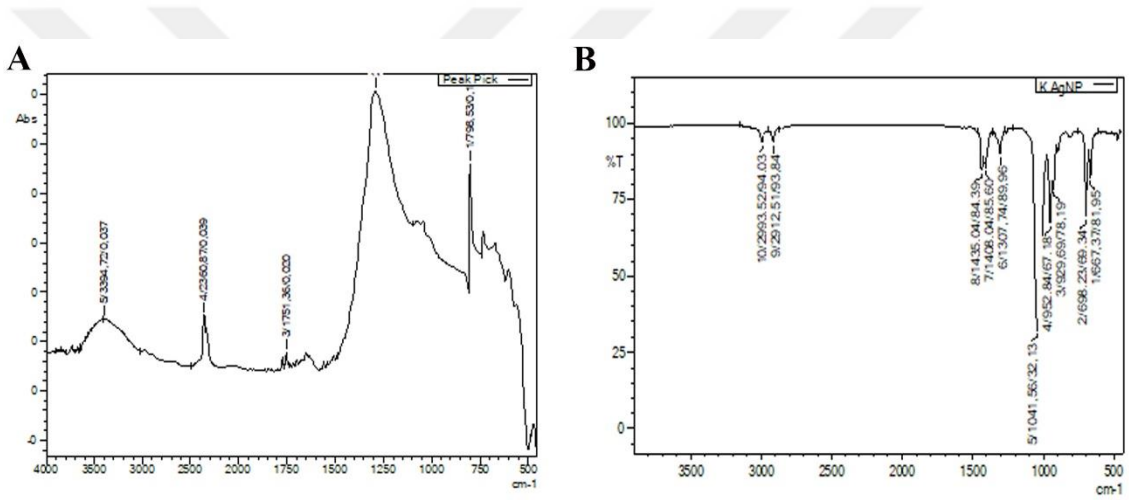
3.1.2.1. Kitosan-Gümüş Nanopartikül (K-AgNP) Sentezi ve Karakterizasyonu

Kitosan çözeltisi, %1'lik asetik asitte (1 mg/ml) hazırlandı ve karışım 45 °C'de homojen bir çözelti elde etmek için karıştırıldı. Daha sonra, kitosan çözeltisi (25 ml), 0.1 N sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi (75 ml) ile karıştırıldı ve 1 ml 100 mM gümüş nitrat (AgNO₃) çözeltisi (%99'luk Sigma-Aldrich) eklenerek çözelti hazırlandı. Bu çözeltiye 0.04 M (20 ml) sodyum borhidrür ilave edildi ve 30 dakika boyunca karıştırıldı. Sonrasında oluşan sarı renk, K-AgNP'lerin oluşumunu göstermektedir. Elde edilen çözelti, 95 °C'de 24 saat boyunca etüvde bekletildi ve sonraki aşamada kullanıma hazır şekilde karanlıkta muhafaza edildi. Suda çözünürlüğü az olan kitosan-gümüş nanopartikülleri, seyreltik asetik asitte çözündü ve gerekli yıkama işlemleri yapılarak karakterizasyon işlemlerine hazır hale getirildi. Sentezlenen K-AgNP'lerin yapısal karakterizasyonu; Fourier transform infrared spektroskopisi (FT-IR), görünür bölge ultraviyole spektroskopisi (Vis-UV) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) gibi

spektroskopik teknikler kullanılarak gerçekleştirildi. Ayrıca nanopartiküllerin boyut dağılımlarını belirlemek için zeta potansiyeli ölçümleri yapıldı.

K-AgNP FTIR Analizi

Kitosan ve TPP arasındaki kimyasal etkileşimi belirlemek için FTIR spektrumları Bruker VERTEX 70v spektrometresi kullanılarak elde edildi. Örnek spektrumları 4000 ila 400 cm^{-1} arasındaki orta kızılötesi aralığında (4 cm^{-1} spektral çözünürlükte) kaydedildi. Kitosan potasyum bromit (KBr) ile karıştırıldı ve peletler halinde preslendi. Gümüş nitrat ve K-AgNP'ye ait FT-IR spektrumları sırasıyla Şekil 3.1'de sunulmuştur.

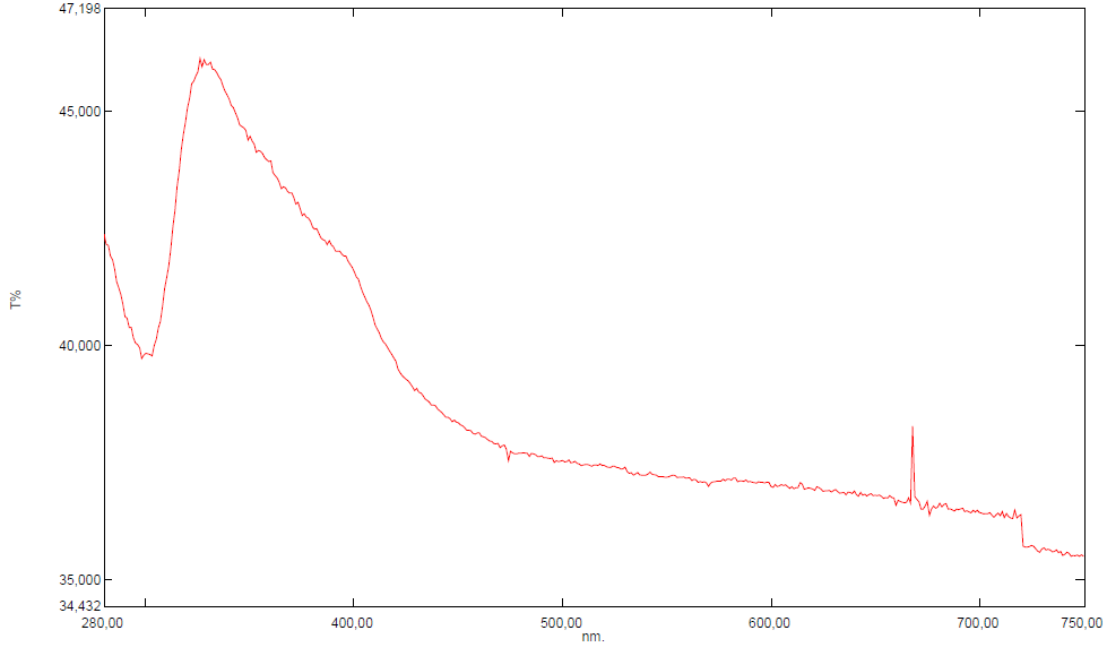


Şekil 3.1. A: Gümüş Nitrat'a ait FI-TR spekturumu **B;** Kitosan gümüş nanopartiküle ait FI-TR spekturumu

UV VIS Analizleri

Ag-NP'lerin oluşumu UV-Vis spektroskopi analizi kullanılarak doğrulandı. Orta bir tarama hızında üretilen Ag-NP'ler, bir UV-Vis spektrofotometre ile 300 ila 1000 nm arasında tarandı. Numunenin spektrumu, 2 cm $\times$ 2 cm boyutunda bir örnekleme tutucusu kullanılarak ölçüldü. UV-Vis analizinin metal atomlarının piklerini belirlemek için kullanılabileceği bilinmektedir. Pik tespiti, görünür ışığın emilimine yanıt olarak renkli metal iyonlarından kaynaklanır. Ayrıca, metal atomlarındaki elektronlar bir elektronik durumdan diğerine geçebilir; bu da belirli bir aralıkta güçlü bir piknin varlığına yol açar.

A-NP/PL'nin stabilitesi, bir parçacık analiz cihazı kullanılarak zeta potansiyeli ölçülerek belirlendi. Cihaz 633 nm dalga boyunda bir He-Ne lazer lambasına bağlandı. Ölçümler, her bir ölçüm için 10 çalışma yapılan 25 °C'de yalıtılmış bir odada gerçekleştirildi. Ölçümden önce, koloidal süspansiyon 10 dakika boyunca ultrason ile çalkalandı. Kitosana ait UV-Vis spektrumu Şekil 3.2’de sunulmuştur.



Şekil 3.2 Kitosan’a ait UV-Vis spektrumu

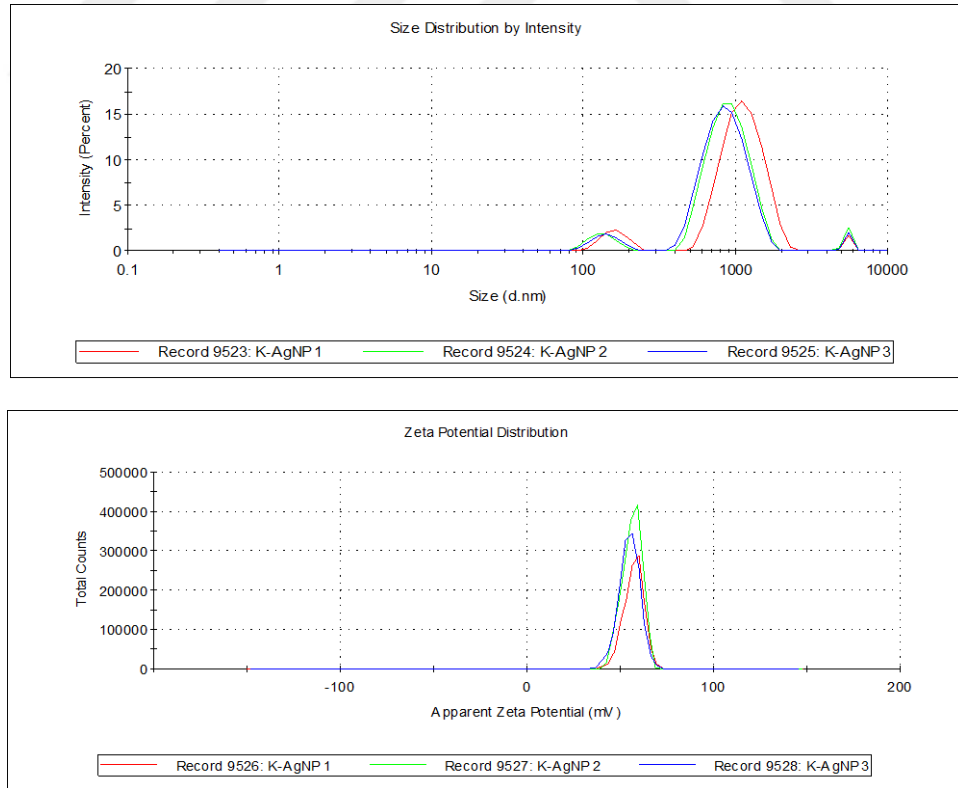
Zeta Potansiyeli Analizleri

Nanopartiküllerin ortalama boyutu ve polidispersite indeksi (PDI), bir Malvern Zetasizer Nano ZSP (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) kullanılarak Dinamik Işık Saçılımı (DLS) tekniği ile ölçüldü. Polistiren küvetlere bir kısım (1 mL) nanopartikül solüsyonu ilave edildi ve analiz 25 °C'de 90°'lik bir saçılma açısında gerçekleştirildi. Ek olarak, pH 5,0'daki numuneler bir kılcal hücreye yüklendi ve yüzey yükleri zeta potansiyeli (ZP) ile ölçmek için 25 °C'de analiz edildi. Sonuçlar her iki teknik için ortalama değer (n = 6) olarak rapor edildi.

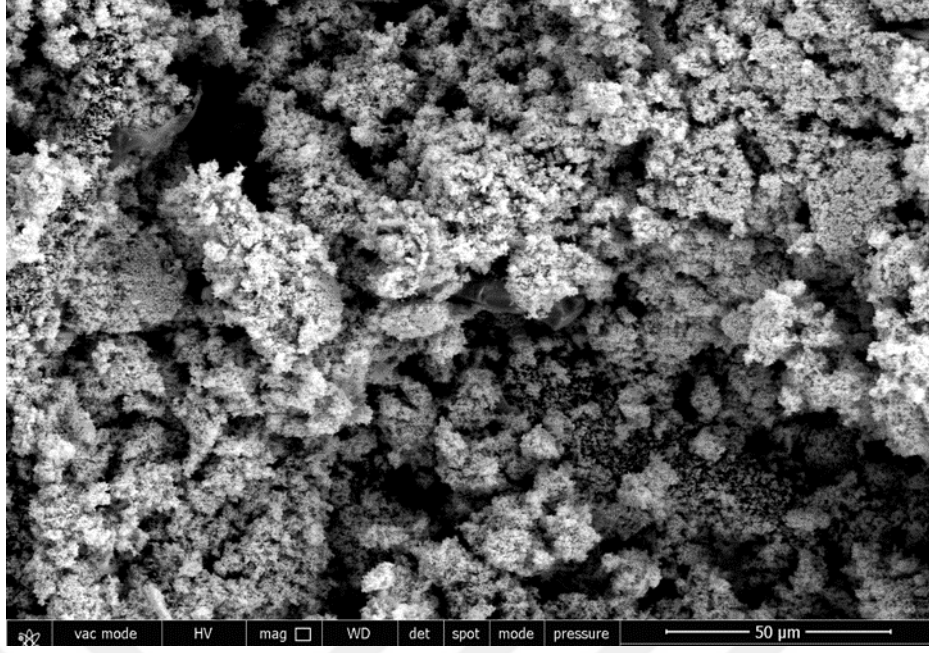
K-AgNP'lerin nanometrik özelliklerini değerlendirmek amacıyla kitosan-gümüş nanopartiküllerinin ortalama boyut (nm), PDI ve zeta potansiyeli (ZP) değerleri elde edilmiş ve sonuçlar Tablo 3.1'de sunulmuştur. K-AgNP sentezinde kullanılan kimyasallar ve temin kaynakları ise Tablo 3.2'de verilmiştir. K-AgNP'ye ait zeta potansiyeli ve parçacık boyut dağılımı Şekil 3.3'te, taramalı elektron mikroskopi (SEM) görüntüsü ise Şekil 3.4'te sunulmuştur.

Tablo 3.1. Kitosan gümüş nanopartiküllerinin ortalama değerleri

Örnek	Boyut (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
K-AgNP 1	1153	0.391	57.3
K-AgNP 2	923.9	0.553	56.4
K-AgNP 3	886.1	0.365	55



Şekil 3.3. K-AgNP'ye ait zeta potansiyeli ve parçacık boyut dağılımı



Şekil 3.4. K-AgNP'ye ait taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü

Tablo 3.2. K-AgNP sentezinde kullanılan kimyasallar ve temin kaynakları

Kimyasalın Adı	Menşei
Kitosan	Sigma-Aldrich
Gümüş nitrat (AgNO_3 , %99)	Sigma-Aldrich
Sodyum borhidrür (NaBH_4)	Sigma-Aldrich
Asetik asit (%1'lik çözelti)	Merck
Sodyum hidroksit (NaOH , 0.1 N)	Merck
Sodyum sitrat tamponu (10 mM, pH 4.5)	Sigma-Aldrich
Distile su	—

K-AgNP: Kitosan-gümüş nanopartikül; AgNO_3 : Gümüş nitrat; NaBH_4 : Sodyum borhidrür; NaOH : Sodyum hidroksit.

İlaç adayı bileşiklerin moleküler özellikleri ile biyoaktiviteleri arasındaki ilişkilerin sayısal analizlerle nicel olarak tanımlanması, kantitatif yapı-etki ilişkileri olarak bilinmektedir.

3.1.2.2. Streptozosinin Hazırlanması

STZ çözeltisinin hazırlanması için öncelikle 100 mM konsantrasyonunda sitrat tamponu, pH 4.5 olacak şekilde hazırlandı. Ardından, STZ monohidrat tozu hassas terazide 55 mg/kg dozuna karşılık gelecek miktarda tartıldı (Ghasemi & Jeddi, 2023).

Tartılan STZ belirlenen miktarda sitrat tamponuna ilave edildi. Kullanım öncesinde tazeliğini koruyacak şekilde çözeltinin hazırlanmasının ardından mümkün olan en kısa sürede enjeksiyon işlemi gerçekleştirildi. Hazırlanan çözeltiden intraperitoneal yolla hayvanlara kasık bölgesinden tek doz uygulandı.

3.2. Metot

3.2.1. Hayvanların Bakımı ve Grupların Oluşturulması

Hayvanlara uygun barınma koşulları sağlandı, beslenmeleri bilimsel standartlara göre düzenlendi ve su teminleri düzenli olarak yapıldı. Sprague-Dawley cinsi 48 adet erkek, 4 aylık, 250-300 gram ağırlığında rat kullanıldı. Randomize olarak 8 gruba ayrıldı ve ilaçlar ağırlıklarına göre verildi.

STZ enjeksiyonundan önce, hayvanlar gruplar halinde yalnızca içme suyu verilerek 12 saat süreyle aç bırakıldı. STZ uygulaması sonrasında pankreastan yoğun miktarda insülin salgılanması, sıçanlarda potansiyel olarak öldürücü hipoglisemi gelişimine neden olabilmektedir. Bu riski azaltmak amacıyla, STZ enjeksiyonunu takiben 4 ila 6 saat içinde sıçanların içme suyuna %5 oranında glukoz ($C_6H_{12}O_6$) çözeltisi eklenerek bu çözeltinin 24 saat boyunca hayvanlara verilmesi sağlandı. STZ uygulamasından 72 saat sonra, sıçanlardan kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukometre aracılığıyla kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Glukoz seviyesi 300 mg/dL veya daha yüksek olan sıçanlar diyabetik kabul edildi (Hung ve ark., 2013). Glukoz düzeyleri ve vücut ağırlığı haftalık izlendi.

3.2.2. K-AgNP+Oleuropein Uygulanışı

Çalışmada kontrol grubuna intraperitoneal (i.p.) salin uygulanmıştır. Oleuropein grubuna 14 gün boyunca 100 mg/kg oleuropein oral gavaj yoluyla verildi. K-AgNP grubuna 1 mg/kg dozunda K-AgNP aynı yöntemle 14 gün uygulandı. K-AgNP+OLE grubunda her iki ajan belirtilen dozlarda 14 gün süreyle birlikte oral gavaj yoluyla verildi.

DM grubunda streptozosin(55 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulanarak diyabet modeli oluşturuldu. DM+OLE grubunda streptozosin uygulamasını takiben 14 gün boyunca 100 mg/kg oleuropein, DM+K-AgNP grubunda ise 1 mg/kg K-AgNP oral gavaj yoluyla verildi. DM+K-AgNP+OLE grubunda ise streptozosinsonrası her iki ajan 14 gün süreyle belirtilen dozlarda birlikte uygulandı. Oleuropein'in (Kat. No: BD318177; CAS: 32619-42-4; BLDpharm, Çin) 100 mg/kg dozunda uygulanması, farmakolojik etkilerinin ortaya çıkması için yeterli olup bu dozun önceki prelinik çalışmalarda güvenli ve etkili bir aralıkta yer aldığı bildirilmiştir (Malliou ve ark., 2023). Deney grupları Tablo 3.3'te belirtilmiştir.

Tablo 3.3. Deney grupları

Grup	Sayı	Uygulama
Sağlıklı	6	i.p. saline
Ole	6	14 gün boyunca Oleuropein 100 mg/kg dozunda oral olarak uygulandı
K-AgNP	6	14 gün boyunca Kitosan-gümüş nanopartikül 1 mg/kg dozunda oral olarak uygulandı
K-AgNP+OLE	6	14 gün boyunca Kitosan-gümüş nanopartikül (1 mg/kg) + Oleuropein (100 mg/kg) dozunda oral olarak uygulandı
DM	6	Streptozosin55 mg/kg intraperitoneal uygulandı
DM+OLE	6	Streptozosin55 mg/kg + 14 gün boyunca Oleuropein 100 mg/kg dozunda oral olarak uygulandı
DM+K-AgNP	6	Streptozosin55 mg/kg + 14 gün boyunca Kitosan-gümüş nanopartikül 1 mg/kg dozunda oral olarak uygulandı
DM+K-AgNP+OLE	6	Streptozosin55 mg/kg + 14 gün boyunca Kitosan-gümüş nanopartikül (1 mg/kg) + Oleuropein (100 mg/kg) dozunda oral olarak uygulandı

3.2.3. Deneyin Sonlandırılması

Tedavi sürecinin 14. Günü sonunda, deney grubundaki tüm ratlara etik kurallara uygun olarak Xylazin (15 mg/kg, ip; Rompun®, Bayer, Almanya) ve ketamin (100

mg/kg, ip; Ketalar®, Pfizer, ABD) anestezisi uygulanarak ötenazi gerçekleştirildi. Daha sonra intrakardiyak yoldan kan örnekleri alınarak 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar, biyokimyasal analizlerin yapılacağı zamana kadar önce -20 °C’de, daha sonra da -80 °C’de saklandı. Kan örneklerinin alınmasının ardından hayvanlardan pankreas dokuları çıkarıldı. Pankreas dokusunun bir kısmı histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için %10 tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edilirken, diğer kısmı biyokimyasal ve Western blot analizleri için -80 °C’de muhafaza edildi.

