



**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA METFORMİN HCl ETKİSİNİN
HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Behzad MOKHTARE

**Patoloji Anabilim Dalı
Danışmanı**

Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM

Yüksek Lisans Tezi – 2015

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
METFORMİN HCl ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİKVE
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Behzad MOKHTARE

**Veteriner Patoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM**

**ERZURUM
2015**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
METFORMİN HCL ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Behzad MOKHTARE

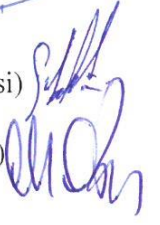
Tez Savunma Tarihi : 18.09.2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi (II.Danışman) : Doç. Dr. Meltem ÇETİN (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Özgür KAYNAR (Atatürk Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Serkan YILDIRIM (Yüzüncü Yıl Üniversitesi) 

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA (Atatürk Üniversitesi) 

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diabetesmellitus (DM)	3
2.1.2. Pankreas	4
2.1.3. İnsülin	6
2.1.4. Etiyoloji	7
2.1.5. PatogeneZ	9
2.1.6. Bulgular	12
2.1.7. Teşhis ve Tedavi	18
2.1.8. Streptozotosin and Nikotinamid	19
2.1.9. Metformin HCl	20
3. MATERYAL VE METOT.....	24
3.1. Deney Hayvanları	24
3.2. Deneysel Protokol.....	24
3.3. Makroskobik İncelemeler	25
3.4. Histopatolojik İncelemeler.....	25
3.5. İmmunohistokimyasal İncelemeler.....	26
3.6. İstatiksel Analiz	27

4. BULGULAR.....	28
4.1. Makroskopik Bulgular	28
4.2. Mikroskopik Bulgular.....	28
4.2.1. Histopatolojik Bulgular.....	28
4.2.2. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	37
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR	56
EKLER	72
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	72
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	73

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca mesleki bilgi ve becerilerini benden esirgemeyip çalışmamda sabırla bana yol gösteren ve üzerimde emeği çok olan sayın danışman Hocam Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM'a ve ikinci Tez Danışmanım Doç. Dr. Meltem ÇETİN'e sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Yetişmemde katkısı olan Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Ertan ORUÇ ve Doç. Dr. Kübra Asena TERİM KAPAKİN'e, Yard. Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA'ya içten teşekkür ederim. Patoloji laboratuvarında yaptığım çalışmalarımda bana yardımcı olan Araştırma Görevlileri Dr. Serdar ALTUN'a ve Selim ÇOMAKLI'ya teşekkür ederim, Son olarak sevgili anne ve babama her zaman beni destekledikleri için sonsuz şükranlarımı sunarım.

Behzad MOKHTARE

ÖZET

Deneyssel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Metformin HCl Etkisinin Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması

Amaç: Bu çalışmada, Tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda metformin HCl ve metformin HCl-yüklü boncukların karaciğer ve pankreas üzerindeki erken dönem histopatolojik ve immunohistokimyasal etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot:Kontrol, streptozotolin (STZ)–nikotinamid (NA), STZ-NA+oral metformin HCl(OM), boş boncuk, metformin HCl+AL-CS ve metformin HCl+AL olmak üzere toplam 6 grup oluşturulmuştur (toplam 43 sıçan kullanılmıştır). Kontrol grubu dışındaki sıçanlara STZ'nin taze hazırlanmış çözeltisi (40 mg/kg dozda) uygulanmış, 15 dk sonra ise NA'nın % 0.9'luk NaCl içerisindeki çözeltisi (120 mg/kg doz) i.p olarak tek doz halinde uygulanmıştır. Uygulamanın 7. gününde kan glukoz düzeyi >126 mg/dl olanlar diyabetik olarak kabul edilip ilaç uygulaması yapılmıştır ve uygulamadan 72 saat sonrasıçanlar sevofluran anestezisi altında uyutulmuştur. Alınan pankreas ve karaciğer örneklerinden hazırlanan preparatlar histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak incelenmiştir.

Bulgular: Histopatolojik olarak, pankreasın langerhans adacıklarındaki atrofik görünümün STZ-NA , STZ-NA+OM ve boş boncuk gruplarında şiddetli olduğu, metformin HCl+AL-CS ve metformin HCl+AL gruplarında ise bu atrofik görünümün azaldığı belirlenmiştir. İmmunohistokimyasal olarak ise, langerhans adacıklarının çapının ve insülin immunpozitif β hücre sayılarının STZ-NA, STZ-NA+OM ile boş boncuk gruplarındaki sıçanlarda oldukça az düzeyde olduğu saptanmıştır. Fakat, metformin HCl+AL-CS ve metformin HCl+AL gruplarında langerhans adacıklarının çapı ile insülin immunpozitif β hücrelerin sayısının arttığı tespit edilmiştir. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde ise tüm deneme gruplarında benzer düzeyde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz görülmüştür.

Sonuç: Oluşturulan diyabet modelinin pankreas ve karaciğerde fizyolojik fonksiyonları etkileyecek oranda patolojik değişikliklere ve parankim hücrelerinde sayısal azalmaya sebep olduğu, fakat metformin HCl yüklü ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanımının özellikle pankreasın langerhans adacıkları üzerindeki diyabetik etkiyi azaltmada faydalı olabileceği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, histopatoloji, immunohistokimya, karaciğer, pankreas.

ABSTRACT

Investigation of Histopathological and Immunohistochemical Effects of Metformin HCl in Experimental Diabetic Rats

Aim: In this study, we aimed to investigate the early stage histopathological and immunohistochemical effects of metformin HCl and metformin HCl-loaded beads in the liver and pancreas of experimental Type 2 diabetic rats.

Material and Methods: For this study, a total of 43 rats were divided in 6 groups as control, streptozotocin (STZ)-nicotinamide(NA), STZ-NA+oral metformin HCl (OM), blank beads, metformin HCl+AL-CS and metformin HCl+AL. Type-2 diabetes was induced in overnight-fasted rats by single i.p injection of freshly prepared STZ (40 mg/kg), 15 min later, the rats were given the i.p injection of freshly prepared NA in NaCl (0.9%) solution (120 mg/kg) (except of control group). The development of diabetes was confirmed by the elevated glucose level on day 7 of injection. The rats with fasting blood glucose level higher than 126 mg/dl were considered as diabetics. The solution of pure drug and the suspensions of the beads were administered to rats and after 72 hours necropsy was performed to all rats under sevoflurane anesthesia. Preparations made from the pancreas and liver samples were analyzed by using histopathologic and immunohistochemical methods.

Results: Severity of atrophic appearance of pancreatic Langerhans islet was high histopathologically in STZ-NA, STZ-NA+OM and blank beads groups. This situation was decreased in metformin HCl+AL-CS and metformin HCl+AL groups. Immunohistochemically, the diameter of Langerhans islet and number of the insulin immune-positive β cells was quite minimal in rats of STZ-NA, STZ-NA+OM and blank beads groups. However, the diameter of Langerhans islet and the number of insulin immune-positive β cells was increased in metformin HCl, metformin HCl+AL-CS and metformin HCl+AL groups. In the histopathological examination of liver hydropic degeneration and necrosis at similar levels in all treatment groups were observed.