3.2.4. Histopatolojik Analizler

Ratlardan elde edilen pankreas dokuları önce %10’luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra dokular, artan konsantrasyonlarda alkol serileriyle dehidrate edildi. Dehidratasyon tamamlandıktan sonra dokular ksilolde şeffaflaştırıldı ve parafin içine gömülerek blok haline getirildi. Parafin bloklarından mikrotom ile 5 mikrometre kalınlığında ince kesitler hazırlandı. Hazırlanan kesitler, Crossman’ın modifiye ettiği üçlü boya yöntemiyle boyandı ve histopatolojik inceleme için mikroskop altında değerlendirildi.

3.2.5. İmmünohistokimyasal Analizler

İmmünohistokimyasal inceleme için, PI 3-kinase (Santa Cruz, sc-515646), AKT1 (Santa Cruz, sc-5298), GLUT2 (Santa Cruz, sc-518022), Insulin (Santa Cruz, sc-8033) ve Tnf- α (BT-MCA1210) primer antikorları ile boyama yapıldı. Boyama prosedürleri uygulanırken, Özmen ve Haligur (Haligur ve ark., 2012) tarafından yapılan çalışma baz alındı. İmmünohistokimya boyama basamaklarında hazır ticari kit kullanıldı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında seri kesitler alındı. İmmünohistokimyasal boyamaya başlamadan önce kesitler 60 °C’lik etüvde 15 dakika bekletildi.

Daha sonra kesitler, iki ayrı ksilol solüsyonunda 15’er dakikalık sürelerle

bekletilerek deparafinize edildi. Deparafinize edilen kesitler sırasıyla %100, %96, %80 ve %70'lik etil alkol serilerinde her birinde 5'er dakika süreyle bekletilerek dehidre edildi ve distile suda çalkalandı. İmmünohistokimya boyama basamaklarına geçildi: Dokulardaki antijenitenin güçlendirilmesi için kesitler sodyum sitrat (pH 6.0) içine alındı ve mikrodalga fırında 20 dakika süreyle kaynatıldı, ardından oda sıcaklığında soğutuldu. Dokular, fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyonu ile 5'er dakika olmak üzere üç kez yıkandı. Dokular kurularak etrafı immün kalemle sınırlandırıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini engellemek amacıyla dokular %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonunda 5-10 dakika süreyle bekletildi. Tekrar PBS ile 5'er dakika süren üç kez yıkama yapıldı. Dokular Ultra V Blok ile 5 dakika oda sıcaklığında muamele edildi. Primer antikor inkübasyonu için dokular ilgili primer antikora 4 °C'de bir gece, nemli ve karanlık ortamda inkübe edildi. PBS ile üç kez yıkandı (5'er dakika). Sekonder antikor inkübasyonu için dokular, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle biotinlenmiş goat anti-polivalent antikor ile bekletildi. PBS ile üç kez yıkandı (5'er dakika). Streptavidin peroksidaz ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyon yapıldı. PBS ile üç kez yıkandı (5'er dakika). Kromojen inkübasyonu aşamasında dokular, 3,3'-diaminobenzidin (DAB) kromojeni ve ilgili substratları ile 5–15 dakika inkübe edilerek boyandı. DAB uygulaması sonucunda hedef antijen bölgelerinde kahverengi çökelti oluşması sağlandı. Dokular distile su ile 5 dakika yıkandı. Zemin boyaması için dokular Mayer'in hematoksileninde 30 saniye süreyle boyandı. Dokular akarsu altında 5 dakika yıkandı ve Entellan ile kaplandı.

İmmünohistokimyasal uygulamalar tamamlandıktan sonra, kesitler binoküler ışık mikroskopunda (Leica DM2500, Almanya) uygun büyütmelerde incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Kesitlerde beş farklı mikroskop sahası seçildi ve boyanma yoğunlukları "0: boyama yok; 1: zayıf boyama; 2: orta derecede boyama; 3:

güçlü boyama” olarak derecelendirildi (Patel ve ark., 2025) .

3.2.6. Biyokimyasal Analizler

3.2.6.1. Kan Serumu Ölçümleri

Serum İnsülin Düzeyinin Ölçümü

Serum insülin düzeyleri Rat INS (Insulin) ELISA Kit (Cat. No.: ABT3153Ra, Atlas Biotechnology Co., Ltd., Çin) kullanılarak ölçülmüştür. Sandviç ELISA prensibiyle çalışan kit protokolüne uygun biçimde örnekler ve standartlar 96 kuyucuklu mikropalakaya yüklenmiş ve biyotinlenmiş antikor ile inkübe edilmiştir. Yıkama basamaklarının ardından streptavidin-HRP eklenerek TMB substrat ile renk gelişimi sağlanmış; stop solüsyonu ile reaksiyon durdurulmuş ve absorbans 450 nm'de okunmuştur. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edilmiştir.

Serum C-Peptid Düzeyinin Ölçümü

Serum C-peptid düzeyleri Rat C-P (C-peptide) ELISA Kit (Cat. No.: ABT2742Ra, Atlas Biotechnology Co., Ltd., Çin) kullanılarak belirlenmiştir. C-peptid, proinsülinde eşit molar miktarda salınan ve pankreatik beta hücre sekresyon kapasitesini yansıtan bir belirteçtir. Sandviç ELISA formatında uygulanan protokole uygun biçimde örnekler kuyucuklara aktarılmış, ardışık antikor inkübasyonları ve TMB substrat reaksiyonunun ardından absorbans 450 nm'de okunmuştur. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edilmiştir.

3.2.6.2. Pankreas Dokusundaki Biyokimyasal Parametrelerin Analizleri

Doku Glutasyon (GSH) Düzeyinin Ölçümü

Pankreas doku homojenatında GSH düzeyi Rat GSH (Glutathione) ELISA Kit (Cat. No.: ABT10155Ra, Atlas Biotechnology Co., Ltd., Çin) kullanılarak ölçülmüştür. Kompetitif ELISA prensibiyle çalışan kit ile örnekler uygun tampon ile seyreltilerek kuyucuklara aktarılmış; enzim-substrat reaksiyonu ile renk gelişimi sağlanmış ve absorbans 450 nm'de ölçülerek standart eğriden ng/mg protein olarak hesaplanmıştır.

Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyi Rat MDA (Malondialdehyde) ELISA Kit (Cat. No.: ABT10165Ra, Atlas Biotechnology Co., Ltd., Çin) kullanılarak pankreas doku homojenatında belirlenmiştir. Kompetitif ELISA formatında MDA'ya özgü antikor kaplı kuyucuklara örnekler yüklenmiş, biyotinlenmiş MDA antijeni ile yarışmalı inkübasyon ve TMB substrat reaksiyonu gerçekleştirilmiş; absorbans 450 nm'de okunarak sonuçlar ng/mg protein olarak ifade edilmiştir.

Doku Süperoksit Dismutaz 1 (SOD1) Protein Düzeyinin Ölçümü

Pankreas doku homojenatında SOD1 protein düzeyi Rat SOD1 (Superoxide Dismutase 1 Soluble) ELISA Kit (Cat. No.: ABT1626Ra, Atlas Biotechnology Co., Ltd., Çin) kullanılarak ölçülmüştür. Sandviç ELISA formatı uygulanmış; örnekler yakalama antikorlu kaplı kuyucuklara aktarılmış, deteksiyon antikorlu ve streptavidin-HRP ile sinyal amplifikasyonu sağlanmış, TMB substrat ile renk gelişiminin ardından 450 nm'de absorbans okunmuştur. Sonuçlar ng/mg protein olarak ifade edilmiştir. (Kullanılan SOD1 ELISA kiti sandwich ELISA prensibine dayanır ve enzimin aktivitesini değil, protein miktarını (konsantrasyonunu) ölçer.) Bu nedenle sonuçlar ng/mL cinsindedir.

Protein konsantrasyonları, Lowry yöntemine dayalı ticari kit (Total Protein Kit, TP0300-1KT; Sigma-Aldrich, ABD) kullanılarak belirlendi.

Western Blot Analizi

Western blot analizi, gruplar arasındaki protein düzeylerindeki değişimleri değerlendirmek amacıyla gerçekleştirildi. Doku örnekleri buz üzerinde homojenize edildi ve toplam proteinler RIPA lizis tamponu (Ecotech Biotech., Türkiye) kullanılarak ekstrakte edildi. Elde edilen homojenatlar 14000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek üst sıvı (süpernatant) dikkatlice toplandı. Protein konsantrasyonları BCA Protein Analiz Kiti (Thermo Sci., USA) ile belirlendi. Her bir örnekten eşit miktarda protein (30 µg),

%10'luk SDS-PAGE jelinde ayrılarak ve PVDF membranlara (Ecotech Biotech., Türkiye) transfer edildi.

Membranlar, TBS-T içinde hazırlanan %5 yağsız süt çözeltisi ile 1 saat bloklandıktan sonra, primer antikorlar ile 4 °C'de bir gece inkübe edildi. Ertesi gün membranlar TBS-T ile yıkanarak HRP konjuge sekonder antikorlar ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. Bantlar ECL kemilüminesans substratı (Ecotech Biotech., Türkiye) kullanılarak görüntülenerek densitometrik analiz ImageJ yazılımı ile yapıldı. β -aktin iç yükleme kontrolü olarak kullanıldı. Göreceli protein ekspresyonları, tüm grupların kontrol grubuna normalize edilmesiyle hesaplandı.

Tablo 3.4. Western blot analizinde kullanılan antikorlar ve üreticileri

Antikor	Üretici	Katalog Nr.	Dilution
Caspase-3	Affinity Biosciences	AF6311	1:750
Bcl-2	Santa Cruz Biotechnology	Sc-7382	1:500
GSK3B	Elabscience	E-AB-70043	1:750
mTOR	Affinity Biosciences	AF6308	1:750
NF-κB	Santa Cruz Biotechnology	Sc-8008	1:500
β-Actin	Santa Cruz Biotechnology	Sc-81178	1:500

3.2.7. İstatiksel Analizler

İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiş; veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir.

Vücut ağırlığı ve açlık kan glukozu verileri için One-Way ANOVA testi uygulanmış, gruplar arası ikili karşılaştırmalar post hoc Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir. Analizler SPSS 20.0 (IBM, ABD) programı ile yapılmıştır.

Serum insülin, serum C-peptid, pankreas dokusu GSH ve pankreas dokusu MDA verileri normal dağılıma uymadığından, nonparametrik Kruskal-Wallis testi uygulanmış; gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir.

Pankreas dokusu SOD1 verileri için One-Way ANOVA testi uygulanmış; gruplar

arası ikili karşılaştırmalar post hoc Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir.

İmmünohistokimyasal skor verileri ordinal ölçek niteliğinde olduğundan, Kruskal-Wallis testi uygulanmış; gruplar arası ikili karşılaştırmalar Dunn testi (Bonferroni-Holm düzeltmesi) ile gerçekleştirilmiştir. Veriler medyan (Q1–Q3) olarak sunulmuştur.

Western blot analizlerinde (Caspase-3, Bcl-2, GSK3 β , NF- κ B ve mTOR) istatistiksel değerlendirme GraphPad Prism v10.1 (GraphPad Software, ABD) programında One-Way ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır.

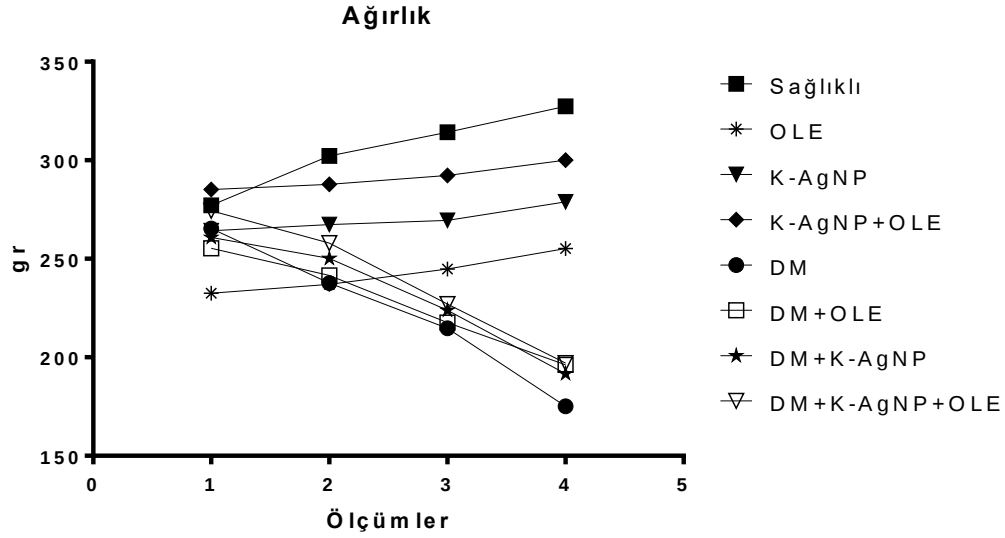
4. BULGULAR

4.1. Yaşamsal Bulgular

Diyabet indüklenmeden önce, deneyin başında tüm ratların ağırlıkları ve açlık kan glukoz değerleri bir kez ölçüldü ve deney süresince, sonlandırılana kadar haftalık olarak ölçümleri tekrarlandı.

Vücut Ağırlığı Değişimi

Deney süresince gruplara ait vücut ağırlığı değişimleri Şekil 4.1 ve Tablo 4.1'de sunulmuştur. Sağlıklı kontrol grubunda vücut ağırlığının 0. günden itibaren tüm ölçümler boyunca artış gösterdiği ve 15. günde 327.33 ± 27.82 gr'a ulaştığı görüldü. OLE grubunda ağırlık artışının daha sınırlı kaldığı (15. günde 255.17 ± 8.18 g), K-AgNP ve K-AgNP+OLE gruplarında da artışın devam ettiği bulundu. DM grubunda ise 0. günde 265.33 ± 9.99 gr olan ortalama vücut ağırlığının belirgin ve sürekli bir düşüş sergileyerek 15. günde 175.17 ± 17.16 gr'a gerilediği görüldü. DM+OLE (15. günde 196.17 ± 4.22 gr), DM+K-AgNP (15. günde 191.67 ± 16.61 gr) ve DM+K-AgNP+OLE (15. günde 197.00 ± 15.32 gr) gruplarında da ağırlık kaybının devam ettiği tespit edildi; tüm diyabetik grupların sağlıklı gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık sergilediği bulundu ($p < 0.05$).



Şekil 4.1 Deney süresince ratlara ait ağırlık değişimlerinin zamana bağlı gösterimi

Tablo 4.1. Gruplardaki ratların deney süresince ölçülen vücut ağırlıkları (gr)

Gruplar	0. Gün	5. Gün	10. Gün	15. Gün
Sağlıklı	277.17 ± 48.27 b	302.17 ± 11.91 d	314.17 ± 14.97 d	327.33 ± 27.82 d
OLE	232.50 ± 5.39 a	237.00 ± 10.55 a	244.83 ± 5.56 b	255.17 ± 8.18 b
K-AgNP	264.17 ± 6.18 ab	267.33 ± 10.93 bc	269.50 ± 8.83 c	278.83 ± 16.15 bc
K-AgNP+OLE	285.17 ± 11.96 b	287.83 ± 12.54 cd	292.33 ± 20.50 cd	300.00 ± 20.01 cd
DM	265.33 ± 9.99 ab	237.67 ± 8.64 a	214.67 ± 16.39 a	175.17 ± 17.16 a
DM+OLE	255.33 ± 3.93 ab	241.50 ± 12.63 a	217.67 ± 13.75 a	196.17 ± 4.22 a
DM+K-AgNP	260.83 ± 7.31 ab	250.17 ± 17.99 ab	223.83 ± 12.34 ab	191.67 ± 16.61 a
DM+K-AgNP+OLE	274.33 ± 3.72 b	258.00 ± 10.92 ab	227.00 ± 7.35 ab	197.00 ± 15.32 a

Değerler ± standart sapma olarak verilmiştir. Ölçümler gruplar arasında değerlendirilmiştir. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi için One-Way ANOVA testi, post hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Her bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir. Aynı harfler farkın anlamsız olduğunu göstermektedir.

Açlık Kan Glukoz Seviyesi

Açlık kan glukoz düzeyleri Şekil 4.2'de ve Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Sağlıklı, OLE, K-AgNP ve K-AgNP+OLE gruplarında açlık kan glukozunun tüm ölçüm günlerinde normal fizyolojik sınırlar içinde kaldığı (58–66 mg/dL) ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmediği tespit edildi ($p>0.05$). DM grubunda 5. günde 412.50 ± 65.82 mg/dL olan glukoz değerinin 15. günde 471.33 ± 69.96 mg/dL'ye yükseldiği görüldü. DM+K-AgNP grubunda glukoz seviyelerinin tüm ölçüm günlerinde yüksek seyrettiği (400–403 mg/dL) belirlendi. DM+OLE grubunda 5. günde 396.00 ± 43.76 mg/dL olan değer 15. günde 293.50 ± 21.31 mg/dL'ye gerilediği saptandı ($p<0.05$). En belirgin hipoglisemik etkinin DM+K-AgNP+OLE grubunda gözlemlendiği; 5. günde 401.67 ± 23.87 mg/dL olan değer 15. günde 224.33 ± 14.85 mg/dL'ye gerilediği ve bu azalmanın diğer diyabetik gruplardan istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklılaştığı bulundu ($p<0.01$).



Şekil 4.2. Deney süresince ratlara ait açlık kan glukoz seviyesi değişimlerinin zamana bağlı gösterimi

Tablo 4.2. Gruplardaki ratların deney süresince ölçülen açlık kan glukozu değerleri (mg/dL)

Gruplar	5. Gün	10. Gün	15. Gün
Sağlıklı	58.50 ± 6.12 a	59.50 ± 6.06 a	65.33 ± 12.23 a
OLE	62.17 ± 4.96 a	62.67 ± 5.20 a	66.00 ± 10.08 a
K-AgNP	62.50 ± 7.15 a	63.33 ± 6.44 a	64.67 ± 5.65 a
K-AgNP+OLE	60.17 ± 7.65 a	61.50 ± 3.02 a	62.67 ± 4.80 a
DM	412.50 ± 65.82 b	429.67 ± 43.43 d	471.33 ± 69.96 e
DM+OLE	396.00 ± 43.76 b	329.67 ± 38.57 c	293.50 ± 21.31 c
DM+K-AgNP	400.33 ± 30.82 b	400.67 ± 24.47 d	403.17 ± 31.47 d
DM+K-AgNP+OLE	401.67 ± 23.87 b	262.33 ± 67.30 b	224.33 ± 14.85 b

Değerler ± standart sapma olarak verilmiştir. Ölçümler gruplar arası değerlendirilmiştir. Sonuçların istatistiksel One-Way ANOVA testi, post hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Her bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir. Aynı harfler farkın anlamsız olduğunu göstermektedir.

4.2. Histopatolojik Bulgular

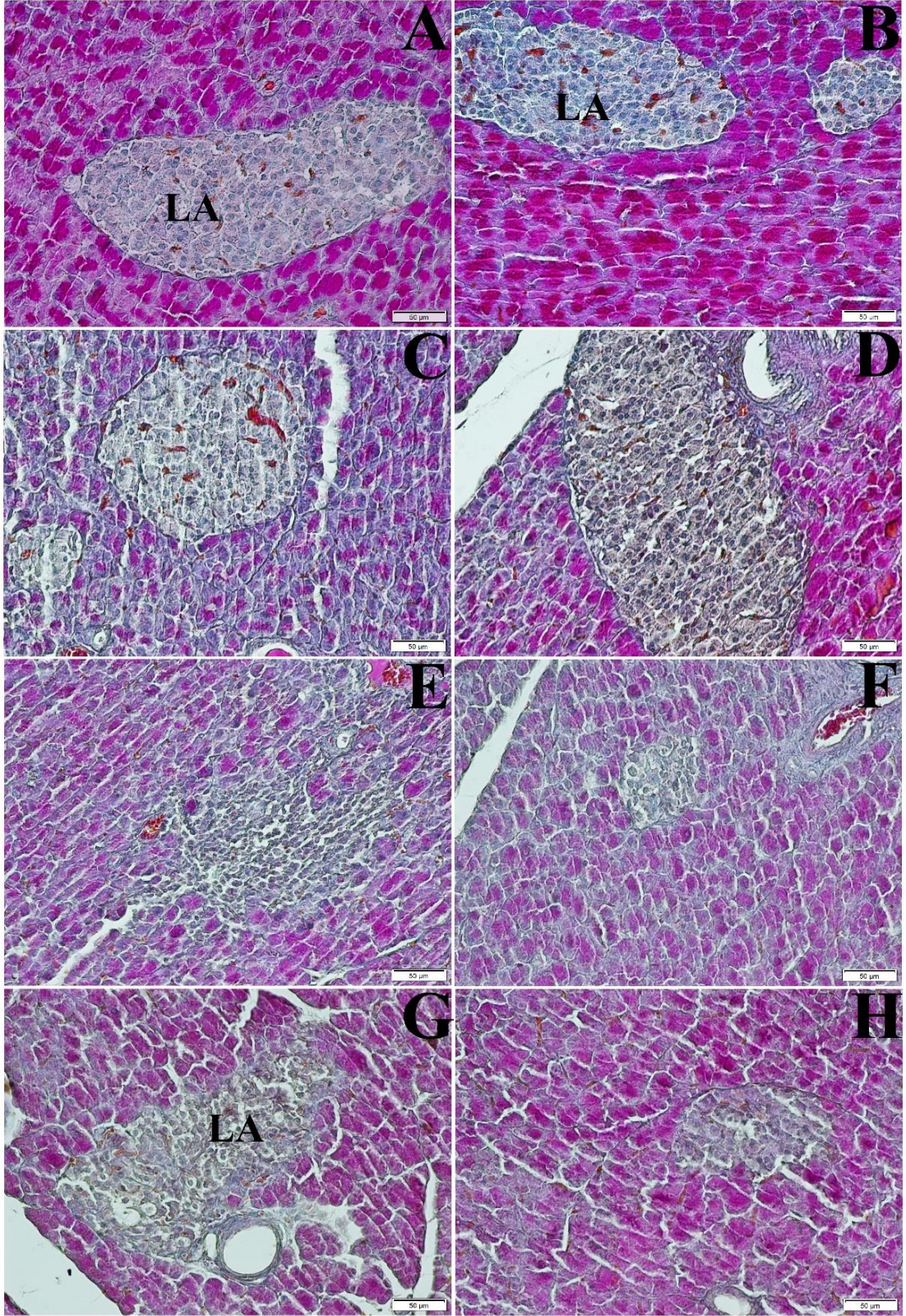
Ratlara ait pankreas dokularının histopatolojik değerlendirmesinde, kontrol grubunda pankreas dokusunun normal histolojik yapıya sahip olduğu gözlemlendi. Langerhans adacıkları belirgin, düzenli konturlu ve hücre yoğunluğu normal seviyededir. Ekzokrin asinuslar da normal morfolojideydi (Şekil 4.1A).

Sağlıklı pankreas dokusuna uygulanan oleuropein (OLE) belirgin bir histolojik değişikliğe yol açmadı. K-AgNP uygulamasında ise minimal düzeyde asiner dejenerasyonlar gözlemlendi, ancak doku bütünlüğü büyük ölçüde korundu. K-AgNP+OLE kombinasyonunun uygulandığı sağlıklı pankreas dokusunda herhangi bir olumsuz histolojik değişiklik saptanmadı; oleuropeinin antioksidan etkisi ve K-AgNP'nin biyoyumumluluğu sayesinde doku bütünlüğünün korunduğu değerlendirildi.

Diyabet (DM) grubunda, STZ ile indüklenen sıçanlarda Langerhans adacıklarında belirgin dejeneratif değişiklikler, adacık merkezinde nükleer karyolizis, hücrelerde

vakuolizasyon ve adacık boyutlarında azalma tespit edildi. Ayrıca ekzokrin asinus hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon ve adacık sınırlarında bozulmalar gözlemlendi (Şekil 4.1B).

K-AgNP tedavisi uygulanan diyabetik grupta, pankreas dokusunda kısmi histolojik iyileşmeler izlendi; hücresel yapı kısmen korunmuş olmakla birlikte bazı hücrelerde vakuolizasyon ve dejeneratif değişiklikler devam etti. Benzer şekilde, OLE tedavisi uygulanan grupta da kısmi iyileşmeler gözlemlendi; hücre yapısı bir ölçüde normale yaklaşırsa da yer yer vakuolizasyonlar vardı. Buna karşın, K-AgNP+OLE kombinasyonunun uygulandığı diyabetik grupta belirgin hücresel iyileşmeler tespit edildi. Dejenerasyon ve vakuolizasyonun azaldığı, Langerhans adacıklarının düzenli konturlar kazandığı ve hücresel yapının normale yaklaştığı gözlemlendi. Deney gruplarına ait pankreas dokularının histolojik mikrografları Şekil 4.3'te sunulmuştur.

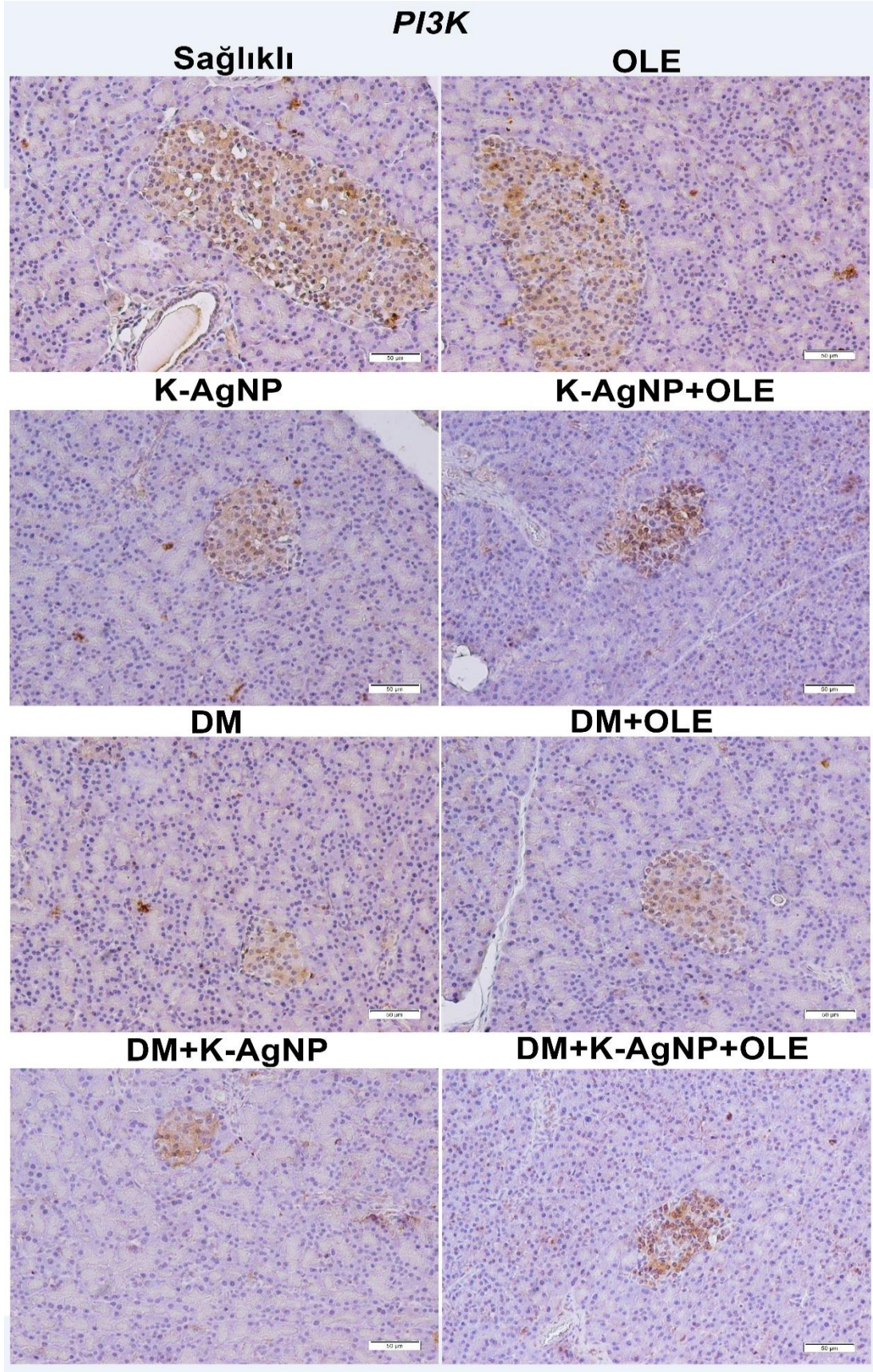


Şekil 4.3. Deney gruplarına ait fotomikrogaflar

A; Sağlıklı Kontrol Grubu, B; Oleuropein Grubu, C; K-AgNP Grubu, D; K-AgNP+Oleuropein Grubu, E; Diyabetik Kontrol Grubu, F; Diyabetik+Oleuropein Grubu, G; Diyabetik+K-AgNP Grubu, H; Diyabetik+K-AgNP+Oleuropein Grubu, LA; Langerhans adacığı, Crosman tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyası, Objektif lens: $\times 20$, Ölçek çubuğu: 50 μm .

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

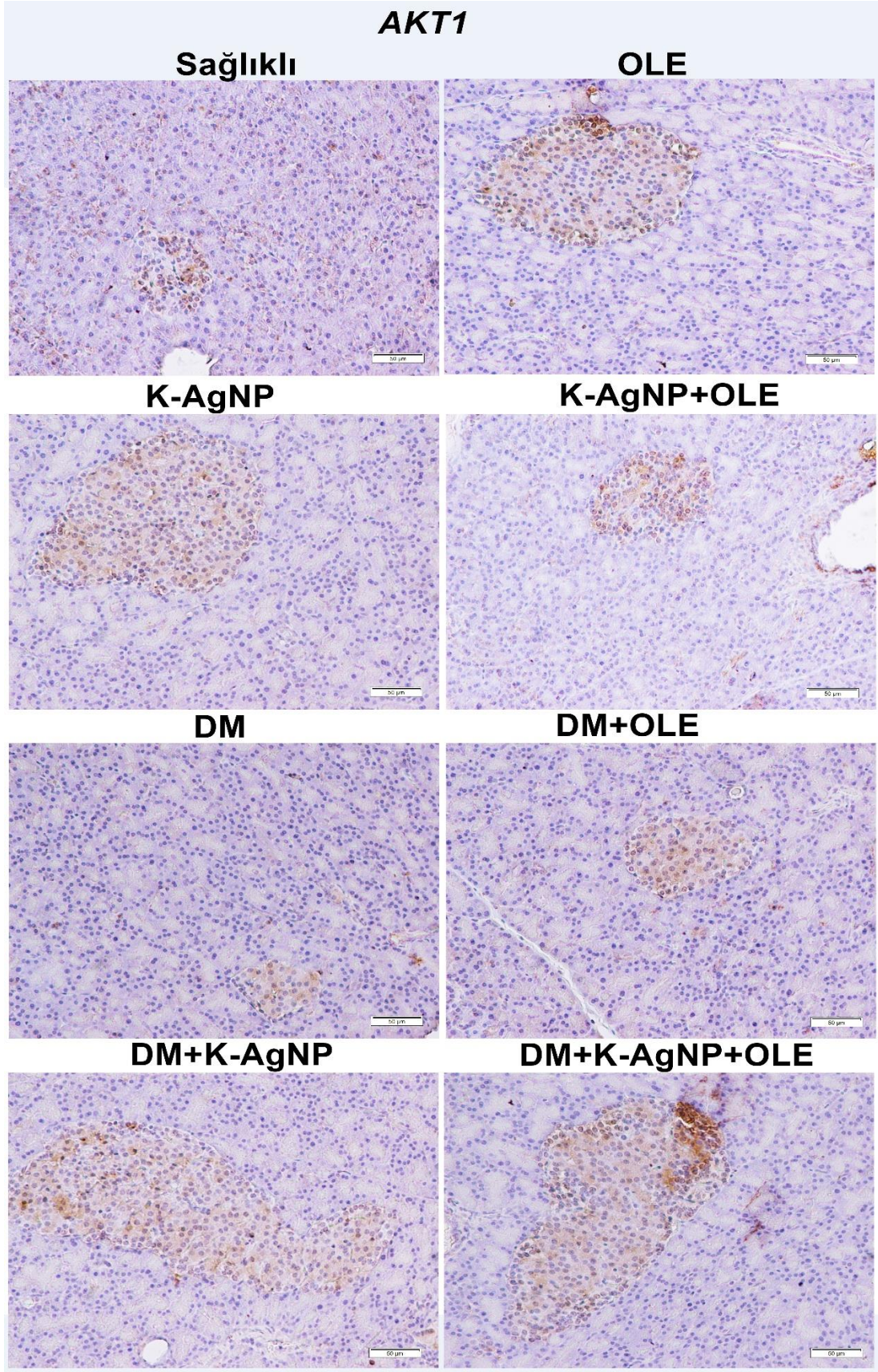
PI3K immün reaktivitesinin değerlendirilmesinde, kontrol grubunda pankreas hücrelerinde yüksek yoğunlukta gözlemlendi. OLE ve K-AgNP ile tedavi edilen normal gruplarda ekspresyonun kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi; K-AgNP+OLE kombinasyon tedavisinde ise immün reaktivitede artış gözlemlendi. DM grubunda PI3K reaktivitesi belirgin şekilde azaldı. DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında PI3K immün reaktivitesinde kısmi artış gözlemlendi. DM+K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda PI3K ekspresyonunun pankreas hücrelerinde yüksek yoğunlukta olduğu gözlemlendi; hem sitoplazma hem membran düzeyinde güçlü sinyal izlendi ve β -hücre rejenerasyonu ile ilişkilendirildi. PI3K'nin pankreas dokusundaki immün reaktivitesi Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Pankreas dokusunda PI3K immün reaktivitesi

20× büyütme.

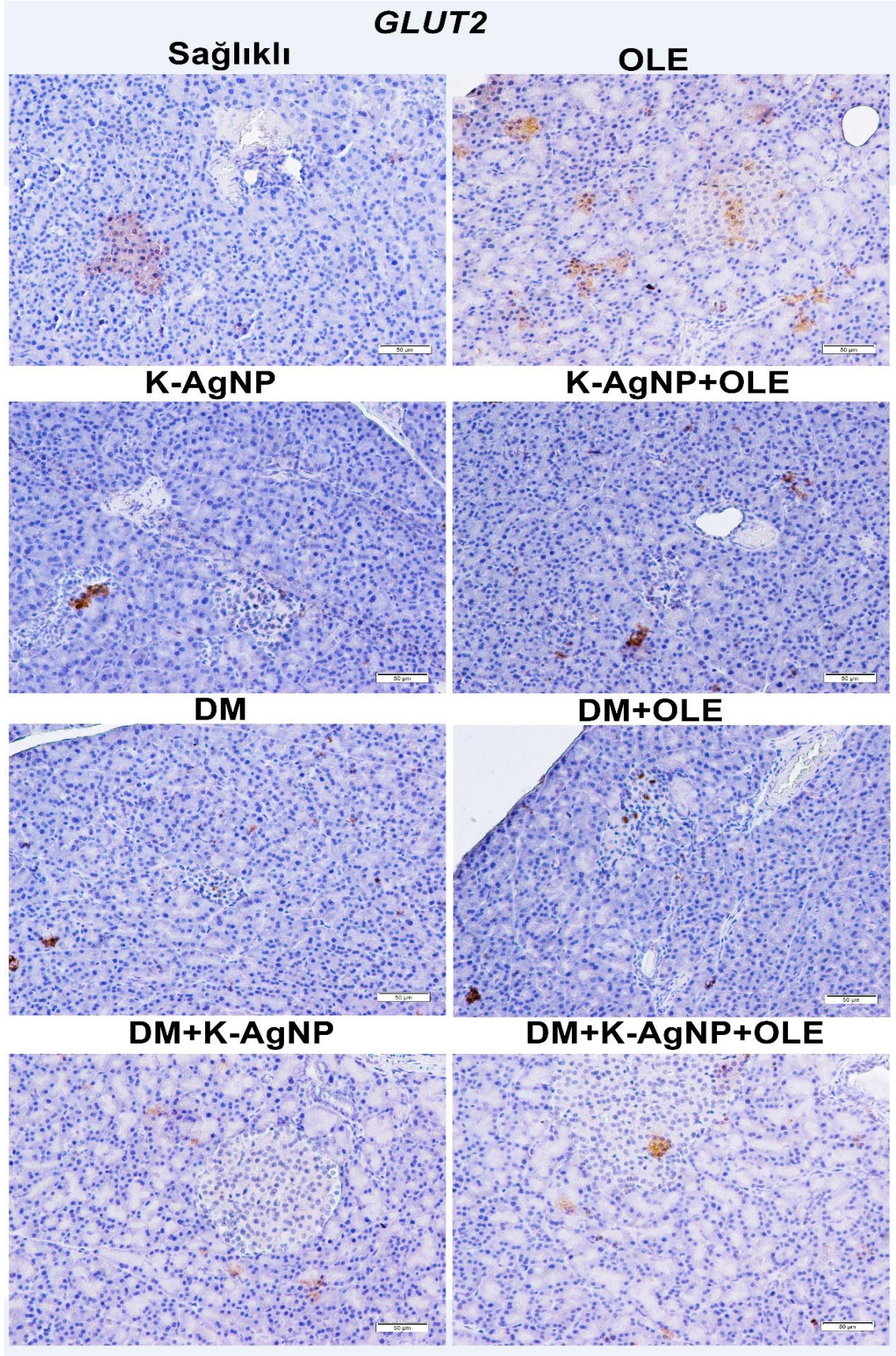
AKT1 immünoreaktivitesi kontrol pankreasında yüksek ve homojen bir dağılım sergiledi. OLE ve K-AgNP gruplarında AKT1 ekspresyonunun kontrol seviyelerinde olduğu tespit edildi. Kombinasyon tedavisi uygulanan K-AgNP+OLE grubunda orta düzeyde artış gözlendi. DM grubunda AKT1 boyamasının belirgin şekilde azaldığı ve hücresel yapıdaki bozulma ile ilişkili olduğu izlendi. DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında AKT1 immün reaktivitesinin kısmen toparlandığı gözlendi. DM+K-AgNP+OLE grubunda AKT1 immün reaktivitesi pankreas hücrelerinin sitoplazmasında ve membranında yüksek yoğunlukta tespit edildi; sinyal yolunun fonksiyonel aktivitesi gözlendi. AKT1'in pankreas dokusundaki immün reaktivitesi şekil 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Pankreas dokusunda AKT1 immün reaktivitesi

20× büyütme.