Conclusion: Induction of diabetes model in rats affected physiological functions of pancreas, liver and caused to pathological changes of parenchymal cells like numerical reduction but, the use of metformin HCl-loaded beads, particularly on pancreatic islets of Langerhans was found to be beneficial in reducing the effects of diabetes.

Key Words: Diabetes, histopathology, immunohistochemical evaluation, liver, pancreas.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AL	: Aljinat
CS	: Kitosan
DM	: Diabetes Mellitus
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptit-1
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
OGTT	: Oral Glikoz Tolerans Testi
PBS	: Fosfat ile tamponlanmış tuz çözeltisi
STZ	: Streptozotosin
NA	: Nikotinamid
ADC	: Amerikan Diyabet Cemiyeti
GDM	: Gestasyonel Diyabet Mellitus
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
DNA	: Deoksiribonükleik asit
OM	: Oral Metformin
DAB	: 3,3- Diaminobenzidine
AV	: Aloe vera

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1.	Pankreasta görülen histopatolojik değişikliklerin şiddeti..... 29
Şekil 4.2.	Normal görünümdeki pankreas, kontrol grubu (Grup I). Pankreas. Langerhans adacığı ve ekzokrin pankreasın normal histolojik görünümü.HE. 20 µm..... 30
Şekil 4.3.	STZ-NA grubu (Grup II). Pankreas. Atrofik langerhans adacığı. HE. 20µm..... 30
Şekil 4.4.	STZ-NA+OM grubu (Grup III). Pankreas. Atrofik langerhans adacığı. HE. 20 µm..... 31
Şekil 4.5.	Boş boncuk grubu (Grup IV). Pankreas. Atrofik görünümdeki langerhans adacığı. HE. 20 µm..... 31
Şekil 4.6.	Metformin HCl içeren AL-CS boncuk grubu (Grup V). Pankreas. Langerhans adacığı. HE. 20 µm..... 32
Şekil 4.7.	Metformin HCl içeren AL boncuk grubu (Grup VI). Pankreas. Langerhans adacığı. HE. 20 µm..... 32
Şekil 4.8.	Karaciğerde görülen histopatolojik değişimlerin şiddeti..... 33
Şekil 4.9.	Normal görünümdeki karaciğer dokusu, kontrol grubu (Grup I). Karaciğer. Normal histolojik görünüm. HE. 20 µm..... 34
Şekil 4.10.	Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. (STZ-NA; Grup II) HE. 20 µm 34
Şekil 4.11.	Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. HE. 20 µm.(STZ-NA+OM; Grup III) 35
Şekil 4.12.	Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. HE. 20 µm (Boş boncuk; Grup IV)..... 35
Şekil 4.13.	Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. HE. 20 µm (Metformin HCL içeren AL-CS boncuk; Grup V)..... 36
Şekil 4.14.	Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. HE. 20 µm (Metformin HCl içeren AL boncuk, Grup VI)..... 36
Şekil 4.15.	Normal görünümdeki langerhans adacığının çapı ve insülin β immunpozitif hücreler. IHC.20 µm. (Kontrol, Grup I)..... 39
Şekil 4.16.	Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 µm. (STZ-NA; Grup II)..... 39
Şekil 4.17.	Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 µm. (STZ-NA+OM; Grup III)..... 40
Şekil 4.18.	Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC. 20 µm.(Boş boncuk; Grup IV)..... 40
Şekil 4.19.	Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 µm. (Metformin HCl içeren AL-CS boncuk, Grup V)..... 41

Şekil 4.20. Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 μm . (Metformin HCl içeren AL boncuk; Grup VI)..... 41



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>		<u>Sayfa No</u>
Tablo 4.1.	Langerhans Adacıklarının Çapı.....	37
Tablo 4.2.	Langerhans Adacıklarındaki İnsülin Pozitif β Hücre Sayısı.....	37



1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) insülin hormonunun salgılanmasında, etkisinde veya her ikisindeki bozukluklar sonucu, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluğa bağlı olarak gelişen, kronik hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır.¹⁻³ Genetik özellikler, çevresel faktörler ve yaşam tarzındaki değişikliklerin sonucu insülin eksikliği veya etkisizliği hastalığın gelişimine sebep olur.^{1,3,4} Zamanında kontrol ve tedavi edilmediğinde akut veya kronik komplikasyonlara sebep olarak, morbidite ve mortaliteyi olumsuz etkileyerek halk sağlığı açısından önemli sorunlar oluşturmaktadır.^{1,3,5}

DM, dünyada oldukça yaygın ve epidemik hale gelmiş bir hastalık olup, prevalansı her geçen gün engellenemeyen bir şekilde artmaktadır.⁶⁻⁸ Diyabet sıklığının artışı ile birlikte komplikasyonları da artmakta ve her yıl bu kronik komplikasyonlarından dolayı 3 milyon insan ölmektedir.^{6,7} 2000 yılında 171 milyon olan diyabetli insan sayısı 2007’de 246 milyon, 2010’da 285 milyon olmuş ve 2030 yılında 438 milyon olacağı tahmin edilmektedir.^{6,9} Türkiye’de ise DM prevalansı %13.7 olarak bulunmuştur.¹⁰ Birçok ülkede ölüme neden olan hastalıklar arasında beşinci sırada yer alan DM etiyojisi oldukça karmaşıktır ve halen tam bilinmemektedir.^{11,12}

DM yüksek oranlarda mortalite ve morbiditeye neden olması ve yaygınlığının yanı sıra, ülkelerin sağlık harcamalarında da önemli mali yük getiren bir hastalıktır. DM ve komplikasyonlarının tanısı, tedavisi ve bakımı için her yıl dünya genelinde 166 milyar Avro bütçenin harcandığı bilinmekte, 2025 yılında ise bu rakamın 216 milyar Avro’ya ulaşacağı tahmin edilmektedir.¹³ Amerika Birleşik Devletleri, sağlığa harcadığı her 5 doların 1 dolarını diyabetik hastalara harcamaktadır.¹⁴ Diğer ülkelerde de ulusal sağlık bütçesinin her yıl %2.5-15’inin diyabetin doğrudan maliyetlerine harcandığı görülmektedir.¹⁵ Diyabet tanısı konulmuş bir hastanın ortalama yıllık maliyeti

Avrupa'da 2.800 Avro'dur.¹⁶ ABD'de ise 12.000 Dolar civarındadır.¹⁷ Türkiye'de diyabetin maliyeti hakkında yapılmış araştırmalara ait bilgiler ne yazık ki bulunmamaktadır. Akalın ve ark.¹⁸ tarafından 1998'de yapılan ve üçüncü basamak sağlık kuruluşunda yaklaşık bin olguyu kapsayan çalışmada diyabet hastalarının yıllık tıbbi maliyeti 1100-2100 Dolar olarak bulunmuş ve bu maliyetin yaklaşık yarısının tedavi maliyetlerinden kaynaklandığı görülmüştür. Diyabetik komplikasyonu olan hastalarda bildirilen bu maliyetlerin 3 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir. Araştırmaların özelliği ve yöntemlerine göre diyabetin ülkeye direkt maliyetinin 1 ile 2.5 milyar Dolar olduğu tahmin edilmiştir.