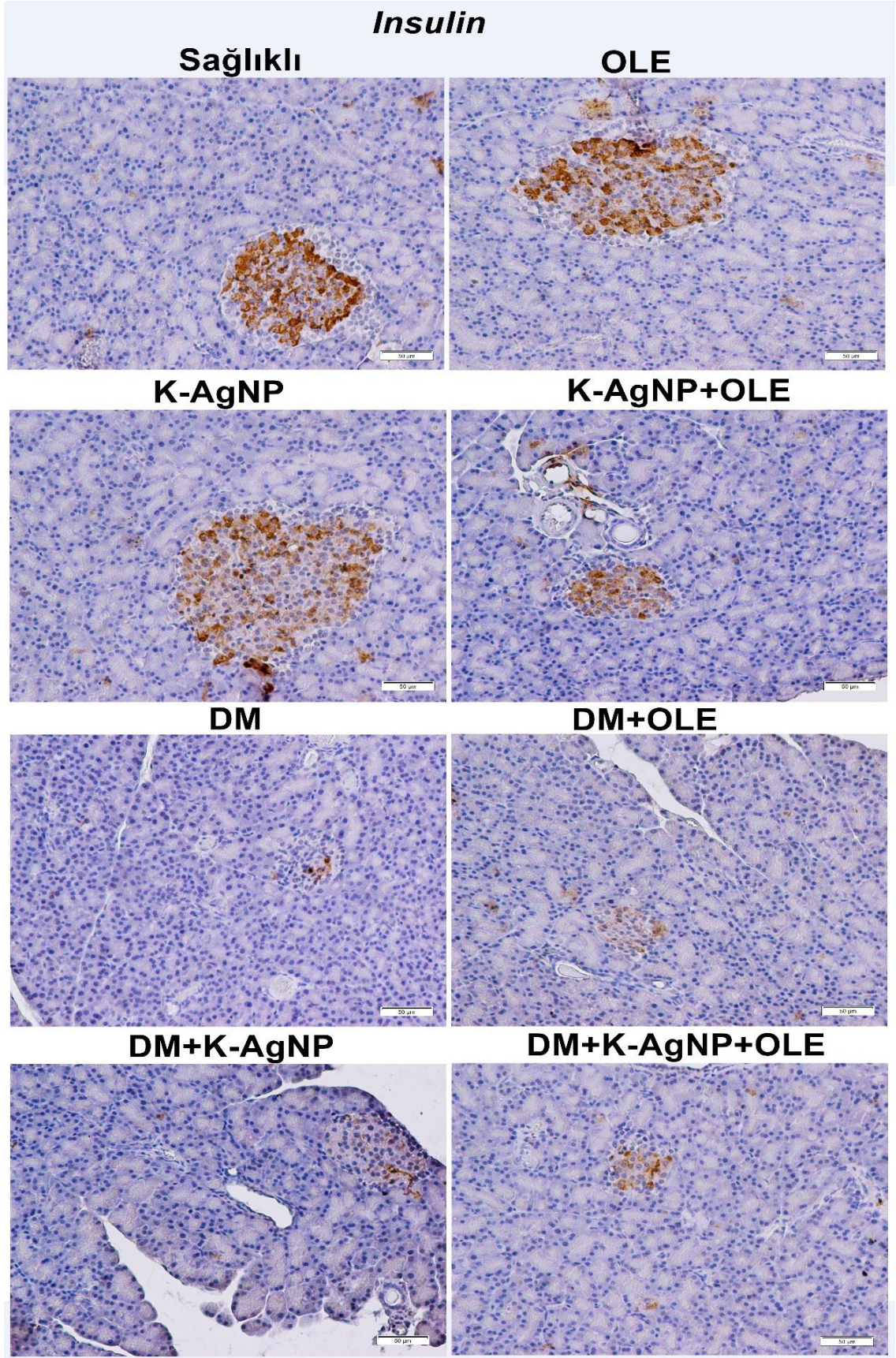
GLUT2 ekspresyonu kontrol grubunda β -hücre membranında homojen ve yoğun olarak izlendi. OLE ve K-AgNP gruplarında GLUT2 ekspresyonunun kontrol seviyelerine benzer olduğu tespit edildi; K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda hafif artış gözlemlendi. DM grubunda GLUT2 boyamasının zayıf ve dağınık bir dağılım sergilediği gözlemlendi. DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında GLUT2 ekspresyonunun kısmen toparlandığı ve membran yoğunluğunun arttığı izlendi. DM+K-AgNP+OLE grubunda GLUT2 boyamasının pankreas hücre membranlarında yoğun ve düzenli dağılım sergilediği gözlemlendi; β -hücre metabolik aktivitesinin kazanımı ile ilişkilendirildi. GLUT2'nin pankreas dokusundaki immün reaktivitesi Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Pankreas dokusunda GLUT2 immün reaktivitesi

20× büyütme.

İnsülin immün reaktivitesi kontrol grubunda pankreas hücrelerinde güçlü ve homojen olarak izlendi. OLE ve K-AgNP ile tedavi edilen normal gruplarda insülin ekspresyonunun kontrol seviyelerine yakın olduğu tespit edildi; K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda artış gözlemlendi. DM grubunda insülin boyamasının ciddi ölçüde azaldığı ve adacık yapısının bozulduğu gözlemlendi. DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında insülin immün reaktivitesinin orta düzeyde olduğu tespit edildi. DM+K-AgNP+OLE grubunda insülin boyamasının yoğun olduğu ve pankreas hücrelerinin yeniden yapı kazandığı izlendi; β -hücre fonksiyonu ile ilişkilendirildi. İnsülinin pankreas dokusundaki immün reaktivitesi Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

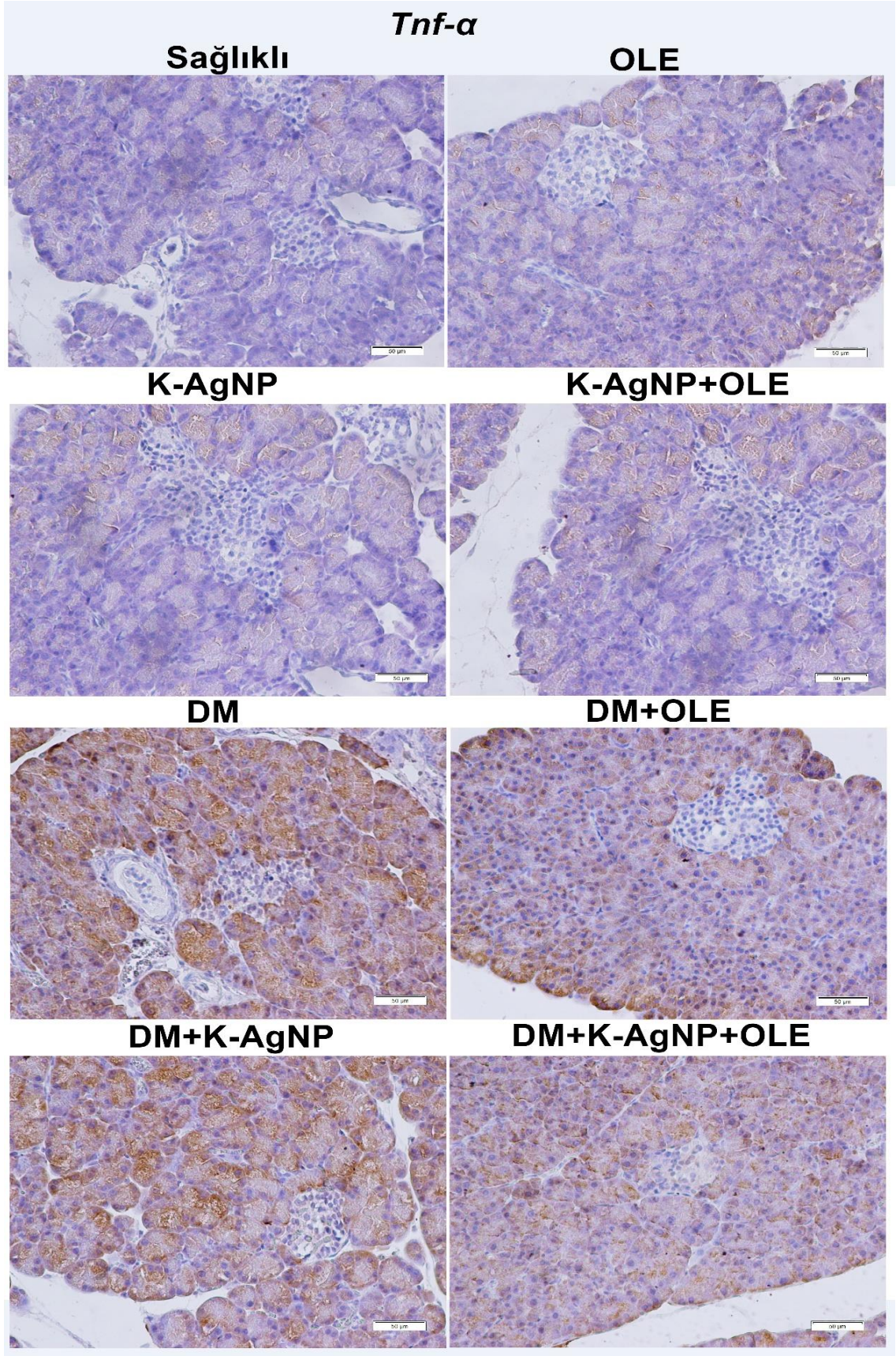


Şekil 4.7. Pankreas dokusunda İnsülin immün reaktivitesi

20× büyütme.

TNF- α 'nın immün reaktivitesi kontrol grubunda minimal seviyede izlendi. OLE ve K-AgNP uygulanan normal gruplarda TNF- α ekspresyonunun düşük olduğu tespit edildi; kombinasyon grubunda benzer sonuç gözlendi. DM grubunda TNF- α boyamasının belirgin şekilde arttığı gözlendi ve inflamasyon varlığı ile ili kilendirildi. DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında TNF- α ekspresyonunun orta seviyede olduğu tespit edildi. DM+K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda TNF- α boyamasının minimal seviyede olduğu gözlendi ve inflamasyon baskısı ile ili kilendirildi. TNF- α 'nın pankreas dokusundaki immün reaktivitesi  ekil 4.8'de gösterilmiştir.





Şekil 4.8. Pankreas dokusunda TNF- α immün reaktivitesi

20× büyütme.

Tablo 4.3. Tüm gruplara ait pankreas dokularında PI3K, AKT1, GLUT2, İnsülin ve TNF- α immünohistokimyasal reaktivite skorları

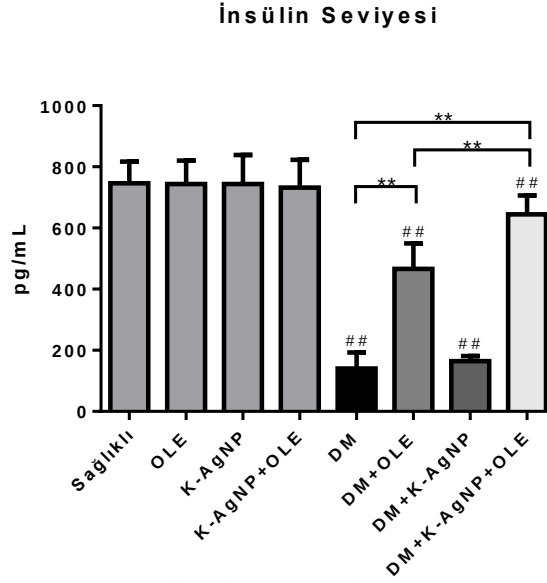
Grup	PI3K	AKT1	GLUT2	İnsülin	TNF- α
	Medyan (Q1–Q3)	Medyan (Q1–Q3)	Medyan (Q1–Q3)	Medyan (Q1–Q3)	Medyan (Q1–Q3)
Sağlıklı (n=6)	2.67 (2.42– 2.92) ^a	2.67 (2.67– 2.67) ^a	2.50 (2.33– 2.67) ^a	2.67 (2.67– 2.67) ^a	0.33 (0.33– 0.33) ^a
OLE (n=6)	2.67 (2.42– 2.67) ^a	2.67 (2.67– 2.67) ^a	2.50 (2.33– 2.67) ^a	2.50 (2.33– 2.67) ^a	0.33 (0.33– 0.33) ^a
K-AgNP (n=6)	2.67 (2.42– 2.67) ^a	2.67 (2.67– 2.67) ^a	2.50 (2.33– 2.67) ^a	2.50 (2.33– 2.92) ^a	0.33 (0.08– 0.58) ^a
K-AgNP+OLE (n=6)	2.67 (2.42– 2.67) ^a	2.67 (2.42– 2.67) ^a	2.50 (2.33– 2.67) ^a	2.67 (2.42– 2.67) ^a	0.33 (0.08– 0.33) ^a
DM (n=6)	0.33 (0.33– 0.33) ^b	0.33 (0.33– 0.33) ^b	0.33 (0.33– 0.33) ^b	0.33 (0.08– 0.58) ^b	2.67 (2.67– 2.92) ^b
DM+OLE (n=6)	2.00 (1.62– 2.00) ^{ab}	1.50 (1.33– 1.67) ^{ab}	1.83 (1.67– 2.00) ^{ab}	1.67 (1.67– 1.92) ^{ab}	1.67 (1.67– 1.92) ^{ab}
DM+K-AgNP (n=6)	0.67 (0.42– 0.92) ^{ab}	0.33 (0.08– 0.58) ^{ab}	0.33 (0.33– 0.33) ^b	0.33 (0.33– 0.33) ^{ab}	2.50 (2.33– 2.67) ^{ab}
DM+K-AgNP+OLE (n=6)	2.33 (2.33– 2.33) ^{ab}	2.33 (2.33– 2.33) ^{ab}	2.33 (2.33– 2.33) ^a	2.33 (2.33– 2.58) ^a	1.00 (1.00– 1.25) ^{ab}
Kruskal-Wallis p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Veriler medyan (Q1–Q3) olarak sunulmuştur. Her grup için n=6 hayvan kullanılmıştır; her hayvandan elde edilen 3 pankreas kesitinin ortalaması istatistiksel analiz birimi olarak kullanılmıştır. İstatistiksel karşılaştırma Kruskal-Wallis testi ile yapılmış, gruplar arası farklar Dunn post hoc testi (Bonferroni düzeltmesi) ile değerlendirilmiştir. Aynı sütunda farklı üst simge harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

4.4. Biyokimyasal Bulgular

4.4.1. Serum İnsülin Seviyesi

Serum insülin seviyeleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir. DM grubunda insülin seviyesi sağlıklı gruba kıyasla belirgin biçimde düşük bulundu ($p < 0.01$). DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında da insülin seviyeleri düşük kaldı ($p < 0.01$). DM+K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda ise insülin seviyesi DM grubuna kıyasla anlamlı ölçüde arttı ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$).

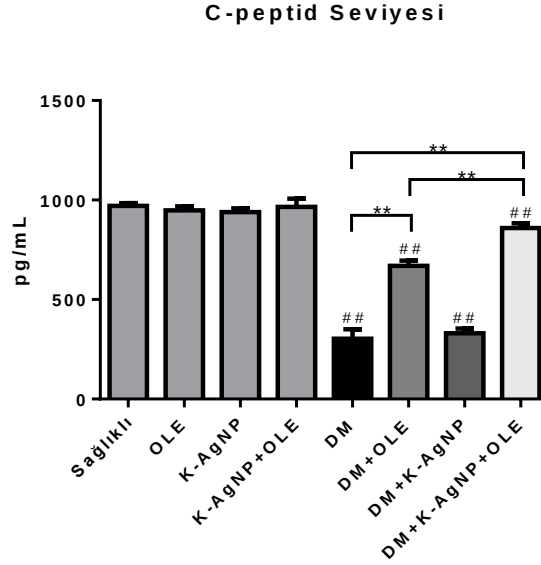


Şekil 4.9. Gruplara ait serum insülin seviyeleri (pg/mL)

Veriler ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur (n=6). Verilerin normal dağılıma uymaması nedeniyle istatistiksel analizler Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilmiş, gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. ## $p < 0.01$ işareti sağlıklı ile diğer gruplar karşılaştırılırken kullanılmıştır. ** $p < 0.01$ işareti iki grup birbiriyle karşılaştırıldığında kullanılmıştır.

4.4.2. Serum C-peptid Seviyesi

C-peptid seviyeleri insülin bulgularıyla paralel bir seyir izledi (Şekil 4.10). DM grubunda C-peptid düzeyi sağlıklı gruba göre anlamlı düzeyde düşük tespit edildi ($p < 0.01$). DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında da C-peptid seviyeleri düşük kaldı ($p < 0.01$). DM+K-AgNP+OLE grubunda ise C-peptid seviyesi DM grubuna kıyasla anlamlı ölçüde yükseldi ($p < 0.01$).

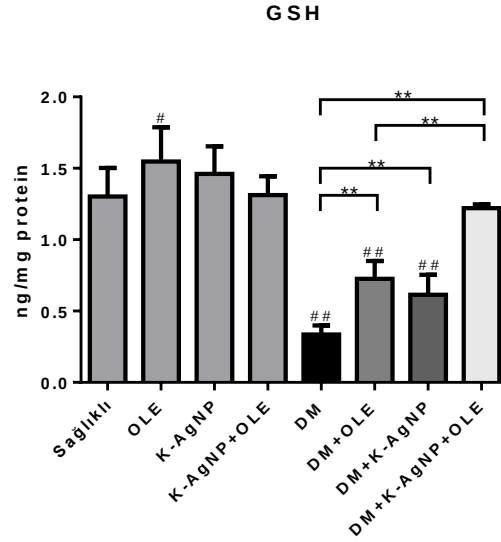


Şekil 4.10. Gruplara ait serum C-peptid seviyeleri (pg/mL)

Veriler ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur (n=6). Verilerin normal dağılıma uymaması nedeniyle istatistiksel analizler Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilmiş, gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. ## $p < 0.01$ işareti sağlıklı ile diğer gruplar karşılaştırılırken kullanılmıştır. ** $p < 0.01$ işareti iki grup birbiriyle karşılaştırıldığında kullanılmıştır.

4.4.3. Doku GSH (Glutatyon) Seviyesi

Pankreas dokusunda ölçülen GSH seviyeleri Şekil 4.11'de sunulmuştur. DM grubunda GSH düzeyi sağlıklı gruba göre belirgin biçimde azaldı ($p < 0.01$). DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında kısmi artışlar saptandı ($p < 0.01$). DM+K-AgNP+OLE grubunda ise GSH seviyesi DM grubuna kıyasla anlamlı biçimde yükseldi ($p < 0.01$) ve sağlıklı kontrol grubuna en yakın değerlere ulaşıldı.

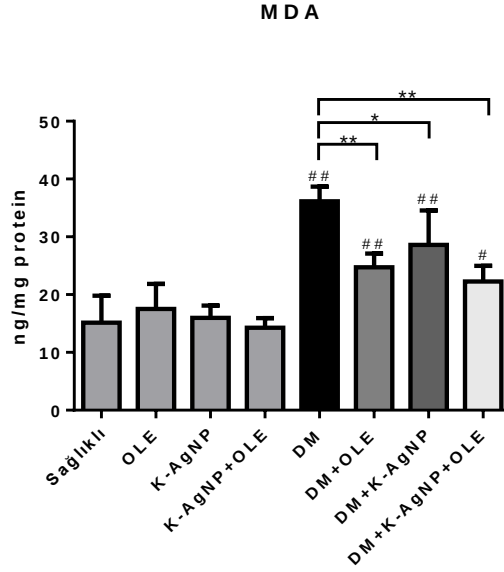


Şekil 4.11. Gruplara ait pankreas dokusu GSH seviyeleri (ng/mg protein)

Veriler ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur (n=6). Verilerin normal dağılıma uymaması nedeniyle istatistiksel analizler Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilmiş, gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. ## p < 0.01, # p < 0.05 işaretleri sağlıklı ile diğer gruplar karşılaştırılırken kullanılmıştır. **p<0.01 işareti iki grup birbiriyle karşılaştırıldığında kullanılmıştır.

4.4.4. Doku MDA (Malondialdehit) Düzeyi

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri Şekil 4.12'de verilmiştir. DM grubunda MDA düzeyi sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı (p<0.01). DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında MDA düzeyi anlamlı ölçüde azaldı (p<0.01). DM+K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda ise MDA düzeyi tüm diyabetik gruplar arasında en düşük değerlere geriledi ve sağlıklı kontrole en yakın sonuçlar elde edildi (p<0.01).



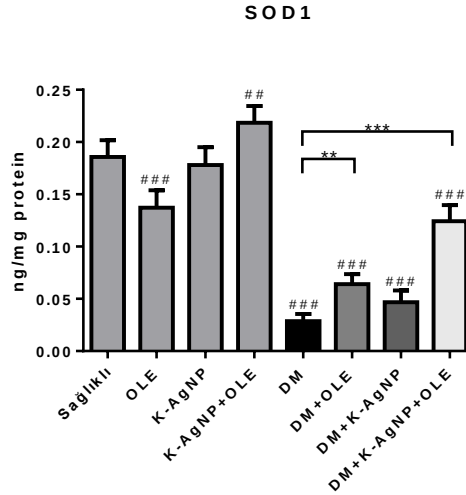
Şekil 4.12. Gruplara ait pankreas dokusu MDA düzeyleri (ng/mg protein)

Veriler ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur (n=6). Verilerin normal dağılıma uymaması nedeniyle istatistiksel analizler Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilmiş, gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. ## $p < 0.01$, # $p < 0.05$ işaretleri sağlıklı ile diğer gruplar karşılaştırılırken kullanılmıştır. ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ işaretleri iki grup birbiriyle karşılaştırıldığında kullanılmıştır.

4.4.5. Doku SOD1 (Süperoksit Dismutaz 1) Protein Düzeyi

Pankreas dokusunda ölçülen SOD1 protein düzeyleri Şekil 4.13'te sunulmuştur.

DM grubunda SOD1 protein düzeyi sağlıklı gruba kıyasla belirgin biçimde düştü ($p < 0.001$). DM+K-AgNP+OLE grubunda SOD1 protein düzeyi DM grubuna göre belirgin şekilde arttı ($p < 0.001$) ve tüm diyabetik gruplar arasında en yüksek değere ulaştığı görüldü.



Şekil 4.13. Gruplara ait pankreas dokusu SOD1 düzeyleri (ng/mg protein)

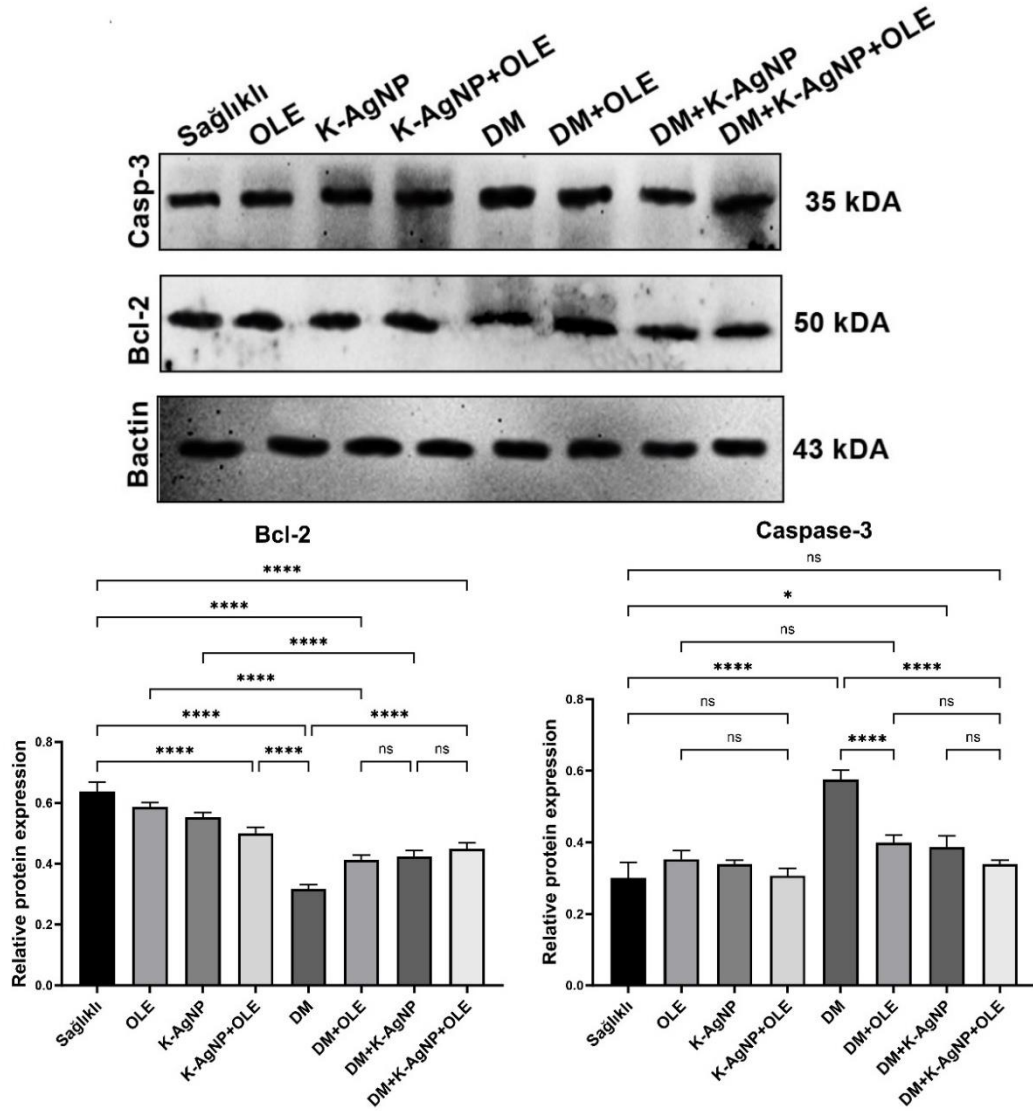
Veriler ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur (n=6). Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testi, post hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. ### $p < 0.001$, ## $p < 0.01$ işaretleri sağlıklı ile diğer gruplar karşılaştırılırken kullanılmıştır. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ işaretleri iki grup birbiriyle karşılaştırıldığında kullanılmıştır.

4.5. Moleküler Bulgular

Western blot sonuçları

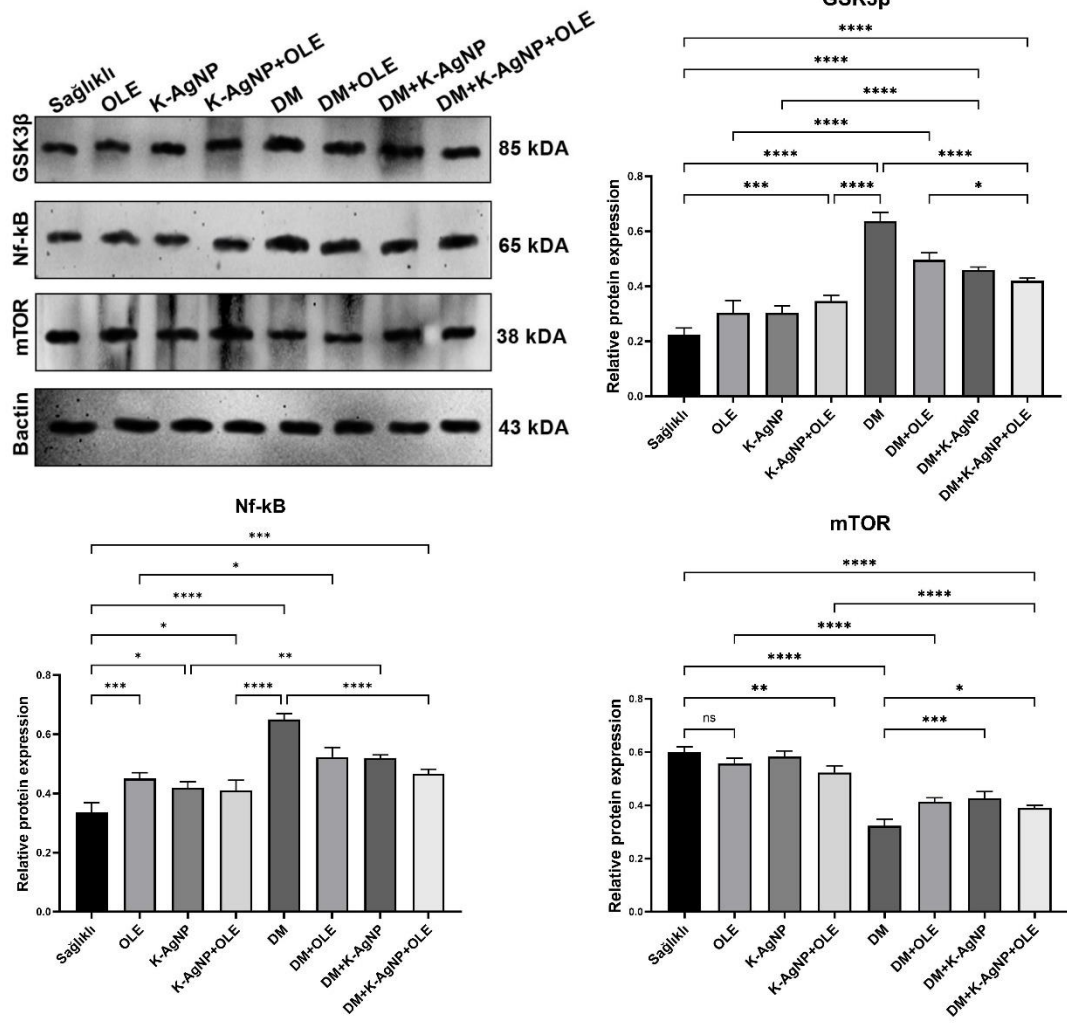
Western blot analizlerinde, Caspase-3 düzeyi diyabet grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttı ($p < 0.001$). Hem K-AgNP hem de K-AgNP+OLE uygulanan DM gruplarında Caspase-3 düzeyinin DM grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldığı görüldü ($p < 0.01$). Bcl-2 ekspresyonu kontrol grubunda en yüksek seviyede iken, DM grubunda belirgin olarak azaldı ($p < 0.001$). Tedavi gruplarında (DM+K-AgNP ve DM+K-AgNP+OLE) Bcl-2 düzeylerinde DM grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$ – 0.01). GSK3 β protein düzeyi DM grubunda kontrole göre anlamlı şekilde arttı ($p < 0.001$). K-AgNP ve OLE uygulamaları bu artışı belirgin biçimde baskıladı ($p < 0.05$ – 0.001). NF- κ B düzeyi DM grubunda anlamlı şekilde yükseldi ($p < 0.001$). Tedavi uygulanan DM gruplarında NF- κ B ekspresyonunda belirgin azalma saptandı ($p < 0.01$). mTOR ekspresyonu DM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düştü ($p < 0.001$). K-AgNP ve özellikle K-AgNP+OLE verilen DM gruplarında mTOR düzeyi anlamlı şekilde

arttı ($p < 0.05$ – 0.001). Tüm gruplara ait Western blot bantları ve ilgili kantitatif analizler Şekil 4.14'te ve Şekil 4.15'te sunulmuştur.



Şekil 4.14. Çalışma gruplarında Caspase-3 ve Bcl-2 protein ekspresyonlarının Western blot analizleri ve bunlara ait kantitatif yoğunluk grafikleri.

β -aktin yükleme kontrolü olarak kullanılmıştır. İstatistiksel analiz, GraphPad Prism v10.1'de tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ ve ns = anlamlı değil değerleriyle ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur.



Şekil 4.15. Çalışma gruplarında GSK3β, NF-κB ve mTOR protein ekspresyonlarının Western blot analizleri ve bunlara ait kantitatif yoğunluk grafikleri.

β-aktin yükleme kontrolü olarak kullanılmıştır. İstatistiksel analiz, GraphPad Prism v10.1'de tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ ve ns = anlamlı değil değerleriyle ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur.

5. TARTIŞMA

Streptozosinile oluşturulan deneysel diyabet modeli, pankreatik β -hücre hasarının moleküler düzeyde incelenmesine olanak sağlayarak yeni tedavi yaklaşımlarının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Diyabette oksidatif stresin artması, inflamatuvar yanıtın belirginleşmesi ve hücresel ölüm mekanizmalarının etkinleşmesi β -hücre kaybının başlıca nedenleri arasında yer almaktadır. Bu nedenle inflamasyonu ve oksidatif hasarı aynı anda hedefleyebilen ajanların kullanımı son yıllarda önem kazanmaktadır. Bu bağlamda, pankreas dokusu üzerinde çok katmanlı koruyucu etki potansiyeli taşıyan K-AgNP yüklü oleuropein kombinasyonu, immünohistokimyasal, biyokimyasal, moleküler ve hücresel parametreler aracılığıyla kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir.

Kitosan tabanlı nanopartiküller, biyouyumlulukları ve taşıyıcı özellikleri sayesinde terapötik moleküllerin stabilitesini artırabilmektedir. Gümüş iyonlarının antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellikleri, kitosanın biyopolimer yapısı ile birleştiğinde hücresel düzeyde ek koruyucu etkiler ortaya koyabilmektedir. Oleuropein ise antioksidan kapasitesi ve hücre içi sinyal yollarını düzenleyici etkileri nedeniyle diyabetik pankreatik hasara karşı potansiyel yarar sağlayabilen doğal bir bileşik olarak değerlendirilmektedir. Bu üç yapının birlikte uygulanması, β -hücrelerde stres yanıtına bağlı inflamatuvar belirteçler, apoptoz göstergeleri ve metabolik sinyal mekanizmaları üzerinde çok yönlü düzeltici etkiler sağlayabilmektedir.

Bu çalışmada STZ enjeksiyonu sonrasında DM grubunda belirgin bir kilo kaybı gözlemlenmiş; deney süresince ortalama vücut ağırlığı 265.33 ± 9.99 g'den 175.17 ± 17.16 g'ye gerilemiştir. Bu bulgular, tip 1 diyabette insülin yetersizliğine bağlı katabolik süreçlerin ve kas dokusunun proteolitik yıkımının beklenen bir yansıması olup literatürle uyum içindedir. Iantomasi ve ark. (2024) Oleuropeinin STZ ile indüklenen diyabet

modellerinde hiperglisemiye anlamlı şekilde azalttığını ve metabolik parametreleri iyileştirdiğini bildirmiştir. DM+OLE (196.17 ± 4.22 gr), DM+K-AgNP (191.67 ± 16.61 gr) ve DM+K-AgNP+OLE (197.00 ± 15.32 gr) gruplarında da kilo kaybı devam etmiştir; ancak bu durum beklenen bir bulgudur, zira tip 1 diyabet modelinde eksojen insülin desteği olmaksızın vücut ağırlığının tam olarak korunması güçtür. Nitekim Asghari ve ark. (2022) OLE'nin diyabetik ratlarda kan glukozunu anlamlı düzeyde düşürdüğünü, ancak vücut ağırlığı üzerindeki etkisinin daha sınırlı kaldığını rapor etmiştir.

Sağlıklı gruplarda (Sağlıklı, OLE, K-AgNP, K-AgNP+OLE) ağırlık değişimleri arasında anlamlı bir fark saptanmadığı görüldü; bu bulgu, uygulanan ajanların fizyolojik koşullarda vücut ağırlığını olumsuz etkilemediğini ve bileşiklerin güvenlik profilini desteklediğini ortaya koydu. Diyabetik gruplarda ise tedavilerin kilo kaybını durduramadığı görülmüş; bu durum, STZ modelinin şiddetli insülin eksikliğini tam olarak kompanse etmenin güçlüğüne ortaya koymaktadır.

Açlık kan glukozu açısından ise bu çalışmada sağlıklı gruplar (58–66 mg/dL) ile DM grubu (471.33 ± 69.96 mg/dL, 15. gün) arasında ileri derecede anlamlı bir farkın gözlemlendiği tespit edildi. DM+K-AgNP+OLE grubunda glukoz düzeyi 15. günde 224.33 ± 14.85 mg/dL'ye gerilemiş ve bu azalma diğer diyabetik gruplardan belirgin biçimde farklılaşmıştır. Bu bulgu, K-AgNP ve OLE kombinasyonunun sinerjistik hipoglisemik bir etki gösterdiğine işaret etmektedir. DM+K-AgNP+OLE grubunda açlık kan glukozunun diğer diyabetik gruplara kıyasla daha belirgin düzeyde gerilemesi, nanopartikül taşıyıcı sisteminin biyoaktif bileşiğin etkinliğini artırabileceğini düşündürmektedir. Wu ve ark. (2023), STZ ile indüklenmiş diyabetik ratlarda kitosan nanopartiküllere enkapsüle edilmiş kimyon özütünün serbest özüte kıyasla pankreas beta hücrelerindeki hasarı daha etkin biçimde azalttığını, kan glukozunu anlamlı düzeyde düşürdüğünü ve serum insülin düzeyini artırdığını; bu etkinin kitosan matriksinin yavaş

ve kontrollü salınım sağlamasından kaynaklandığını bildirmiştir (Wu ve ark., 2023). Benzer şekilde Tzeng ve ark. (2022), kitosan ve türevlerinin antidiyabetik özelliklerini kapsamlı biçimde değerlendirmiş; kitosanın bağırsak glukoz emilimini azaltarak ve insülin duyarlılığını artırarak kan şekerini düşürdüğünü ortaya koymuştur (Tzeng ve ark., 2022).

Bununla birlikte, DM+K-AgNP grubunda belirgin bir glukoz düşüşünün gözlenmemesi, K-AgNP'nin yalnızca taşıyıcı rolü üstlendiğini ve tek başına güçlü bir hipoglisemik etki üretmediğini düşündürmektedir. DM+OLE grubunda ise orta düzeyde bir glukoz düşüşü gözlemlenmiş; bu bulgu, oleuropeinin antihiperglisemik etkisinin tek başına da kısmen devrede olduğuna, ancak nanopartikül kaplama ile bu etkinin önemli ölçüde güçlendiğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada streptozosinile indüklenen diyabet grubunda gözlenen belirgin pankreatik hasar, önceki araştırmalarla uyumlu olarak β -hücre kaybının histolojik düzeyde doğrulandığını göstermektedir. Diyabet grubunda belirginleşen Langerhans adacıklarında küçülme, hücresel bütünlük kaybı, sitoplazmik vakuolizasyon ve nükleer piknoz gibi bulgular, diyabetik süreçte artan oksidatif stres ve inflamasyona bağlı hücre ölümünün karakteristik göstergeleri olarak kabul edilmektedir (Nurdiana ve ark., 2017).

Sağlıklı gruplarda pankreas histolojisinin normal sınırlar içinde kalmış olması hem OLE hem de K-AgNP'nin tek başına ve birlikte uygulanmasının sağlıklı doku üzerinde olumsuz bir histolojik etki yaratmadığını ortaya koymaktadır. Bu bulgu söz konusu bileşiklerin güvenlik profilini histolojik düzeyde desteklemektedir. DM+K-AgNP+OLE grubunda Langerhans adacıklarının düzenli konturlar kazanması ve hücresel yapının normale yaklaşması, kombinasyon tedavisinin pankreas dokusundaki yapısal hasarı kısmen geri döndürebildiğini düşündürmektedir; ancak tam rejenerasyonun gerçekleştiğini iddia etmek için daha ileri morfolometrik analizlere ihtiyaç vardır.

İmmünohistokimyasal bulgular, diyabete bağlı moleküler değişimlerin doku düzeyinde ve yarı kantitatif olarak değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Tüm parametrelerde DM grubunun sağlıklı kontrolden belirgin biçimde ayrışması ve kombinasyon grubunun (DM+K-AgNP+OLE) DM grubuna kıyasla en belirgin düzelmeyi göstermesi, bulgular arasındaki tutarlılığı desteklemektedir.