Birçok organda bozukluklara sebep olarak yaşam kalitesini düşüren ve pahalı tedavi gerektiren bir hastalık olan diyabet konusunda çok sayıda çalışma yapılmakta ve bu çalışmalar tüm dünyada en fazla desteklenen ve ilgi çeken araştırmalar arasında yer almaktadır. Ayrıca tedavi için günde birkaç kez insülin enjeksiyonu, günümüzde hekimleri özellikle oral antidiyabetik ajan kullanımına yöneltmiştir. Ancak, bu etkin maddelerin fazla olan yan etkilerini azaltmak, tedavi etkinliğini ve hasta uyuncunu artırmak üzere ilaç taşıyıcı yeni sistemler (boncuk, mikroküre, nanopartikül gibi) ile ilgili çalışmalar yoğun bir şekilde gerçekleştirilmektedir.

Bu çalışmada, Tip 2 diyabet oluşturmak üzere STZ (40 mg/kg) ve NA (120 mg/kg) uygulanmış sıçanlarda meydana gelen patolojik değişiklikler, metformin HCl-yüklü boncukların karaciğer ve pankreas üzerinde ki erken dönem etkileri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes mellitus (DM)

2.1.1. Tanımı

DM, genetik ve immün yapının neden olduğu bir çok faktörler sonucu, pankreasın β hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun sekresyonundaki yetersizlikten ya da insülinin perifer dokularda etkisinin azalmasından ileri gelen, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmalarında bozukluklara yol açan, hemen hemen tüm sistemlerde komplikasyonlara neden olan ve kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır.^{1-4,19,20} DM, insülin hormonunun gerçek veya göreceli yetersizliği yanı sıra, diğer hormonların antagonistik etkisiyle de oluşabilir.³ Bu nedenle, DM çeşitli nedenlere bağlı oluşan bir sendrom veya heterojen bir hastalıklar grubudur.^{1,19} DM’de vücutta fiziksel bir hastalık gelişmesinin yanı sıra, hastada ruhsal ve sosyal sorunlarda meydana gelebilmektedir.²¹ Diyabetin görülme sıklığı yaş ilerledikçe artmaktadır. Kadınlarda ve şişmanlarda daha sık görülür ve diyabetik nüfusun %85’ i şişmandır. Gebelik diyabetojen bir faktör olup, fazla hamilelik ve doğum diyabete yatkın kişilerde hastalığın oluşmasına neden olur. Dengesiz ve yetersiz beslenme, enfeksiyonlar, cerrahi operasyon, anestezi stresleri ve bilinçsiz ilaç kullanma da diyabetin oluşumunu etkileyen faktörlerdir.²²

İnsanlarda en sık görülen endokrin hastalık olan diyabet^{23,24}, ailesellik, insülin cevabı ve orijin yönünden farklı olan primer ve sekonder diyabetik olmak üzere iki majör varyanta ayrılırlar. Primer (idiopatik) form da kendi içerisinde Tip I (insüline bağımlı diyabet) ve Tip II (insüline bağımlı olmayan diyabet) DM diye ikiye ayrılır.^{1,2,19}

DM teşhis kriterleri ve sınıflandırması kabul edilen Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADC) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) raporlarına göre yapılmaktadır.⁴ DM için kabul gören geniş kapsamlı ilk sınıflama 1980’de DSÖ tarafından yayınlanmış ve 1985’ de

yenilenmiştir. DM; patogenez, prognoz ve tedaviye yanıt açısından farklı birçok hastalığı kapsadığı için, glukoz intoleransı olan hastaların sınıflamasında standardize sınıflama ve tanısal kriterlerin kullanılması gerekir. ADC Temmuz 1997’de tanı ve sınıflama kriterleri yayınlamıştır. Bu kriterler 2003 ve 2005 yıllarında yeniden güncellenmiştir.^{25,26} ADC’ nin yayınladığı kılavuza²⁷ göre diyabet 4 klinik sınıfa ayrılmıştır:

- 1- Tip I DM (mutlak insülin eksikliğine yol açan Q hücre destrüksiyonuna bağlı)
- 2- Tip II DM (insülin rezistansı ile beraber progresif insülin sekresyon defektine bağlı)
- 3- Gestasyonel DM (GDM) (gebelik sırasında tanısı konan)
- 4- Diğer nedenlere bağlı spesifik diyabet tipleri: Genetik Q hücre fonksiyon defektleri, insülin etkisinde genetik defektler, ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibrozis gibi), ilaç veya kimyasal maddelere bağlı.

Bu formları tek tekaçıklamadan önce, pankreas ve normal insülin metabolizmasından kısaca bahsetmek yerinde olur. Çünkü insülin salınımının ve etkilerinin hastalığın patogenezinde büyük önemi vardır.^{1,19}

2.1.2. Pankreas

Pankreas, karaciğer ve midenin gerisinde, kolumna vertebralis’in ventralinde, duodenumun dorsalinde yer alır ve travmaya karşı oldukça iyi korunmaktadır. Pankreas, gelişmekte olan duodenumdan köken alan dorsal ve ventral iki divertikulumdan şekillenir. Ventral taslak pankreasın sağ lobunu, dorsal taslak da sol lobunu oluşturur. Pankreasın ventral taslağından duktus pankreatikus, dorsal taslağından da duktus aksesorius gelişir. Pankreas soluk kırmızı renkte ve elastiki kıvamda olup ince bağ doku septumları ile birbirinden ayrılan lübüler bir yapıya sahiptir.^{19,28}Yaptığı salgılar

bakımından, ekzokrin ve endokrin pankreas olarak ikiye ayrılır^{1,19,28} ve aslında bir organ içerisinde iki organ gibidir.¹

Ekzokrin Pankreas; organın yaklaşık %80-90'nını oluşturan bu kısmı, asiner bez yapısındadır ve proteinlerin, karbonhidratların ve yağların parçalanmasında rol oynayan önemli sindirim enzimlerini salgılar.^{1,19,28} Pankreas salgısında yer alan bu enzimler, amilaz, lipaz ve proteolitik özellikteki tripsin, kimotripsin ve karboksipeptidaz enzimleridir²⁸. Ekzokrin pankreasın en belirgin hastalıkları; kistik fibrozis, akut ve kronik pankreatit ve karsinomlardır. Bu hastalıklar klinik olarak nispeten nadir rastlanmakla birlikte, ortaya çıktıkları zaman yaşamı tehdit edici niteliktedirler.¹

Endokrin pankreas; insülin, glukagon ve diğer bazı hormonları salgılayan Langerhans adacıklarından oluşur.^{1,28} Kapillar bir yumakla sarılmış olan bu adacıklar pankreas ağırlığının %1-3'ünü oluştururlar ve sayıları normalde 750.000 -3.75.0000 arasında değişir.²⁸ Langerhans adacıklarında; boyanma özellikleri, granüllerin ultrastrüktürel yapıları ve hormon içerikleri sayesinde ayırtedilebilen özel sekresyon yapan değişik tip hücreler yer alır.^{1,28} Bunlar arasında, en yoğun 4 hücre tipi; alfa, β , delta ve gama (pankreatik polipeptid) hücreleridir.¹ Alfa hücreleri adacıkların periferinde yer alır ve hücre popülasyonunun yaklaşık % 5-30'unu oluşturur. Bu hücreler kan şekerini yükselten glukagon hormonunu salgılar. β hücreleri adacıklardaki hücre popülasyonunun yaklaşık % 60-70 'ini oluşturur ve kan şekerini düşüren insülin hormonunu salgırlar.^{1,3,28} Delta hücreleri adacık hücre popülasyonunun %2-10'unu meydana getirirler^{1,3} ve iki alt tipi mevcut olup; biri somatotropin, diğeri ise vazoaaktif intestinal polipeptidi üretirler.²⁸ Adacıklarda yer alan gama hücreleri pankreatikpolipeptid salgırlar.^{19,28} Pankreatik polipeptid hücreleri sadece adacıklarda lokalizeolmayıp, pankreasın ekzokrin bölümünde de dağınık olarak bulunurlar ve bütün hücrelerin % 1-2'sini oluştururlar. Ürettikleri polipeptidin gastrik ve intestinal enzim

sekreasyonu ve intestinal hareketin inhibisyonu gibi etkileri vardır.¹ Enterokromafin hücreleri ise serotonin salgılar.^{19,28} Ekzokrin ve endokrin pankreasta yüksek bir rezerv kapasitesi bulunduğundan, organın ya da Langerhans adacıklarının büyük bir kısmı yıkılmamadıkça metabolik bozukluklar belirlenmez.²⁸

2.1.3. İnsülin

İnsülin salgısının en önemli görevi kan glukozu seviyesini düşürmesidir.¹⁻³ β hücrelerinden insülin salımı, iki fazlı bir işlemdir. İnsülin salımını sağlayan en önemli uyarı, aynı zamanda insülin sentezini de başlatan glukozdur. Kan glukoz seviyesindeki bir artış, β hücre granüllerindeki depolardan ani bir insülin salımını başlatır. İntrasellüler metabolizmada glukozun başlattığı alterasyonlar, otonom sinir sisteminin normal kolinerjik etkileri ile birleşerek β hücrelerinden insülin sekresyonunu sağlar.¹ İntestinal hormonlar, bazı aminoasitler (lösin, arjinin) ve sulfonilüreler gibi ajanlar insülin salımını başlatır, fakat bu ajanların sentezi üzerinde etkisi yoktur. Eğer sekretuar uyarı devam ederse, geçikmiş ve uzamış bir cevap görülür. Bu olayda aktif insülin sentezi söz konusudur.

İnsülin anabolik hormonların başında gelir ve şu olayların gerçekleşmesinde gereklidir:

1. Glukoz ve aminoasitlerin transmembran ulaşımı,
2. Karaciğer ve iskelet kaslarında glikojen oluşumu,
3. Glukozun trigliseridlere dönüştürülmesi,
4. Nükleik asit sentezi,
5. Protein sentezi.

İnsülinin başlıca metabolik fonksiyonu vücutta bazı hücrelerin içerisine glukoz transport hızını artırmasıdır. Bunlar miyokardiyal hücreler, fibroblastlar, yağ hücreleri

ve çizgili kas hücreleridir. Bu hücrelerin toplamı vücut ağırlığının üçte ikisini oluşturmaktadır.^{1,2}

İnsülin, reseptörüne bağlandığında, hedef hücre ile etkileşime girerve glukoz transport üniteleri plazma membranından Golgi sistemine geçer. Bu olay hücresel glukoz alımını sağlar. Yemek sonrası kan plazma insülin ve glukoz düzeyi yükseldiğinde, glukoz karaciğer hücrelerine girer; insülin yüksek, glukoz düşüklüğünde ise, glukoz insülin vasıtası ile hücreye girer ve normoglisemi oluşur.³

2.1.4. Etiyoloji

Bu hastalığın bazı formları spesifik etiyoloji veya patojenez ile karakterize iken, en yaygın formlarında bile hastalığın etiyolojisi hala net değildir ve hastalık kendi doğal seyri esnasında çeşitli klinik evrelere doğru ilerler. Klinik evrelere göre ve etiyoloji hakkında sınırlı bilgiler olmasına rağmen hastalığın geliştiği kişiler hastalığın değişik etiyoloji ve özellikleri açısından sınıflandırılabilirler.²⁹

Tip I DM: Bu tip hastalığın oluşumu pankreas hücre bozukluğu, yetersizliği veya yokluğu ile ilgilidir. Bu nedenle, insülin eksikliği hücre yetersizliğine bağlıdır.² Adacık hücre yıkımından birbirine bağlı üç mekanizma sorumludur. Bunlar; genetik eğilim, otoimmunité ve çevresel faktörlerdir.¹

Genetik Yatkınlık: Tip I diyabet, en sık Kuzey Avrupa soyundan gelen kişilerde rastlanır. Amerikan yerlileri ve Asyalılar dahil diğer ırklarda daha seyrek görülür. Bazı ailelerde de yoğunluk gösterir ve Tip I diyabeti olan kişilerin birinci derece yakın akrabaların çocuklarının %6'sında bu hastalık görülmektedir.¹ Kalıtımın başlıca etkenlerden biri olduğu konusunda genel bir görüş olmakla birlikte kalıtım şekli kesin olarak belirlenememiştir.³

Otoimmunité: Tip I diyabetin başlaması, β hücrelerine karşı gelişen, yıllar öncesi başlayan ve hala devam eden otoimmun saldırı sonucudur ki klinik belirtileri görülmez.¹

Çevresel Faktörler: Çevresel faktörler ya β hücrelerine zarar vererek ya da otoimmün reaksiyonları tetikleyerek etki ederler. Bu olayda viruslerin etkisi de olmaktadır.¹ Şişmanlık, stres, enfeksiyonlar, ağır operasyon geçirmek, tiroid, hipofiz ve ya sürrenal bezlerin aşırı çalışması gibi etkenler diyabeti açığa çıkarabilir veya varolan hastalığı ağırlaştırabilir. Pankreas adacıklarının yangı veya karsinomla yok olması ya da pankreasın çıkarılması diğer nedenler arasında gösterilmiştir.³

Tip II DM: Toplumda en sık görülen diyabettir (diyabetli hastaların ~%90–95’ini oluşturur). Pankreas hücreleri genelde normal yapısında ve kan insülin düzeyi normal sınırlarda yada artmış olabilir.² Özellikle obezitenin etkisi düşünüldüğünde hayat biçimi hastalığın oluşumunda önemlidir. Bu tipte genetik faktörler tip I diyabette olduğundan daha büyük önem taşımaktadır. Örneğin tek yumurta ikizleri arasında her ikisinde de görülme oranı %60- 80’dir. Tip I diyabetten farklı olarak, hastalığın HLA genleri ile ilişkisi yoktur. Epidemiyolojik çalışmalar, Tip II diyabetin birden fazla genetik defektin toplam bir sonucu olduğunu göstermektedir.¹Tip II DM için risk faktörlerinin başlıcaları şunlardır:1. Yaşlanma, 2.Cinsiyet, 3.Genetik faktörler, 4.Genetik karışma, 5. Ailevi kümelenme, 6.Genetik belirteçler, 7. Obezite ve vücut yağ dağılımı, 8. Fiziksel inaktivite, 9. Diyet, 10. Cinsiyet hormonları, 11.Alkol ve sigara kullanımı.³⁰

Sekonder Form:İki değişik sebebe bağlı olarak gelişir.