Literatürde, STZ-indüklenmiş diyabet modellerinde PI3K/PI3K–Akt yolak aktivasyonunun pankreas hücreleri düzeyinde immünohistokimyasal olarak incelendiği ve nanopartikül ile antioksidan kombinasyon tedavisi ile bu yolların yeniden aktive edildiğini ortaya koyan çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Bu çalışma, bu bağlamda mevcut literatürdeki boşluğa katkı sunmakta olup K-AgNP+OLE kombinasyonunun hem doku düzeyinde hem de sinyal yolları düzeyinde olası koruyucu ve düzenleyici etkilerini destekleyen bulgular ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada diyabet grubunda PI3K/Akt yolu bileşenlerinden PI3K ve AKT1'in yanı sıra GLUT2 ve insülin ekspresyonunda belirgin azalma; aynı zamanda TNF- α gibi pro-inflamatuvar sitokin seviyesinde artış saptanması, diyabet patofizyolojisinde ortaya çıkan β -hücre disfonksiyonu, hücre kaybı ve inflamasyonla ilişkili literatür bulgularıyla büyük ölçüde paralellik göstermektedir. Özellikle PI3K/AKT yolunun β -hücre sağkalımı, proliferasyonu ve metabolik fonksiyonlarının sürdürülmesinde kritik olduğu; bu yolaktaki baskılanmanın hem Tip 1 hem Tip 2 diyabette β -hücre kitlesi ve fonksiyon kaybına yol açabileceği daha önce tanımlanmıştır (Camaya ve ark., 2022; Srinivasan ve ark., 2002). Bizim verilerimizde DM grubunda gözlenen düşük PI3K/AKT1/GLUT2-İnsülin düzeyleri, bu patolojik mekanizmaları destekler niteliktedir.

Çalışmada sağlıklı kontrol pankreasında yüksek ve homojen AKT1 immün reaktivitesinin saptanması, AKT1'in sağlıklı β -hücrelerde bazal proliferasyon, sağkalım ve metabolik fonksiyonların korunmasında kritik bir rol üstlendiğini gösteren literatür ile

uyumludur; nitekim aktif AKT1 ekspresyonunun β -hücre hipertrofisi, hiperplazisi ve artmış insülin üretimi oluşturduğu daha önce bildirilmiştir (Bernal-Mizrachi ve ark., 2001). Diyabetik grupta belirgin AKT1 azalması ve adacık mimarisindeki bozulma ise, Akt aktivitesinin düşmesinin β -hücrelerde ER stresi, apoptoz ve insülin sekresyonunda defekt oluşturduğu, ayrıca metabolik strese karşı duyarlılığı artırdığı yönündeki verilerle büyük ölçüde paralellik göstermektedir (Bernal-Mizrachi ve ark., 2004; Z. Peng ve ark., 2020). OLE uygulanan gruplarda AKT1 ekspresyonunun kontrol düzeylerine yaklaşması, oleuropeinin PI3K/Akt yolunu aktive ederek insülin duyarlılığını artırdığını ve hiperglisemiye karşı koruyucu etki sağladığını raporlayan deneysel çalışmalarla tutarlıdır (Hadrach ve ark., 2023). Benzer şekilde, K-AgNP uygulamasında gözlenen kısmi toparlanma da biyogenik gümüş nanopartiküllerin antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle birlikte insülin sinyallemesini modüle edebildiğini bildiren çalışmalar tarafından desteklenmektedir (Wahab ve ark., 2022). K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda AKT1 immün reaktivitesinin hem sitoplazmada hem de membran düzeyinde belirgin biçimde yoğunlaşması, Akt'nin fonksiyonel aktivasyonu için membran düzeyinde translokasyonunun zorunlu olduğunu ortaya koyan deneysel çalışmalar ile uyumludur. (Leibiger ve ark., 2008). Bu nedenle kombinasyon tedavisinin AKT1/PI3K aksını yeniden güçlendirerek β -hücre sağkalımı, fonksiyonel bütünlüğü ve insülin üretimini desteklediği öne sürülebilir.

Sağlıklı kontrol grubunda GLUT2'nin β -hücre membranında yoğun ve homojen dağılması sağlıklı adacıkların fizyolojik glukoz algılama kapasitesini yansıtırken, DM grubunda GLUT2 boyamasının belirgin şekilde azalması ve düzensizleşmesi diyabetik ortamda bildirilen GLUT2 kaybı ve buna bağlı glukoz duyarlılığı bozulmasıyla büyük ölçüde paralellik göstermektedir. Nitekim diyabetik farelerde GLUT2 ekspresyonunun azalması, β -hücrelerin glikoza yanıt veren insülin sekresyonunu ciddi şekilde zayıflatan

temel bir mekanizma olarak tanımlanmıştır (Thorens ve ark., 1992). Ayrıca diyabetik stresin ortadan kaldırılmasıyla GLUT2'nin yeniden kazanılabildiğinin gösterilmesi, bu kaybın geri dönüşümlü bir adaptif yanıt olabileceğini düşündürmektedir. OLE ve K-AgNP uygulanan gruplarda GLUT2 membran yoğunluğunun kısmen toparlanması ve özellikle kombinasyon tedavisinde belirgin artışın gözlenmesi, tedavilerin β -hücre metabolik aktivitesini, glukoz alım kapasitesini ve glikoza duyarlı insülin salınımını yeniden güçlendirebildiğini düşündürmektedir. GLUT2 ekspresyonundaki artışın β -hücre fonksiyonel bütünlüğünün yeniden kazanılmasıyla ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarla da desteklenmektedir (Berger & Zdzienko, 2020).

Bu çalışmada sağlıklı kontrol grubunda güçlü ve homojen insülin immün reaktivitesinin izlenmesi sağlıklı β -hücre fonksiyonunu doğrularken, DM grubunda insülin boyamasının belirgin azalması ve adacık mimarisinin bozulması diyabetin β -hücre kitlesi ve sekresyon kapasitesini zayıflattığını göstermektedir. Literatürde diyabetik modellerde benzer şekilde insülin üretiminin azaldığı ve adacık bütünlüğünün bozulduğu bildirilmiştir. Oleuropein içeren OLE'nin PI3K/Akt yolunu aktive ederek β -hücre fonksiyonunu koruduğu ve insülin yanıtını artırdığı Hadrach ve ark. Tarafından gösterilmiştir (Hadrach ve ark., 2023). Benzer şekilde, biyojenik gümüş nanoparçacıkların oksidatif ve inflamatuvar stresi azaltarak β -hücre sağkalımını ve insülin sekresyonunu iyileştirebildiği rapor edilmiştir (Ul Haq ve ark., 2022). Bu bilgiler, çalışmamızda DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında gözlenen kısmi toparlanmayı ve özellikle DM+K-AgNP+OLE grubunda insülin boyamasındaki belirgin artışı desteklemektedir. Bulgularımız OLE ve K-AgNP kombinasyonunun diyabetik pankreasta β -hücre fonksiyonunu koruma açısından sinerjik bir potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Sağlıklı kontrol grubunda TNF- α immün reaktivitesinin minimal seviyede olması sağlıklı pankreasta düşük inflamatuvar aktiviteyi gösterirken, DM grubunda belirgin artış

diyabetik ortamda β -hücre stresinin ve inflamasyonun arttığını doğrulamaktadır. Bu durum, diyabetik modellerde TNF- α 'nın β -hücre disfonksiyonu ve adacık hasarıyla ilişkili olduğunu gösteren literatürle uyumludur (Donath ve ark., 2013). OLE ve K-AgNP uygulamalarında TNF- α ekspresyonunun kısmen azalması ve kombinasyon grubunda minimal seviyeye inmesi, her iki tedavinin antiinflamatuvar etkilerini desteklemekte ve β -hücre sağkalımını iyileştirebileceğini göstermektedir (Shaibani ve ark., 2024).

İmmünohistokimyasal bulguların bütünü değerlendirildiğinde, PI3K/AKT1/GLUT2/İnsülin ekseninde gözlenen iyileşmeler ile TNF- α 'daki baskılanmanın birbirleriyle deneysel açıdan tutarlı olduğu görülmektedir. PI3K/AKT aktivasyonu $\rightarrow$ NF- κ B/TNF- α baskılanması $\rightarrow$ beta hücre apoptozunun azalması $\rightarrow$ insülin sekresyonunun iyileşmesi şeklindeki yolak zinciri, bulgularımızın ortak bir mekanizma üzerinde birleştiğine işaret etmektedir.

Hadrich ve ark. (2023) yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda oleuropeinin PI3K/AKT sinyal yolunu aktive ederek insülin duyarlılığını artırdığını ve serum insülin düzeylerini iyileştirdiğini göstermiştir. Aynı çalışmada, oleuropein uygulamasıyla IRS1 ve p-AKT ekspresyonlarının belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir. Benzer bulgular, oleuropeinin insülin sekresyonunu artırarak ve glukoz metabolizmasını düzelterek STZ-diyabetik ratlarda antihiperglisemik etki gösterdiğini ortaya koyan farklı çalışmalarla da desteklenmektedir (Jemai ve ark., 2009). Mevcut çalışmada tek başına OLE ve K-AgNP uygulamalarının insülin ve C-peptid üzerindeki etkilerinin sınırlı kalması, bu bileşiklerin kombine uygulanması durumunda sinerjistik farmakokinetiğin devreye girdiğine ve pankreatik beta hücreleri üzerindeki koruyucu etkinin güçlendiğine işaret etmektedir. Nitekim Abd-Allah ve ark. (2024) kitosan nanopartiküllerin oleuropeini yüksek biyoyararlanımla hedefe ulaştırarak antioksidan ve antienflamatuvar etkinliğini artırdığını göstermiştir (Abd-Allah ve ark., 2024).

C-peptid, proinsülininden insülinle eşmolar miktarda salındığından, pankreatik beta hücre sekresyon fonksiyonunun güvenilir ve doğrudan bir göstergesidir. Bu çalışmada DM+K-AgNP+OLE grubunda hem insülin hem de C-peptid düzeylerinin birlikte anlamlı şekilde artmış olması, gözlenen iyileşmenin periferik insülin direncinden değil, gerçek anlamda beta hücre sekresyon kapasitesinin toparlanmasından kaynaklandığını güçlü biçimde desteklemektedir. Bu bulgu, immünohistokimyasal bulgulara gözlenen insülin immün reaktivitesindeki artışı ve GLUT2 ekspresyonunun toparlanmasını biyokimyasal düzeyde doğrulamaktadır.

STZ ile oluşturulan diyabet modelinde reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi, doku antioksidan savunma kapasitesini aşarak oksidatif hasara yol açmaktadır. Bu çalışmada DM grubunda pankreas dokusunda GSH düzeyinin sağlıklı gruba göre belirgin biçimde azaldığı, MDA düzeyinin anlamlı şekilde arttığı ve SOD1 protein düzeyinin ileri derecede düştüğü tespit edildi. Bu bulgular, STZ'nin pankreatik beta hücrelerinde doğrudan oksidatif stres tetiklediğini ve hücresel antioksidan savunmanın ciddi ölçüde zayıfladığını doğrulamaktadır.

GSH, MDA ve SOD1 bulgularının birlikte değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Bu üç parametrenin birbirine zıt yönlerde eşzamanlı değişim göstermesi, DM grubunda GSH ve SOD1 azalırken MDA artması; DM+K-AgNP+OLE grubunda ise bu tablonun tam tersine dönmesi, oksidatif stres eksenindeki değişimin bir tesadüf değil, tedaviye bağlı sistematik bir düzelmenin yansıması olduğunu göstermektedir. GSH, birincil hücresel antioksidan tampon olarak ROS'u doğrudan nötralize ederken, SOD1, süperoksit radikallerini hidrojen peroksite dönüştürerek toksisiteyi azaltır. MDA ise bu süreçlerin yetersiz kaldığında hücre zarında gerçekleşen lipid peroksidasyonunun geride bıraktığı bir son ürün olduğundan, GSH/SOD1 ile ters ilişkisi biyokimyasal açıdan tutarlıdır.

Abdel-Kader ve ark., oleuropeinin rat pankreas dokusu üzerindeki etkisini

araştırmış ve oleuropein uygulamasının MDA düzeyini azaltırken GSH aktivitesini artırdığını; bu etkinin HMGB1/NF- κ B yolağının baskılanması aracılığıyla gerçekleştiğini göstermiştir (Abdel-Kader ve ark., 2024). Mevcut çalışmada elde edilen bulgular bu verilerle örtüşmekte, oleuropeinin pankreas dokusu üzerinde doğrudan oksidatif stres önleyici bir işlev üstlendiğini desteklemektedir. DM+OLE ve DM+K-AgNP gruplarında GSH düzeyinde kısmi artışlar ve MDA düzeyinde azalmalar gözlemlenmiş, en belirgin iyileşme ise DM+K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda saptanmıştır. Bu grupta GSH seviyesi sağlıklı kontrol grubuna en yakın değerlere ulaşırken MDA düzeyi tüm diyabetik gruplar arasında en düşük seviyeye gerilemiştir.

Wardani ve ark., STZ-diyabetik ratlarda kitosan nanopartikül uygulamasının MDA düzeyini ve Caspase-3 ekspresyonunu anlamlı biçimde azalttığını; buna karşın SOD, GPx ve Bcl-2 düzeylerini artırdığını göstermiştir (Wardani ve ark., 2022). Bu çalışmanın SOD1 bulguları söz konusu verilerle doğrudan örtüşmektedir; DM+K-AgNP+OLE grubunda SOD1 protein düzeyi DM grubuna kıyasla belirgin artış göstermiş ve tüm tedavi grupları arasında en yüksek değere ulaşmıştır. K-AgNP'nin gümüş iyonlarının serbest radikal temizleme kapasitesi ile kitosanın antioksidan özellikleri bir araya geldiğinde, oleuropeinin intrinsik antioksidan etkinliğini sinerjistik biçimde potansiyelize ettiği düşünülmektedir. Shehabeldine ve ark. Kitosan-gümüş nanopartiküllerinin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderme aktivitesi üzerinden güçlü antioksidan özellik sergilediğini ortaya koymuştur (Shehabeldine ve ark., 2022).

Sağlıklı gruplarda oksidatif stres parametrelerinin kontrol grubuyla karşılaştırılabilir düzeylerde seyretmesi, uygulanan ajanların fizyolojik koşullarda prooksidan bir etki yaratmadığını göstermektedir. Bu bulgu, OLE ve K-AgNP'nin sağlıklı doku üzerinde toksik oksidatif strese yol açmadığını ve klinik güvenlik açısından olumlu

bir profil sergilediğini desteklemektedir.

Western blot analizleri, immünohistokimyasal ve biyokimyasal bulgularla birlikte değerlendirildiğinde, diyabete bağlı moleküler hasarın birden fazla düzlemde eşzamanlı var olduğunu ortaya koymaktadır. Apoptoz (Caspase-3/Bcl-2), inflamasyon (NF- κ B), insülin sinyal iletimi (GSK3 β) ve hücre büyümesi/sağkalımı (mTOR) eksenlerinin her birinde DM grubundaki patolojik değişimin tedavi gruplarında kısmen düzeldiği; kombinasyon grubunda ise en belirgin iyileşmenin gözlemlendiği görülmektedir. Bu tutarlı örüntü, K-AgNP+OLE kombinasyonunun β -hücre korumasında çok katmanlı ve deneysel açıdan gerekçeli bir etki gösterdiğini düşündürmektedir.

Zheng ve ark. (2024), ileri evre diyabetik db/db farelerde oleuropeinin Caspase-3 ekspresyonunu baskıladığını ve Bcl-2 düzeyini artırarak kardiyak ve renal apoptozu inhibe ettiğini bildirmiştir (S. Zheng ve ark., 2024). Bu çalışmada da DM grubunda Caspase-3 artmış, Bcl-2 ise belirgin biçimde azalmışken K-AgNP+OLE kombinasyon grubunda bu tablo tersine dönmüş, Caspase-3 baskılanmış ve Bcl-2 belirgin şekilde artmıştır. Söz konusu bulgu, kombinasyon tedavisinin beta hücrelerinde apoptotik süreci kısmen baskılayabileceğine işaret etmektedir.

Abdel-Kader ve ark. (2024) Oleuropeinin rat pankreas dokusunda HMGB1/NF- κ B yolağını inhibe ettiğini ve TNF- α ile IL-1 β düzeylerini anlamlı şekilde düşürdüğünü göstermiştir. Bu çalışmada DM grubunda yükselen NF- κ B ekspresyonunun tedavi gruplarında azalması ve kombinasyon grubunda en belirgin düşüşün gözlemlenmesi bu bulgularla örtüşmektedir; ancak mekanizmanın pankreas beta hücrelerine özgü bağlamda doğrulanması için ileri çalışmalar gerekmektedir.

Hadrich ve ark. (2023) yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda oleuropeinin p-AKT ekspresyonunu artırdığını ve Akt'nin downstream hedefi olan GSK3 β 'yı inhibe ederek insülin duyarlılığını iyileştirdiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada DM grubunda

yükselen GSK3 β düzeyinin K-AgNP ve OLE uygulamalarıyla baskılanması, PI3K/AKT yolunun yeniden aktive olmasıyla tutarlı bir tablo oluşturmaktadır.

García-Aguilar ve Guillén (2022) diyabetik koşullarda mTOR sinyal yolunun baskılanmasının beta hücre kitlesi kaybını ve insülin sekresyon yetersizliğini hızlandığını göstermiştir (García-Aguilar ve Guillén, 2022). Bu çalışmada DM grubunda düşen mTOR ekspresyonunun K-AgNP+OLE grubunda anlamlı şekilde artması, söz konusu bulguyla uyumludur ve kombinasyon uygulamasının beta hücre yaşamını destekleyici etkisine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Caspase-3/Bcl-2 dengesi, GSK3 β aktivitesi, NF- κ B ekspresyonu ve mTOR düzeyinin aynı yönde birlikte değişmesi deneysel açıdan anlamlı bir bütünlük sunmaktadır. PI3K/AKT aktivasyonu GSK3 β 'yi inhibe ederken mTOR'u aktive eder; NF- κ B baskılanması Caspase-3'ü düşürürken Bcl-2'yi yükseltir. Bu birbiriyle bağlantılı yolak değişimleri, bulgularımızın dağınık değil, koordineli bir mekanizmanın parçası olduğunu ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç

Bu çalışmada, streptozosinile indüklenmiş tip 1 diyabet modelinde K-AgNP yüklü oleuropeinin pankreas dokusu üzerindeki etkileri histopatolojik, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve moleküler düzeyde değerlendirilmiştir.

DM+K-AgNP+OLE grubunda açlık kan glukozunun diğer diyabetik gruplara kıyasla daha belirgin düzeyde gerilemesi, nanopartikül kaplaması ile oleuropeinin biyoyararlanımının artabileceğini düşündürmektedir. Histopatolojik değerlendirmede kombinasyon grubunda Langerhans adacıklarının yapısal bütünlüğünün kısmen korunduğu gözlemlenmiştir. PI3K/AKT1/GLUT2/İnsülin ekspresyonlarındaki artış ve TNF- α 'nın azalması, insülin sinyal yolağı ve inflamasyon üzerinde düzenleyici etkilere işaret etmektedir. GSH ve SOD1 artışının MDA azalmasıyla eşzamanlı gözlemlenmesi, oksidatif stres parametrelerinde sistematik bir iyileşme olduğunu göstermektedir. Caspase-3, Bcl-2, GSK3 β , NF- κ B ve mTOR değişimleri PI3K/AKT aktivasyonu ile tutarlı bir tablo oluşturmuş; serum insülin ve C-peptid düzeylerindeki artış bu değişimlerin işlevsel bir yansıması olarak değerlendirilebilir.

Elde edilen bulgular, K-AgNP yüklü oleuropein kombinasyonunun deneysel diyabet modelinde antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik özellikler sergileyebileceğine işaret etmektedir. Klinik uygulamaya yönelik sonuç çıkarmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Öneriler

Doz optimizasyonu: Farklı K-AgNP ve oleuropein doz kombinasyonlarının karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi, terapötik pencereyi belirlemek açısından önceliklidir.