1. İnsülin yapımını olumsuz etkileyen nedenlerle ortaya çıkan bu form, pankreas nekrozu ve sirozu ile sonuçlanan pankreatitler, pankreas neoplazileri ve langerhans adacıklarını kapsayanamiloidozis gibi durumlarda görülür.

2. Pankreasla ilgili olmayan formu ise köpeklerde Cushing sendromu’unda görülür. Hipofiz ön lobu adenomundan salgılananAdrenokortikotropik hormon(ACTH) adrenal korteks etkisi ve kortikosteroid salımı ile veya adrenal korteks tümör bağlı olarak kortikosteroid salınımıyla oluşur. Hastalıkta lipid metabolizması bozulur ve gonadlar

zarar görür. Aşırı salınan glukokortikoidler yağlanma ve glikoneogenezisi artırır. Devamlı etkiler sonucunda Langerhans adacık hücrelerinin yapıları bozulur, hidropik dejenerasyona uğrar ve sonuçta insülin üretimi azalır.²

Diyabetin etiyolojisinde önemli bir yer tutan oksidatif stres, oksidan oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar yönünde bozulmasıdır. Oksidatif stres; yağlanma, kanser, kalp hastalıkları, diyabet ve diyabetin komplikasyonları başta olmak üzere pek çok patolojik durumun ve de yağlanmanın patogeneziyle yakından ilişkilidir. Diyabette oksidatif stres pek çok mekanizmaya bağlı olarak artabilmektedir, ancak bu mekanizmaların kesin katkısı tam olarak kanıtlanmış değildir. Çok sayıdaki deneysel bulgular artan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumunun ve zayıflayan antioksidan savunmanın mekanizmaların temelini oluşturduğu söylenmektedir.³¹ Yine diyabet sonucu oluşan oksidatif stres mekanizmasına bağlı olarak apoptozisin ortaya çıkabileceğini ve bu durumun da infertiliteye sebep olabileceği rapor edilmiştir.³²

2.1.5. Patogenez

Diyabetin patogenezinde ve komplikasyonlarında bir çok mekanizma öne sürülmüştür. Komplikasyonların temel nedeni olarak serbest radikaller, en çok kabul gören mekanizmalar arasındadır. Bu yüzden tedavide kullanılacak ilaç, antidiyabetik etkisini sağlarken, antioksidan dengeyi de desteklemelidir.³³

Hastalığın Patogenezinde;

1. β hücre harabiyeti ve fonksiyon bozukluğu,
2. İnsulin direnci,
3. Hepatik glukoz üretiminde artış gibi üç ana metabolik bozukluk sorumludur.^{30,34}

Hastalığın primer formuna ait Tip I ve Tip II diyabetin patogenezi farklılık gösterirler.^{1,2,19}

Tip I DM, esas olarak β hücre harabiyeti ve insülin salgısının oldukça yada tam olarak eksikliği ile karakterize bir hastalıktır.^{1,2,34,35} Bu tip diyabet daha çok çocuk ve gençlerde görüldüğünden juvenil diyabetes mellitus olarak ta tanımlanmaktadır.^{1,2} Tip I diyabet genelde çocukluk çağında gelişir ve ergenlikte kendini gösterir ya da daha şiddetli hale gelir. Bu durumdaki hastalar hayatlarını sürdürmek için insüline ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle insüline bağımlı DM adı verilir. İnsülin olmadığı zaman, hastalarda akut ketoasidoz ya da koma gibi ciddi komplikasyonlar gelişir.¹ İnsülin direnci, bozulmuş glukoz toleransı ve diyabetin gelişmesinde esas rol oynar ve obez bireylerde sık görülmektedir.^{34,35} Adacık hücre yıkımından etiyolojide de belirtildiği üzere; genetik eğilim, otoimmunité ve çevresel faktörler gibi birbirine bağılı üç mekanizma sorumludur. Tip I diyabetin bir yatkınlık geni, 6. kromozomda majör histokompatibilite kompleksinin sınıf II antijenlerinin bulunduğu (HLA-D) kodlandığı bölge bulunmaktadır. İlgili genlerin tip I diyabete olan yatkınlığı ne tür mekanizmalarla artırdığı henüz açıklık kazanmamıştır. Bununla birlikte sınıf II HLA genleri pankreatik β hücre otoantijenine karşı immün yanıtı etkileyebilir ya da bir β hücre otoantijeni, anormal immunolojik bir immunolojik reaksiyona neden olacak şekilde sunulabilir. Adacıklarda diğér hücre tipleri korunurken, β hücreleri seçici bir şekilde yıkımlanırlar. Tip I diyabette, β hücre kaybının nedeni, otoimmunité ve bağışıklık sistemi kaynaklı hasardır.^{1,3}

Tip II DM, çok daha sık rastlanan bir tip olmasına rağmen, patogenezi hakkında çok daha az şey bilinmektedir.¹ İnsüline bağılı olmayan bu tip diyabette insülin, hedef hücreler üzerinde etkili olamamaktadır.² Yine, Tip II diyabette karakterize olan iki metabolik defekt; insülinin β hücrelerinden düzensiz sekresyonu ve periferdeki dokuların insüline cevapsızlığıdır (insülin direnci). Tip II diyabetin erken dönemlerinde, hiperglisemiye karşı β hücre cevabındaki düzensizliklerin, insülin sentezi

yetersizliğinden daha etkin olduğu görülürken, hastalığın daha sonraki dönemlerinde, hafif ya da orta derecede bir insülin eksikliği mevcuttur. Bu, tip I diyabettekinden daha az şiddettedir. Tip II diyabetteki insülin eksikliğinin nedeni henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır. Ancak geri dönüşümsüz bir β hücre hasarı söz konusudur. Tip I diyabetten farklı olarak, bu tip diyabette adacık hücrelerinde viral ya da immun sistem kaynaklı bir hasara ait bir kanıt yoktur. β hücreleri de dahil olmak üzere bütün somatik hücreler genetik olarak yıkımlanmaya yatkındırlar ve bu durum β hücrelerinde azalmaya yol açmaktadır. Kronik hiperglisemi sürekli β hücrelerinde uyarılmaya neden olarak, bu hücrelerde bir yorgunluğun oluşmasını sağlamaktadır. Tip II diyabetin gelişmesinde diğer önemli bir faktörün insülin direnci olduğudur. Ancak oluşan bu direncin hücresel ve moleküler reaksiyonları henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır. İnsülin reseptörlerinin sayısında bir azalma ve reseptör sonrası sinyallerde düzensizlik vardır. Bu mekanizmalar sonucu oluşan insüline direnç, dolaşımdaki insülinin, glukozun yeterli kullanımını sağlayamamasını, daha uzun süreli hiperglisemi ve pankreatik β hücrelerin daha uzun süreli uyarısı gibi sonuçları doğurmaktadır.^{1,35} Tip II diyabetin oluşumunda obezite son derece önemli bir çevresel faktördür ve bu tip diyabetlilerin %80'i obezdir.^{1,22}