Toksisite ve biyodağılım: Gümüş iyonlarının uzun süreli kullanımda birikim potansiyeli göz önünde bulundurularak hedef organlarda biyodağılım ve toksisite çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Farklı diyabet modelleri: Bulguların genellenebilirliği için tip 2 diyabet modellerinde de kombinasyonun etkinliğinin araştırılması önerilmektedir.

Mekanizma doğrulaması: İmmünohistokimyasal ve Western blot bulgularının yolak blokaj deneyleriyle desteklenmesi, etki mekanizmasının daha güçlü biçimde ortaya konması açısından değerlidir.

Klinik geçerlilik: Bu kombinasyonun ileride klinik araştırma süreçlerine taşınabilmesi için toksikolojik güvenlik ve farmakokinetik çalışmalar zorunlu ön koşullardır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Kader, M. S., Abdel-Rahman, R. F., Soliman, G. A., Ogaly, H. A., Alamri, M. A., & Alharbi, A. G. (2024). Oleuropein Relieves Pancreatic Ischemia Reperfusion Injury in Rats by Suppressing Inflammation and Oxidative Stress through HMGB1/NF- κ B Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(18), 10171. <https://doi.org/10.3390/ijms251810171>
- Ahmad, M. Z., Rizwanullah, M., Ahmad, J., Alasmay, M. Y., Akhter, M. H., Abdel-Wahab, B. A., Warsi, M. H., & Haque, A. (2022). Progress in nanomedicine-based drug delivery in designing chitosan nanoparticles for cancer therapy. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 71(8), 602–623. <https://doi.org/10.1080/00914037.2020.1869737>
- Al-Rimawi, F., Sbeih, M., Amayreh, M., Rahhal, B., & Mudalal, S. (2024). Evaluation of the antibacterial and antifungal properties of oleuropein, olea Europea leaf extract, and Thymus vulgaris oil. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), 297. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04596-x>
- Alduayji, M. M., & Selim, M. (2023). Risk Factors of Gestational Diabetes Mellitus Among Women Attending an Antenatal Care Clinic in Prince Sultan Military Medical City (PSMMC), Riyadh, Kingdom of Saudi Arabia: A Case-Control Study. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.44200>
- American Diabetes Association. (2021). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care*, 44(Supplement_1), S15–S33. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>
- American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2024). Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care*. <https://doi.org/10.2337/dc24-S002>

- American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2025). 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2025. *Diabetes Care*, S27–S49. <https://doi.org/10.2337/dc25-S002>
- Aoyagi, K., Nishiwaki, C., Nakamichi, Y., Yamashita, S., Kanki, T., & Ohara-Imaizumi, M. (2024). Imeglimin mitigates the accumulation of dysfunctional mitochondria to restore insulin secretion and suppress apoptosis of pancreatic β -cells from db/db mice. *Scientific Reports*, 14(1), 6178. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-56769-w>
- Asghari, A. A., Hosseini, M., Bafadam, S., Rakhshandeh, H., Farazandeh, M., & Mahmoudabady, M. (2022). *Olea europaea* L. (olive) leaf extract ameliorates learning and memory deficits in streptozotocin-induced diabetic rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 12(2), 163–174. <https://doi.org/10.22038/AJP.2021.18989>
- Atkinson, M. A., Bluestone, J. A., Eisenbarth, G. S., Hebrok, M., Herold, K. C., Accili, D., Pietropaolo, M., Arvan, P. R., Von Herrath, M., Markel, D. S., & Rhodes, C. J. (2011). How Does Type 1 Diabetes Develop? *Diabetes*, 60(5), 1370–1379. <https://doi.org/10.2337/db10-1797>
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383(9911), 69–82. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60591-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7)
- Attar, R., Wu, A., Wojdyla, D., Jensen, S. E., Andell, P., Mahaffey, K. W., Roe, M. T., James, S. K., Wallentin, L., Vemulapalli, S., Alexander, J. H., Lopes, R. D., Ohman, E. M., Hernandez, A. F., Patel, M. R., & Jones, W. S. (2022). Outcomes After Acute Coronary Syndrome in Patients With Diabetes Mellitus and Peripheral Artery Disease (from the TRACER, TRILOGY-ACS, APPRAISE-2, and PLATO Clinical Trials). *The American Journal of Cardiology*, 178, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2022.04.062>

- Aydın, H., Çelik, Ö., Yazıcı, D., Altunok, Ç., Tarçın, Ö., Deyneli, O., Sancak, S., Kıyıcı, S., Aydın, K., & Yıldız, B. O. (2019). Prevalence and predictors of gestational diabetes mellitus: a nationwide multicentre prospective study. *Diabetic Medicine*, 36(2), 221–227. <https://doi.org/10.1111/dme.13857>
- Barlow, G. L., Schürch, C. M., Bhate, S. S., Phillips, D. J., Young, A., Dong, S., Martinez, H. A., Kaber, G., Nagy, N., Ramachandran, S., Meng, J., Korpos, E., Bluestone, J. A., Nolan, G. P., & Bollyky, P. L. (2025). The extra-islet pancreas supports autoimmunity in human type 1 diabetes. *ELife*, 13. <https://doi.org/10.7554/eLife.100535.3>
- Baynest, H. W. (2015). Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 06(05). <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541>
- Bensellam, M., Jonas, J.-C., & Laybutt, D. R. (2018). Mechanisms of β -cell dedifferentiation in diabetes: recent findings and future research directions. *Journal of Endocrinology*, 236(2), R109–R143. <https://doi.org/10.1530/JOE-17-0516>
- Benyettou, F., Rezgui, R., Ravaux, F., Jaber, T., Blumer, K., Jouiad, M., Motte, L., Olsen, J.-C., Platas-Iglesias, C., Magzoub, M., & Trabolsi, A. (2015). Synthesis of silver nanoparticles for the dual delivery of doxorubicin and alendronate to cancer cells. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(36), 7237–7245. <https://doi.org/10.1039/C5TB00994D>
- Berger, C., & Zdzienbło, D. (2020). Glucose transporters in pancreatic islets. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 472(9), 1249–1272. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02383-4>
- Bernal-Mizrachi, E., Fatrai, S., Johnson, J. D., Ohsugi, M., Otani, K., Han, Z., Polonsky, K. S., & Permutt, M. A. (2004). Defective insulin secretion and increased

- susceptibility to experimental diabetes are induced by reduced Akt activity in pancreatic islet β cells. *Journal of Clinical Investigation*, 114(7), 928–936. <https://doi.org/10.1172/JCI20016>
- Bernal-Mizrachi, E., Wen, W., Stahlhut, S., Welling, C. M., & Permutt, M. A. (2001). Islet β cell expression of constitutively active AKT1/PKB α induces striking hypertrophy, hyperplasia, and hyperinsulinemia. *Journal of Clinical Investigation*, 108(11), 1631–1638. <https://doi.org/10.1172/JCI13785>
- Camaya, I., Donnelly, S., & O'Brien, B. (2022). Targeting the PI3K/Akt signaling pathway in pancreatic β -cells to enhance their survival and function: An emerging therapeutic strategy for type 1 diabetes. *Journal of Diabetes*, 14(4), 247–260. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.13252>
- Cao, Z.-H., Wu, Z., Hu, C., Zhang, M., Wang, W.-Z., & Hu, X.-B. (2020). Endoplasmic Reticulum Stress and Destruction of pancreatic β cells in type 1 diabetes. *Chinese Medical Journal*, 133(1), 68–73. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000583>
- Capdevila, J., Ducreux, M., García Carbonero, R., Grande, E., Halfdanarson, T., Pavel, M., Tafuto, S., Welin, S., Valentí, V., & Salazar, R. (2022). Streptozotocin, 1982–2022: Forty Years from the FDA's Approval to Treat Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Neuroendocrinology*, 112(12), 1155–1167. <https://doi.org/10.1159/000524988>
- Chamine, I., Hwang, J., Valenzuela, S., Marino, M., Larson, A. E., Georgescu, J., Latkovic-Taber, M., Angier, H., DeVoe, J. E., & Huguet, N. (2022). Acute and Chronic Diabetes-Related Complications Among Patients With Diabetes Receiving Care in Community Health Centers. *Diabetes Care*, 45(10), e141–e143. <https://doi.org/10.2337/dc22-0420>
- Chawla, A., Chawla, R., & Jaggi, S. (2016). Microvascular and macrovascular

- complications in diabetes mellitus: Distinct or continuum? *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 20(4), 546. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.183480>
- Chimi, H., Cillard, J., Cillard, P., & Rahmani, M. (1991). Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68(5), 307–312. <https://doi.org/10.1007/BF02657682>
- Cicerale, S., Lucas, L., & Keast, R. (2012). Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.09.006>
- Cnop, M., Welsh, N., Jonas, J.-C., Jörns, A., Lenzen, S., & Eizirik, D. L. (2005). Mechanisms of Pancreatic β -Cell Death in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 54(suppl_2), S97–S107. https://doi.org/10.2337/diabetes.54.suppl_2.S97
- Creager, M. A., Lüscher, T. F., Cosentino, F., & Beckman, J. A. (2003). Diabetes and Vascular Disease. *Circulation*, 108(12), 1527–1532. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000091257.27563.32>
- De La Cruz, J. P., Quintero, L., Villalobos, M. A., & Sánchez de la Cuesta, F. (2000). Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipemic rabbits: influence of olive oil administration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1485(1), 36–44. [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(00\)00027-5](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(00)00027-5)
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A., & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(1), 15019. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>
- Desireddy, A., Conn, B. E., Guo, J., Yoon, B., Barnett, R. N., Monahan, B. M., Kirschbaum, K., Griffith, W. P., Whetten, R. L., Landman, U., & Bigioni, T. P.

- (2013). Ultrastable silver nanoparticles. *Nature*, 501(7467), 399–402.
<https://doi.org/10.1038/nature12523>
- Devi, K. B. L., Meitei, K. T., & Singh, S. J. (2023). Prevalence of Type 2 Diabetes and Its Signs and Symptoms Among the Meiteis of Manipur, India. *Journal of the Anthropological Survey of India*, 72(1), 59–70.
<https://doi.org/10.1177/2277436X221136955>
- Dludla, P. V, Mabhida, S. E., Ziqubu, K., Nkambule, B. B., Mazibuko-Mbeje, S. E., Hanser, S., Basson, A. K., Pheiffer, C., & Kengne, A. P. (2023). Pancreatic β -cell dysfunction in type 2 diabetes: Implications of inflammation and oxidative stress. *World Journal of Diabetes*, 14(3), 130–146. <https://doi.org/10.4239/wjd.v14.i3.130>
- Donath, M. Y., Dalmas, É., Sauter, N. S., & Böni-Schnetzler, M. (2013). Inflammation in Obesity and Diabetes: Islet Dysfunction and Therapeutic Opportunity. *Cell Metabolism*, 17(6), 860–872. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.05.001>
- Eizirik, D. L., Cardozo, A. K., & Cnop, M. (2008). The Role for Endoplasmic Reticulum Stress in Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews*, 29(1), 42–61.
<https://doi.org/10.1210/er.2007-0015>
- Eizirik, D. L., & Mandrup-Poulsen, T. (2001). A choice of death - the signal-transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis. *Diabetologia*, 44(12), 2115–2133.
<https://doi.org/10.1007/s001250100021>
- El-Nouri, M. A., Azmy, O. M., Elshal, A. O. I., Ragab, A. M. H., & Elsherbini, E. A. M. (2013). Study of the Effects of Silver Nanoparticle Exposure on the Ovary of Rats. *Life Science Journal*, 10, 1887–1894. <https://www.lifesciencesite.com>
- Eleazu, C. O., Eleazu, K. C., Chukwuma, S., & Essien, U. N. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use, and potential risk to humans. *Journal of Diabetes &*

- Metabolic Disorders*, 12(1), 60. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-60>
- Engin, F. (2016). ER stress and development of type 1 diabetes. *Journal of Investigative Medicine*, 64(1), 2–6. <https://doi.org/10.1097/JIM.0000000000000229>
- Fajarwati, I., Solihin, D. D., Wresdiyati, T., & Batubara, I. (2023). Administration of alloxan and streptozotocin in Sprague Dawley rats and the challenges in producing a diabetes model. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1174(1), 012035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1174/1/012035>
- Fayaz, A. M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P. T., & Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(1), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.04.006>
- García-Aguilar, A., & Guillén, C. (2022). Targeting pancreatic beta cell death in type 2 diabetes by polyphenols. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1052317>
- Gaurav, C., Goutam, R., Rohan, K. N., Sweta, K. T., Abhay, C. S., & Amit, G. K. (2015). In situ stabilized AgNPs and (Cu-Cur)CD dispersed gel, a topical contraceptive antiretroviral (ARV) microbicide. *RSC Advances*, 5(101), 83013–83028. <https://doi.org/10.1039/C5RA16353F>
- George D. Konrad, Amy B. Mulkey, M. A. I. (2023). Islets of Langerhans. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542302/%0A%0A>
- Ghasemi, A., & Jeddi, S. (2023). Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: a practical guide. *EXCLI Journal*, 22, 274–294. <https://doi.org/10.17179/excli2022-5720>
- Ghorbanzadeh, V., Moshtaghian, J., Habibian Dehkordi, S., & Ebadi, A. (2011).

- Influence of Nano-Silver on Graffian Follicles via Intraperitoneal Injection in Rats. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 8(1).
https://www.researchgate.net/publication/268436230_Influence_of_Nano-Silver_on_Graffian_Follicles_via_Intraperitoneal_Injection_in_Rats
- Giannoukakis, N., Rudert, W. A., Trucco, M., & Robbins, P. D. (2000). Protection of Human Islets from the Effects of Interleukin-1 β by Adenoviral Gene Transfer of an I κ B Repressor. *Journal of Biological Chemistry*, 275(47), 36509–36513.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M005943200>
- Giwa, A. M., Ahmed, R., Omidian, Z., Majety, N., Karakus, K. E., Omer, S. M., Donner, T., & Hamad, A. R. A. (2020). Current understandings of the pathogenesis of type 1 diabetes: Genetics to environment. *World Journal of Diabetes*.
<https://doi.org/10.4239/wjd.v11.i1.13>
- Gomes, C., Futterman, I. D., Sher, O., Gluck, B., Hillier, T. A., Ramezani Tehrani, F., Chaarani, N., Fisher, N., Berghella, V., & McLaren, R. A. (2024). One-step vs 2-step gestational diabetes mellitus screening and pregnancy outcomes: an updated systematic review and meta-analysis. *American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM*, 6(5), 101346. <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2024.101346>
- Goy, R. C., Britto, D. de, & Assis, O. B. G. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros*, 19(3), 241–247. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000300013>
- Hadrich, F., Mahmoudi, A., Chamkha, M., Isoda, H., & Sayadi, S. (2023). Olive Leaves Extract and Oleuropein Improve Insulin Sensitivity in 3T3-L1 Cells and in High-Fat Diet-Treated Rats via PI3K/Akt Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2023/6828230>
- Haile, K. E., Asgedom, Y. S., Azeze, G. A., Amsalu, A. A., Kassie, G. A., & Gebrekidan,

- A. Y. (2025). Burden of peripheral artery disease and risk factors among patients with diabetes mellitus in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *BMC Endocrine Disorders*, 25(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s12902-025-01866-8>
- Haligur, M., Topsakal, S., & Ozmen, O. (2012). Early Degenerative Effects of Diabetes Mellitus on Pancreas, Liver, and Kidney in Rats: An İmmünohistochemical Study. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2012/120645>
- Hamdan, S., Pastar, I., Drakulich, S., Dikici, E., Tomic-Canic, M., Deo, S., & Daunert, S. (2017). Nanotechnology-Driven Therapeutic Interventions in Wound Healing: Potential Uses and Applications. *ACS Central Science*, 3(3), 163–175. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.6b00371>
- Hasheminasabgorji, E., & Jha, J. C. (2021). Dyslipidemia, Diabetes and Atherosclerosis: Role of Inflammation and ROS-Redox-Sensitive Factors. *Biomedicines*, 9(11), 1602. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111602>
- Heimberg, H., Heremans, Y., Jobin, C., Leemans, R., Cardozo, A. K., Darville, M., & Eizirik, D. L. (2001). Inhibition of Cytokine-Induced NF- κ B Activation by Adenovirus-Mediated Expression of an NF- κ B Super-Repressor Prevents β -Cell Apoptosis. *Diabetes*, 50(10), 2219–2224. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.10.2219>
- Hostens, K., Pavlovic, D., Zambre, Y., Ling, Z., Van Schravendijk, C., Eizirik, D. L., & Pipeleers, D. G. (1999). Exposure of human islets to cytokines can result in disproportionately elevated proinsulin release. *Journal of Clinical Investigation*, 104(1), 67–72. <https://doi.org/10.1172/JCI6438>
- Huber, M. K., Widener, A. E., Cuaycal, A. E., Smurlick, D., Butterworth, E. A., Lenchik, N. I., Chen, J., Beery, M., Hiller, H., Verney, E., Kusmartseva, I., Slak Rupnik, M., Campbell-Thompson, M., Gerling, I. C., Atkinson, M. A., Mathews, C. E., & Phelps,

- E. A. (2024). *Beta cell dysfunction occurs independently of insulinitis in type 1 diabetes pathogenesis*. <https://doi.org/10.1101/2024.12.29.630665>
- Hundal, R. S., & Inzucchi, S. E. (2003). Metformin. *Drugs*, 63(18), 1879–1894. <https://doi.org/10.2165/00003495-200363180-00001>
- Hung, C.-H., Tzeng, J.-I., Chang, C.-N., Chen, Y.-W., Cho, C.-Y., & Wang, J.-J. (2013). Treadmill Exercise Preconditioning Attenuates Lung Damage Caused by Systemic Endotoxemia in Type 1 Diabetic Rats. *Journal of Diabetes Research*, 2013, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/527090>
- Iantomasi, M., Terzo, M., & Tsiani, E. (2024). Anti-Diabetic Effects of Oleuropein. *Metabolites*, 14(11), 581. <https://doi.org/10.3390/metabo14110581>
- IDF, D. A. (2021). International diabetes federation. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 102(2).
- İğci, N., & Serinçeç Akkeçeci, N. (2024). Diyabetin Komplikasyonları. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(3), 162–166. <https://doi.org/10.17517/ksutfd.1239400>
- İmamoğlu, Ş., Satman, İ., Akalın, S., Salman, S., & Yılmaz, C. (2015). *Geçmişten Geleceğe Diabetes Mellitus*. BAYT Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın ve Tanıtım Ltd. Şti.
- İmamoğlu, Ş., & Özyardımcı Ersoy, C. (2022). *Diabetes Mellitus'un Tanı, Tedavi ve İzlemi*. Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları. <https://acikerisim.uludag.edu.tr/handle/11452/30068>
- Jiang, H., Zhou, Y., Nabavi, S. M., Sahebkar, A., Little, P. J., Xu, S., Weng, J., & Ge, J. (2022). Mechanisms of Oxidized LDL-Mediated Endothelial Dysfunction and Its Consequences for the Development of Atherosclerosis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.925923>

- Jooyeop Lee, Na Keum Lee, J. H. M. (2024). Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms Underlying Maternal and Fetal Complications. *Endocrinology and Metabolism*, 1–14. <https://doi.org/10.3803/EnM.2024.39.1.1>
- Kassardjian, A., & Wang, H. L. (2020). SMAD4-Expressing Pancreatic Ductal Adenocarcinomas Have Better Response to Neoadjuvant Therapy and Significantly Lower Lymph Node Metastasis Rates. *Pancreas*, 49(9), 1153–1160. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001636>
- Katsarou, A., Gudbjörnsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A., & Lernmark, Å. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17016. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.16>
- Katzung, Bertram G. Vanderah, T. W. (2021). *Basic and Clinical Pharmacology*.
- Kaufman, B. A., Li, C., & Soleimanpour, S. A. (2015). Mitochondrial regulation of β -cell function: Maintaining the momentum for insulin release. *Molecular Aspects of Medicine*, 42, 91–104. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2015.01.004>
- Kayaalp, S. (2012). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (12th ed.). Hacettepe Taş Kitapçılık.
- Kazamel, M., Stino, A. M., & Smith, A. G. (2021). Metabolic syndrome and peripheral neuropathy. *Muscle & Nerve*, 63(3), 285–293. <https://doi.org/10.1002/mus.27086>
- Ke, C.-L., Deng, F.-S., Chuang, C.-Y., & Lin, C.-H. (2021). Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan. *Polymers*, 13(6), 904. <https://doi.org/10.3390/polym13060904>
- Kim, J.-M. (2024). Induction of Diabetes Mellitus Using Alloxan in Sprague Dawley Rats. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.63359>
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J.-H., Park, S. J., Lee, H. J., Kim, S. H., Park, Y. K.,