Son zamanlarda, Tip II diyabetin patogenezinde amilinin rolü ilgi odağı olmuştur. Normalde β hücreleri tarafından üretilen bu protein insülin ile birlikte salgılanır. Tip II diyabetli hastalarda, amilin β hücreleri dışında, sinuzoidal boşlukta birikir amiloidin boyama özelliği taşır. Sonuç olarak, Tip II diyabet hem bozulmuş insülin salımının hem de son organ duyarsızlığının neden olduğu kompleks ve multifaktörel bir hastalıktır.¹ Kuhad ve Chopra³⁶ da STZ ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda, diyabete bağlı önemli bir mikrovasküler komplikasyonu olan diyabetik nöropatik ağrının azaltılmasında likopenin olumlu etkisini bildirmişlerdir. Doku donör

sıkıntısını aşmak için, bir strateji olarak insülin üreten β hücreleri ya da β hücre benzeri çok sayıda hücreler oluşturmak amacıyla, hücre kültürlerinde çoğaltılmış adacık hücreleri implantasyonunun unsıçanlarda diyabeti iyileştirip iyileştirmeyeceğini incelemek için yapılan çalışmada, adacık hücrelerinin implantasyonu diyabet için umut verici hücresel tedavi yaklaşımı olduğu rapor edilmiştir.³⁷

2.1.6. Bulgular

Hastaların önemli bir kısmında hastalığa ait herhangi bir bulgu saptanmaz ve çoğu defa sinsi bir başlangıç gözlenir. Bu nedenle hasta kan şekerinin belli bir değeri geçmesinden sonra hastalığa ait ortaya çıkan belirtilerle hekime başvurur. Bazen de hastalık akut veya kronik komplikasyonlar ile kendini gösterir. Anemnezde hastaların ailesinde çoğunlukla var olan diyabet öyküsü anlatılır. Hastalığın ortaya çıkış yaşı genellikle 40 yaşın üzerindedir. Hastaların yaklaşık %85'i obezdir ve bu obezlik abdominal özelliktedir. Bazı olgularda kısa sürede fazla kilo artışı ile bozulmuş glukoz toleransı şeklindeki hastalık aşikâr diyabete dönüşebilir.^{4,20,38}

Karakteristik klinik bulguları; 20 yaşından önce başlayan Tip I diyabetli hastalarda; kronik hiperglisemi, poliüri, polidipsi, polifaji ve ketoasidoz görülür.^{1,3,38} Poliüri; plazma glukoz konsantrasyonu, böbrek glomerüllerinin glukoz için eşiği olan 180 mg/dl'yı aşması sonucunda, plazma glukozunun idrara geçmesi ile oluşan osmotik diürece bağlı olarak gelişir. Polidipsi; poliüri nedeniyle oluşan hiperosmolariteye bağlıdır.^{4,20,38} İnsülin eksikliğinde glukozun kas ve yağ dokusu tarafından Emilimi azalır veya tamamen yok olur. Karaciğerdeki yedek glikojen depolarıda yok olur ve bunu ağır açlık hipoglisemisi ve glukozüri takip eder. Glukozüri ozmotik diürece başlatarak, poliüriye sebep olur. Bu durum ağır su ve elektrolit kaybına yol açarak susama merkezlerini harekete geçirir ve polidipsi meydana gelir. Polifaji ise, insülin eksikliği sonucu proteinlerin ve yağların anabolizmadan, katabolizmaya doğru yön değiştirmesi ile

olmaktadır. Artmış iştaha rağmen, katabolik etkiler sonucu kilo kaybı ve kas zayıflığı meydana gelir. Tip II diyabetli hastalarda da poliüri ve polidipsi görülür. Fakat bu hastalar genelde tip I diyabetli hastalardan daha yaşlı (40 yaş üzeri) ve daha şişmandırlar.¹

DM pankreastaki patolojik değişiklikler langerhans adacıkları ile ilgilidir ve olguların % 20' sinde genel histolojik yöntemlerle herhangi bir morfolojik değişiklik gösterilemez. Çoğu kez adacıklardaki değişiklikler hafiftir ve hastalığın klinik şiddeti ile bir ilişki bulunamaz.³ Diyabette, pankreasta makroskopik bir değişiklik olması seyrek olup bazen pankreas küçük (35 gr altında) bulunabilir. Makroskopik olarak fibrozis saptanabilir, ama lipomatozis önemli derecede değildir. Pankreas taşı bulunur veya bulunmaz. Diyabetle birlikte hemosiderin birikmesine bağlı olarak, pankreas pas gibi kahve renktedir. Hem adacıkların β hücrelerinde hem de asinüs hücrelerinde hemosiderin pigmenti birikebilir. Pankreasın 5/ 6 sı karsinom veya pankreatitis sonucu harap olursa diyabet oluşabilir. Ancak, langerhans adacıklarının büyük bir kısmı bezin kuyruk bölgesinde yerleştiğinden etkileşme az olur.^{1,3} Juvenil diyabet ile erişkin çağda başlayan diyabette görülen patolojik değişiklikler arasında belirgin farklılıklar vardır. Juvenil diyabette, adacık sayısında ve boyutlarında azalma görülür. Adacıkların çoğu küçük ve belirsizdir. β hücrelerinde taneciklerin tükenmesi görülür. Bazı olgularda fibrozis ve lökosit infiltrasyonu (insülitis) görülür. Özellikle T lenfositlerden oluşan bu infiltrasyon da tip I diyabette görülür. Erişkin çağda başlayan Tip II diyabette adacık sayısı genellikle normaldir ve hastaların yaklaşık %20'sinde belirgin bir patolojik değişiklik bulunmaz. β hücreleri normal veya orta derecede azalmıştır. Adacıklarda hyalin birikmesi gözlenebilir. Erişkin diyabette adacıklarda en sık görülen değişiklik amiloidoz'dur. Adacık hyalinizasyonu denilen amiloid birikmesi, adacık kapıllarları çevresinde birikir, adacık hücrelerine baskı yaparak onları iten, eozinofilik, amorf bir

materyal olarak gözlenir. Daha ileri dönemlerde adacıkları tamamen tıkar. Tedavi edilmemiş, yetersiz tedavi görmüş veya komadaki hastalarda bazen β hücrelerinde vakuolizasyon (glikogenezis) görülür.^{1,3,28} Adacıkların sayısındaki ve boyutlarındaki artış özellikle diyabetik anneden doğan nondiyabetik yenidoğanda görülen karakteristik özelliktir.¹

Pankreas dışındaki diğer organlarda da lezyonlar oluşur. Böbreklerde proksimal tubulusların ve henle kulbunun epitelyum hücrelerinde aşırı miktarda glikojen bulunur. Karaciğerde hepatositlerin sitoplazmalarında depolanmış glikojen miktarı azalmışken, çekirdeklerde artabilir ve çekirdekler cam gibi berrak görünür. Deri, çizgili kas ve kalpte de glikojen içeriği bakımından değişiklik görülür.³ Yapılan deneysel çalışmalarda karaciğerde, hafif düzeyde konjesyonlar, hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz şekillenmesi ve periportal alanlarda yangısal hücre infiltrasyonları varlığı rapor edilmiştir.³⁹⁻⁴¹

Diyabetin uzun süredeki etkileri, progresif gelişen spesifik komplikasyonlara yol açar. Bunlar, potansiyel körlüğe gidebilen retinopati, renal yetersizlikle sonuçlanabilen nefropati ve nöropati ile karakterize mikrovasküler komplikasyonlar ile miyokard infarktüsü, inme ve periferik arter hastalıklarını kapsayan makrovasküler komplikasyonlar olarak 2 grupta incelenebilir.⁴²

Diyabetin vasküler sistem üzerinde ağır etkileri vardır. Aorttan en küçük arterlere ve kapillerlere kadar her çeşit damar etkilenir. Küçük kan damarlarını tutan damar lezyonları (diyabetik mikroangiopati) yaygındır. Bu değişiklikler kapillerlerin bazal membranlarında diffüz kalınlaşması ile kapiller ve arteriol duvarlarında madde artışıdır. Aortta ve büyük ve orta çaplı arterlerde hızlı ve şiddetli ateroskleroz görülür.¹ Hipertansiyon ve lipid metabolizması bozuklukları diyabetli bireylerde yaygındır.⁴² Aterosklerotik lezyonlar erken yaşlarda görülebilen ve daha ağır olma

eğilimindedir. Ateroskleroza bağlı kroner arterlerin etkilenmesi ile myokard enfarktüsü, bacak damarlarının etkilenmesi ile de alt ekstremitelerde ve parmaklarda gangren şekillenebilir.^{1,42}Kardiyovasküler komplikasyonlar tip II DM hastaları arasında en önemli morbidite ve mortalite nedenidir.⁴³ DM bireylerde koroner arter hastalığı 2-4 kat artmıştır ve bu artış çeşitli etnik ve ırk gruplarını kapsayan birçok proseptif çalışma sonucu gösterilmiştir.⁴⁴

Diyabetik nöropati, diğer periferik nöropati nedenleri dışında, diyabetin seyrinde klinik veya subklinik düzeyde ortaya çıkabilen periferik sinir tutulumudur.⁴⁵ Diyabet tanısı konduğunda hastaların %10'unda nöropati bulunurken, 20 yılın sonunda bu oran %50 olmaktadır. DM'da nöropati prevalansı %5 ile %60 arasında bildirilmektedir.⁴⁶Kuhad ve Chopra³⁶ da streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda, diyabete bağlı önemli bir mikrovasküler komplikasyonu olan diyabetik nöropatik ağrının azaltılmasında likopenin olumlu etkisini bildirmişlerdir.

Diyabetik nefropati, diyabetin etkilediği hedef organlardan biri olan böbreklerin hasarı ve böbrek yetmezliği sonucu gelişir ve bu hastalığa bağlı ölüm nedenleri arasında myokardial enfarktüstten sonra ikinci sırada yer almaktadır. Glomeruler lezyonlar olarak, aterosklerozis, nekrotizan papillit ve pyelonefrit görülen üç önemli bozukluktur.^{1,42}Glomerüluslardaki kapillar bazal membranlar tüm damar boyunca kalınlaşma gösterirler. Diffüz glomerüloskleroz, mezangial hücre proliferasyonu ve beraberinde mezangial matrikste diffüz artış olarak tanımlanabilir ve her zaman bazal membran kalınlaşması ile ilişkilidir. Nodüler glomerüloskleroz, lobülün mezangial merkezindetop şeklinde matriks birikimleri sonucudur.¹ Diyabetin en önemli ve yaşam kalitesini bozan komplikasyonlarından olan diyabetik nefropati ilk defa 1936'da Kimmelsteil ve Wilson tarafından tanımlanmıştır.⁴⁷⁻⁴⁹ Genellikle böbrek yetersizliği ile sonuçlanır ve son dönem böbrek yetersizliğine yol açan en önemli neden de diyabetik

nefropatidir.⁵⁰ Diyabetik nefropati tip I veya tip II DM vakaların %30-50'sinde görülür.⁵¹ Son yıllarda diyabetik nefropati insidansı ve prevalansı giderek artmakta ve nefropatisi olan tip II DM hasta oranı tip I DM hastalarında görülen orana yaklaşmaktadır.⁵²

DM' de en belirgin tübüler lezyon proksimal tübüllerin distal bölümünde ve henle kulpunun çıkan kısmındaki epitel hücrelerinin glikojen depolamasıdır. Renal tübüler hücreler glukoz seviyesinin renal eşiğin üzerine çıkmasıyla glukozu aşırı miktarlarda resorbe ederler ve glikojen olarak biriktirirler.⁵³ Vardı ve ark.⁵⁴ özellikle korteksin medullaya yakın bölümlerinde tübül epitel hücre sitoplazmasında farklı çaplarda yoğun PAS(+) glikojen birikimine rastladıklarını ve melatonin verilen grupta ise tübüler glikojen miktarı diyabet grubuna göre azaldığını ve STZ verilen grupta izledikleri hidropik değişiklikleri gösteren hücre şişmesi ve intrasitoplazmik vakuolizasyon, melatonin grubunda hafiflemiş olduğunu çalışmalarında bildirmişler ve bu bulgular ile uyumlu olarak Cam ve ark.⁵⁵ da diyabetik sıçanlarda izlenen diffuz hidropik değişikliklerin, melatonin grubunda sadece belli alanlarla sınırlandığını raporetmışler. Patolojik olgularda ve deneysel diyabetik nefropatide ekstrasellüler matriks bileşenlerinin birikimi ile oluşan glomerular ve tübüler bazal membran kalınlaşması çeşitli araştırmacılarca belirtilmektedir.⁵⁵⁻⁵⁷

Yaşlı hastalarda periferik nöropati oluşma eğilimindedir ve periferik sinirlerde myelin kaybı alanları görülür. En sık olarak alt ekstremitelerde periferik simetrik nöropati meydana gelir. Yaygın görülen nöropati formu distal duysal ve otonomik polinöropatidir. Bu durum hem motor hem de duyu fonksiyonlarını etkiler.^{1,42,45,58} Ayrıca barsak ve mesane fonksiyonlarında bozulma ve seksüel impotansa neden olabilir. Beyinde gelişen mikroanjiyopatiler nöronal dejenerasyona yol açar. Ayrıca serebrovasküler enfarktüsler ve beyin kanamalarına eğilim dikkat çekicidir.^{1,42}

Hastalığın göz lezyonları retinopati, kararakt oluşumu ya da glokom şeklindedir. Görme bozukluğu ve bazende tam körlük, uzun süreli diyabetin en korkulan sonuçlarındandır.^{1,42,59,60,61} Proliferatif retinopatiözgün bir diyabet lezyonudur ve bir çok oftalmolojist tarafından diyabet için diagnostik olarak kabul edilen bir bulgudur. Proliferatif retinopatide bozukluk olarak retinada yeni damar oluşumu ve fibrozis gelişir ve olguların % 25'inde körlükle sonuçlanır. Non proliferatif retinopatide ise intraretinal ya da preretinkanamalar, mikro anevrizmalar, venöz dilatasyonlar, retinal eksudasyon, ödem ve retinal kapillerlerde kalınlaşma gibi bozukluklar şekillenir ki mikroanjiopati gelişir.^{1,3} 20 yıldan daha uzun süreli tip I diyabetlilerin hemen hemen hepsinde tip II diyabetlilerin ise %60'dan fazlasında değişik derecelerde retinopati görülür.⁵⁹ Günümüzde, gelişmiş batılı ülkelerdeki 40-65 yaş grubunda, diyabetik retinopati en sık körlük nedenidir.^{60,61} Glokom: Açık açılı glokom DM popülasyonda DM olmayanlara oranla 1.4 kat daha fazladır.^{62,63} Deri lezyonları olarakta pruritus vulva ve deri enfeksiyonları şekillenir.^{1,3}