- Park, Y. H., Hwang, C.-Y., Kim, Y.-K., Lee, Y.-S., Jeong, D. H., & Cho, M.-H. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3(1), 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2006.12.001>
- King, A. J. (2012). The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology*, 166(3), 877–894. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x>
- Kumar, A., Vemula, P. K., Ajayan, P. M., & John, G. (2008). Silver-nanoparticle-embedded antimicrobial paints based on vegetable oil. *Nature Materials*, 7(3), 236–241. <https://doi.org/10.1038/nmat2099>
- Lehrstrand, J., Davies, W. I. L., Hahn, M., Korsgren, O., Alanentalo, T., & Ahlgren, U. (2024). Illuminating the complete β -cell mass of the human pancreas- signifying a new view on the islets of Langerhans. *Nature Communications*, 15(1), 3318. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-47686-7>
- Leibiger, I. B., Leibiger, B., & Berggren, P.-O. (2008). Insulin Signaling in the Pancreatic β -Cell. *Annual Review of Nutrition*, 28(1), 233–251. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.28.061807.155530>
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216–226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Li, J., & Zhuang, S. (2020). Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. *European Polymer Journal*, 138, 109984. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109984>
- Liao, F.-H., Shieh, M.-J., Chang, N.-C., & Chien, Y.-W. (2007). Chitosan supplementation lowers serum lipids and maintains normal calcium, magnesium, and iron status in hyperlipidemic patients. *Nutrition Research*, 27(3), 146–151. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2007.01.009>

- Malliou, F., Andriopoulou, C. E., Kofinas, A., Katsogridaki, A., Leondaritis, G., Gonzalez, F. J., Michaelidis, T. M., Darsinou, M., Skaltsounis, L. A., & Konstandi, M. (2023). Oleuropein Promotes Neural Plasticity and Neuroprotection via PPAR α -Dependent and Independent Pathways. *Biomedicines*, 11(8), 2250. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11082250>
- Marassi, V., Di Cristo, L., Smith, S. G. J., Ortelli, S., Blosi, M., Costa, A. L., Reschiglian, P., Volkov, Y., & Prina-Mello, A. (2018). Silver nanoparticles as a medical device in healthcare settings: a five-step approach for candidate screening of coating agents. *Royal Society Open Science*, 5(1), 171113. <https://doi.org/10.1098/rsos.171113>
- Martín-Carro, B., Donate-Correa, J., Fernández-Villabrille, S., Martín-Vírgala, J., Panizo, S., Carrillo-López, N., Martínez-Arias, L., Navarro-González, J. F., Naves-Díaz, M., Fernández-Martín, J. L., Alonso-Montes, C., & Cannata-Andía, J. B. (2023). Experimental Models to Study Diabetes Mellitus and Its Complications: Limitations and New Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 10309. <https://doi.org/10.3390/ijms241210309>
- Mihai, M. M., Dima, M. B., Dima, B., & Holban, A. M. (2019). Nanomaterials for Wound Healing and Infection Control. *Materials*, 12(13), 2176. <https://doi.org/10.3390/ma12132176>
- Mir-Cerdà, A., Granados, M., Saurina, J., & Sentellas, S. (2024). Olive tree leaves as a great source of phenolic compounds: Comprehensive profiling of NaDES extracts. *Food Chemistry*, 456, 140042. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140042>
- Mohammedi, K., Marre, M., & Alhenc-Gelas, F. (2024). Genetic predisposition to nephropathy and associated cardiovascular disease in people with type 1 diabetes: role of the angiotensin I-converting enzyme (ACE), and beyond; a narrative review. *Cardiovascular Diabetology*, 23(1), 453. <https://doi.org/10.1186/s12933-024->

- Mosenzon, O., Cheng, A. Y., Rabinstein, A. A., & Sacco, S. (2023). Diabetes and Stroke: What Are the Connections? *Journal of Stroke*, 25(1), 26–38.
<https://doi.org/10.5853/jos.2022.02306>
- Newmeyer, D. D., & Ferguson-Miller, S. (2003). Mitochondria. *Cell*, 112(4), 481–490.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00116-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00116-8)
- Nurdiana, S., Goh, Y. M., Ahmad, H., Dom, S. M., Syimal'ain Azmi, N., Noor Mohamad Zin, N. S., & Ebrahimi, M. (2017). Changes in pancreatic histology, insulin secretion, and oxidative status in diabetic rats following treatment with Ficus deltoidea and vitexin. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 290.
<https://doi.org/10.1186/s12906-017-1762-8>
- Ohara-Imaizumi, M., Cardozo, A. K., Kikuta, T., Eizirik, D. L., & Nagamatsu, S. (2004). The Cytokine Interleukin-1 β Reduces the Docking and Fusion of Insulin Granules in Pancreatic β -Cells, Preferentially Decreasing the First Phase of Exocytosis. *Journal of Biological Chemistry*, 279(40), 41271–41274.
<https://doi.org/10.1074/jbc.C400360200>
- Okamoto, H., & Takasawa, S. (2003). Recent advances in physiological and pathological significance of NAD⁺ metabolites: roles of poly(ADP-ribose) and cyclic ADP-ribose in insulin secretion and diabetogenesis. *Nutrition Research Reviews*, 16(2), 253–266. <https://doi.org/10.1079/NRR200362>
- Park, S. Y., Gautier, J.-F., & Chon, S. (2021). Assessment of Insulin Secretion and Insulin Resistance in Humans. *Diabetes & Metabolism Journal*, 45(5), 641–654.
<https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0220>
- Patel, V. A., Patel, M. J., Raval, S. H., & Patel, K. B. (2025). Comparative analysis of islet density in rat pancreas lobes: A histological and immunohistochemical study.

- International Journal of Advanced Biochemistry Research*, 9(7S), 256–261.
<https://doi.org/10.33545/26174693.2025.v9.i7Sd.4807>
- Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. del P., Acosta-Torres, L. S., Diaz-Torres, L. A., Grillo, R., Swamy, M. K., Sharma, S., Habtemariam, S., & Shin, H.-S. (2018). Nano-based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 71.
<https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>
- Pelle, M. C., Provenzano, M., Busutti, M., Porcu, C. V., Zaffina, I., Stanga, L., & Arturi, F. (2022). Update on Diabetic Nephropathy. *Life*, 12(8), 1202.
<https://doi.org/10.3390/life12081202>
- Peltier, A. (2023). Diabetic Peripheral Neuropathy: No Title. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Peng, X., Rao, G., Li, X., Tong, N., Tian, Y., & Fu, X. (2023). Preclinical models for Type 1 Diabetes Mellitus - A practical approach for research. *International Journal of Medical Sciences*, 20(12), 1644–1661. <https://doi.org/10.7150/ijms.86566>
- Peng, Z., Aggarwal, R., Zeng, N., He, L., Stiles, E. X., Debebe, A., Chen, J., Chen, C.-Y., & Stiles, B. L. (2020). AKT1 Regulates Endoplasmic Reticulum Stress and Mediates the Adaptive Response of Pancreatic β Cells. *Molecular and Cellular Biology*, 40(11). <https://doi.org/10.1128/MCB.00031-20>
- Plows, J. F., Stanley, J. L., Baker, P. N., Reynolds, C. M., & Vickers, M. H. (2018). The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3342. <https://doi.org/10.3390/ijms19113342>
- Pramanik, S., Mondal, S., Palui, R., & Ray, S. (2024). Type 2 diabetes in children and adolescents: Exploring the disease heterogeneity and research gaps to optimum management. *World Journal of Clinical Pediatrics*, 13(2).

- <https://doi.org/10.5409/wjcp.v13.i2.91587>
- Rafi, E., Tranchito, L., & Hatipoglu, B. (2025). Navigating Insulin Options for Diabetes Management. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 110(Supplement_2), S159–S164. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgae790>
- Rajalakshmi, R., Prathiba, V., & Mohan, V. (2016). Does tight control of systemic factors help in the management of diabetic retinopathy? *Indian Journal of Ophthalmology*, 64(1), 62. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.178146>
- Razdan, A., & Pettersson, D. (1994). Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 72(2), 277–288. <https://doi.org/10.1079/BJN19940029>
- Reuters. (2024). *More than 800 million adults have diabetes globally, many untreated, a study suggests.* <https://www.reuters.com/business/healthcare-pharmaceuticals/more-than-800-million-adults-have-diabetes-globally-many-untreated-study-2024-11-13>
- Rewers, A. (2018). Acute Metabolic Complications in Diabetes. In *Diabetes in America*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16644656>
- Rivera Nieves, A. M., Wauford, B. M., & Fu, A. (2024). Mitochondrial bioenergetics, metabolism, and beyond in pancreatic β -cells and diabetes. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2024.1354199>
- Robertson, C. C., Elgamal, R. M., Henry-Kanarek, B. A., Arvan, P., Chen, S., Dhawan, S., Eizirik, D. L., Kaddis, J. S., Vahedi, G., Parker, S. C. J., Gaulton, K. J., & Soleimanpour, S. A. (2024). Untangling the genetics of beta cell dysfunction and death in type 1 diabetes. *Molecular Metabolism*, 86, 101973. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2024.101973>
- Roep, B. O., Thomaidou, S., van Tienhoven, R., & Zaldumbide, A. (2021). Type 1

- diabetes mellitus is a disease of the β -cell (do not blame the immune system?). *Nature Reviews Endocrinology*, 17(3), 150–161. <https://doi.org/10.1038/s41574-020-00443-4>
- Rorsman, P., Eliasson, L., Renström, E., Gromada, J., Barg, S., & Göpel, S. (2000). The Cell Physiology of Biphasic Insulin Secretion. *Physiology*, 15(2), 72–77. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2000.15.2.72>
- S. K. Sharma, M. K. Singh, A. K. G. (2024). Gene-environment interaction in the pathophysiology of type 1 diabetes. *Frontiers in Endocrinology*. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1335435>
- Saisho, Y. (2014). Pancreas Volume With Obesity in Asians. *Pancreas*, 43(4), 657–659. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000064>
- Salman, S., Satman, İ., Yılmaz, C., İmamoğlu, Ş., & Dinççağ, N. (2020). *Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu*. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/diabetes-mellitus_2022.pdf
- Sanyaolu, A., Marinkovic, A., Prakash, S., Williams, M., Dixon, Y., Okorie, C., Orish, V. N., & Izurieta, R. (2023). Diabetes mellitus: An overview of the types, prevalence, comorbidity, complications, genetics, economic implications, and treatment. *World Journal of Meta-Analysis*, 11(5), 134–143. <https://doi.org/10.13105/wjma.v11.i5.134>
- Schröder, M., & Kaufman, R. J. (2005). ER stress and the unfolded protein response. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 569(1–2), 29–63. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.06.056>
- Serreze, D. V., Dwyer, J. R., & Racine, J. J. (2024). Advancing Animal Models of Human

- Type 1 Diabetes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 14(10), a041587.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041587>
- Shaibani, Z., & Rafieirad, M. (2024). Protective Effect of Oleuropein on Memory Impairment and Oxidative Stress in Streptozotocin -Induced Diabetes Rats via Modulation of NF -kB and Nrf-2 Pathways. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*. <https://doi.org/10.18502/jabs.v14i2.15756>
- Sharma, M., Chan, H. K., Lavilla, C. A., Uy, M. M., Froemming, G. R. A., & Okechukwu, P. N. (2023). Induction of a single dose of streptozotocin (50 mg) in rat model causes insulin resistance with type 2 diabetes mellitus. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 37(4), 769–778. <https://doi.org/10.1111/fcp.12892>
- Shehabeldine, A. M., Salem, S. S., Ali, O. M., Abd-Elsalam, K. A., Elkady, F. M., & Hashem, A. H. (2022). Multifunctional Silver Nanoparticles Based on Chitosan: Antibacterial, Antibiofilm, Antifungal, Antioxidant, and Wound-Healing Activities. *Journal of Fungi*, 8(6), 612. <https://doi.org/10.3390/jof8060612>
- Singh, R., Gholipourmalekabadi, M., & Shafikhani, S. H. (2024). Animal models for type 1 and type 2 diabetes: advantages and limitations. *Frontiers in Endocrinology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1359685>
- Somova, L. I., Shode, F. O., Ramnanan, P., & Nadar, A. (2003). Antihypertensive, antiatherosclerotic, and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2–3), 299–305. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00332-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00332-X)
- Srinivasan, S., Bernal-Mizrachi, E., Ohsugi, M., & Permutt, M. A. (2002). Glucose promotes pancreatic islet β -cell survival through a PI 3-kinase/Akt-signaling pathway. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 283(4), E784–E793. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00177.2002>

- Suba, K., Patel, Y., Martin-Alonso, A., Hansen, B., Xu, X., Roberts, A., Norton, M., Chung, P., Shrewsbury, J., Kwok, R., Kalogianni, V., Chen, S., Liu, X., Kalyviotis, K., Rutter, G. A., Jones, B., Minnion, J., Owen, B. M., Pantazis, P., ... Salem, V. (2024). Intra-islet glucagon signalling regulates beta-cell connectivity, first-phase insulin secretion, and glucose homeostasis. *Molecular Metabolism*, 85, 101947. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2024.101947>
- T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2021). *Türkiye Diyabet Programı*. <https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-ve-hareketli-hayat-db/Dokumanlar/Programlar/Turkiye-Diyabet-Programi.pdf>
- Talathi, S. S., Zimmerman, R., & Young, M. (2025). *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Pancreas*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532912/>
- Tegehall, A., Korsgren, O., Ingvast, S., Gasparyan, G., Granlund, L., & Lundberg, M. (2025). Islet delta-cell architecture is remodelled in the human pancreas during type 1 diabetes. *Scientific Reports*, 15(1), 19776. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-04471-w>
- Thiruvoipati, T. (2015). Peripheral artery disease in patients with diabetes: Epidemiology, mechanisms, and outcomes. *World Journal of Diabetes*, 6(7), 961. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i7.961>
- Thorens, B., Wu, Y. J., Leahy, J. L., & Weir, G. C. (1992). The loss of GLUT2 expression by glucose-unresponsive beta cells of db/db mice is reversible and is induced by the diabetic environment. *Journal of Clinical Investigation*, 90(1), 77–85. <https://doi.org/10.1172/JCI115858>
- Ul Haq, M. N., Shah, G. M., Gul, A., Foudah, A. I., Alqarni, M. H., Yusufoglu, H. S., Hussain, M., Alkreathy, H. M., Ullah, I., Khan, A. M., Jamil, S., Ahmed, M., &

- Khan, R. A. (2022). Biogenic Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Phagnalon niveum* and Its In Vivo Anti-Diabetic Effect against Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats. *Nanomaterials*, 12(5), 830. <https://doi.org/10.3390/nano12050830>
- Vijayakumar, V., Samal, S. K., Mohanty, S., & Nayak, S. K. (2019). Recent advancements in biopolymer and metal nanoparticle-based materials in diabetic wound healing management. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 137–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.120>
- Visioli, F., Bellomo, G., & Galli, C. (1998). Free Radical-Scavenging Properties of Olive Oil Polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 247(1), 60–64. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.8735>
- Wahab, M., Bhatti, A., & John, P. (2022). Evaluation of Antidiabetic Activity of Biogenic Silver Nanoparticles Using *Thymus serpyllum* on Streptozotocin-Induced Diabetic BALB/c Mice. *Polymers*, 14(15), 3138. <https://doi.org/10.3390/polym14153138>
- Wang, Z., & Gleichmann, H. (1998). GLUT2 in Pancreatic Islets: Crucial Target Molecule in Diabetes Induced With Multiple Low Doses of Streptozotocin in Mice. *Diabetes*, 47(1), 50–56. <https://doi.org/10.2337/diab.47.1.50>
- Wardani, G., Nugraha, J., Mustafa, M. R., Kurnijasanti, R., & Sudjarwo, S. A. (2022). Antioxidative Stress and Antiapoptosis Effect of Chitosan Nanoparticles to Protect Cardiac Cell Damage in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1). <https://doi.org/10.1155/2022/3081397>
- Webster, K. L., & Mirmira, R. G. (2024). Beta cell dedifferentiation in type 1 diabetes: sacrificing function for survival? *Frontiers in Endocrinology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1427723>
- Witztum, J. L. (1987). Intensive drug therapy of hypercholesterolemia. *American Heart Journal*, 113(2), 603–609. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(87\)90640-5](https://doi.org/10.1016/0002-8703(87)90640-5)

- Wong, T. Y., Cheung, C. M. G., Larsen, M., Sharma, S., & Simó, R. (2016). Diabetic retinopathy. *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1), 16012. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.12>
- World Health Organization. (2024). *Diabetes*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Yang, Y., Zhao, B., Wang, Y., Lan, H., Liu, X., Hu, Y., & Cao, P. (2025). Diabetic neuropathy: cutting-edge research and future directions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 10(1), 132. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02175-1>
- Yao, X., Zhang, J., Zhang, X., Jiang, T., Zhang, Y., Dai, F., Hu, H., & Zhang, Q. (2023). Age at diagnosis, diabetes duration and the risk of cardiovascular disease in patients with diabetes mellitus: a cross-sectional study. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1131395>
- Yin, J., Fu, X., Luo, Y., Leng, Y., Ao, L., & Xie, C. (2024). A Narrative Review of Diabetic Macroangiopathy: From Molecular Mechanism to Therapeutic Approaches. *Diabetes Therapy*, 15(3), 585–609. <https://doi.org/10.1007/s13300-024-01532-7>
- Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y., & Kang, W. (2014). α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 3(3–4), 136–174. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2014.11.003>
- You, C., Han, C., Wang, X., Zheng, Y., Li, Q., Hu, X., & Sun, H. (2012). The progress of silver nanoparticles in the antibacterial mechanism, clinical application and cytotoxicity. *Molecular Biology Reports*, 39(9), 9193–9201. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1792-8>
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties, and Applications. *Marine Drugs*, 13(3), 1133–1174.

<https://doi.org/10.3390/md13031133>

Zheng, J.-S., Zheng, S.-Y., Zhang, Y.-B., Yu, B., Zheng, W., Yang, F., & Chen, T. (2011).

Sialic acid surface decoration enhances cellular uptake and apoptosis-inducing activity of selenium nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 83(1), 183–187. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.11.023>

Zheng, S., Geng, R., Guo, J., Kang, S.-G., Huang, K., & Tong, T. (2024). Oleuropein Supplementation Ameliorates Long-Course Diabetic Nephropathy and Diabetic Cardiomyopathy Induced by Advanced Stage of Type 2 Diabetes in db/db Mice. *Nutrients*, 16(6), 848. <https://doi.org/10.3390/nu16060848>

EKLER

EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu

	SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences	
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹		
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Nevra AYDEMİR CELEP	
Öğrencinin Numarası		
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Farmakoloji	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora	
Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.		
Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 3	% 15
II. Genel Bilgiler	% 8	% 35
III. Materyal ve Metod	% 11	% 35
IV. Bulgular	% 14	% 15
V. Tartışma	% 0	% 20
Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.		

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : E-75296309-050.01.04-2400145116
Konu : HADYEK Kararı.

03.05.2024

ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 19.04.2024 tarihli ve E-93722986-000-2400129307 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 29.04.2024 tarihli ve 2024/04 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 105 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 29.04.2024

TOPLANTI SAYISI : 2024/04

KARAR N0 105: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Rüstem Anıl UĞAN'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Kitosan-Gümüş Nanopartikül Yüklennmiş Oleuropeinin Ratlarda Streptozosin ile İndüklenen Diyabet Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması**” isimli araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 19.04.2024 tarihli ve E-93722986-000-2400129307 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