Morbidite ve mortalite açısından bakıldığında, DM tüm diğer pankreas hastalıklarını geride bırakacak özelliكتedir.¹ Tipi ne olursa olsun, uzun süreli diyabetin morbiditesi; mikroanjiopati, nefropati ve nöropati gibi komplikasyonlardan kaynaklanmaktadır. Ayrıca myokardial infarktüs, serebrovasküler gelişmeler, bacakta gangren ve böbrek yetmezliği gibi ateroskleroz kaynaklı olaylar hayatı tehdit eden önemli diğer komplikasyonlardır. Deneysel ve klinik bulguların çoğu, diyabetin komplikasyonlarının metabolik dengesizliklerin, özellikle de hipergliseminin sonucu olduğunu göstermektedir. Diyabetik hastalar deri enfeksiyonlarına, tüberküloz, pnömoni ve pyelonefrite karşı ileri bir duyarlılığa sahiptirler ve bu tür enfeksiyonlar diyabetiklerin % 5'inde ölüme neden olur. Bu hastalıklar nedeniyle tip I diyabetli hastalarda, tip II diyabetli hastalara göre daha sık ölüm görülür.^{1,64} Tüm bu komplikasyonlar hem tip I

hem de tip II DM' de görülebilmekle birlikte bazı farklılıklar vardır. Tip II DM'lu hastaların mortalitesinde en çok suçlanan makrovasküler komplikasyonlar iken, tip I DM'lu nefropatiye bağlı oluşan kronik böbrek yetmezliği ölümlerin çoğunlukla sebebidir (1,10). DM hastaların immun savunma mekanizmaları genellikle bozulmuştur. Hiperglisemi ve asidoz, lokositlerin enfeksiyon bölgelerine migrasyonunun bozulmasına ve fagositik aktivitelerinin değişmesine neden olur.⁶⁵

2.1.7.Teşhis ve Tedavi

DM, anamnez, klinik muayene ve kurallara uygun serum veya plazma glukoz yoğunluklarının ölçülmesiyle konur.²⁶Diyabet açlık hiperglisemisi ile karakterize olmakla birlikte klinik olarak belirgin olmayan devrelerde, genellikle glukoz intoleransının olduğu dönemde, teşhis edilebilir.²⁹ADC kriterlerine göre diyabetin geçerli tanısı, açlık durumunda en az 2 defa ardaşık şekilde ölçülen venöz plazma örneğindeki glukoz düzeyinin 126 mg/dl olması ile konur. Yine açlıkveya tokluk durumuna bakılmaksızın günün herhangi bir zamanında ölçümü yapılan venöz plazma örneğindeki glukoz düzeyinin 200 mg/dl olmasıyla beraber poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı gibi diyabet semptomlarının varlığı ile OGTT' de 2 saatlik plazma glukozu 200 mg/dl (1.1 mmol/l) olması ile de diyabet tanısı konulabilir.^{38,66}

Günümüzde, DM laboratuvar ortamında yapılan tanısında şu kriterler kullanılmaktadır:

1. Açlık (bir gecelik) sırasında venöz plazma glukoz konsantrasyonlarının, birden fazla ≥ 140 mg/dl ya da daha yüksek seviyelerde saptanması.
2. 75 gr glukoz alımından sonra: I) ikinci saatteki venöz plazma glukoz konsantrasyonunun ≤ 200 mg/dl ya da daha yüksek ve II) en az bir plazma glukoz değerinin iki saatlik test sırasında ≤ 200 mg/dl ya da daha yüksek bulunması.¹

2.1.8. Streptozotosin and Nikotinamid

Bu tez çalışması kapsamında, STZ ve NA birlikte kullanılarak Tip 2 diyabet geliştirilmiş sıçanlara (tedavi uygulanmış ve uygulanmamış) ait organlar (karaciğer ve pankreas) incelenmiştir.

Streptozotosin (STZ) bir glukozamin-nitrozoüre bileşiktir. Nitrozoüre sınıfındaki diğer alkile edici maddelerde olduğu gibi, DNA hasarına sebep olması nedeniyle hücreler için toksiktir.⁶⁷ Streptozotosinβ hücrelerine yüksek toksisitesi nedeniyle bilimsel araştırmalarda, deney hayvanlarında intravenöz enjeksiyon ile diyabet geliştirilmesi için kullanılmıştır.^{68,69} STZ antineoplastik etkili bir antibiyotiktir.⁷⁰ 1960'larda STZ'nin pankreasın β hücreleri için seçici bir şekilde toksik olduğu tespit edilmiştir. Bu özelliğinden dolayı, diyabetik hayvan modeli oluşturulmasındaki kullanımı önerilmiştir.^{71,72} Özdemir ve ark.³⁹ STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, akut döneme ait patolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Vardı ve ark.⁵⁴ ise sıçanlara intraperitoneal STZ uygulaması sonrası (tek doz; 45 mg/kg) deneysel olarak oluşturdukları diyabet modelinde böbreklerde meydana gelen histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkilerini araştırmışlardır.

Karaboğa⁷³, STZ ile farelerde oluşturduğu deneysel diyabet çalışmasında astrositlerde yer yer proliferasyon yanısıra hücresel pleomorfizm ve hiperkromazi artışına dikkat çekmiştir. STZ sıçanların tedavisi marasmus, polidipsi, iştah, hiperglisemi ve hiperinsülinemiye yol açmıştır. Rathinam ve ark.⁷⁴, STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda pankreas ve karaciğerde oluşan histopatolojik bulgular ile β hücre koruyucu özellikleri için myrtenal etkinliğini araştırdıkları çalışmada, “myrtenal” ile tedavide adacık hücrelerinin normale yakın koşullarda onarıldığı, karaciğer yapısındaki değişikliklerinde önlendiği ve “myrtenal” maddesinin antihiperglisemik ve β hücre koruyucu etkileri olduğu ve yeni bir antidiyabetik madde olarak kabul edilebileceği

rapor edilmiştir. Weicheng Hu ve ark.⁷⁵ 'da, STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda, *Alnus hirsuta*, *Rosa davurica*, *Acanthopanax senticosus* ve *Panax schinseng*'den oluşan ve diyabet hastalığının tedavisinde kullanılan bir halk reçete formülasyonunun antidiyabetik etkilerini değerlendirmişler, STZ'ye bağlı olarak marasmus, polidipsi, iştah, hiperglisemi ve hiperinsülinemiye yol açmıştır. Buna ek olarak, diyabetik sıçanların pankreas β -hücrelerinin sayısında ve insülin seviyesinde belirgin bir azalma olduğu, yiyecek kaynağına HFE eklenmesinin, serum glukoz ve trigliserid seviyesini düşürdüğü ve pankreas adacık hücrelerinin normal histolojik görünümünü koruduğu tespit edilmiştir. Bundan dolayı, hipoglisemik ve hipolipidemik etkilerine bağlı olarak HFE'nin potansiyel güçlü bir antidiyabetik ajan olabileceği raporlanmıştır. Ismail ve ark.⁸ ise metforminin serum lipitleri, insülin rezistansı ile ilgili çeşitli genlerin ekspresyon seviyeleri, ayrıca, karaciğer ve pankreasta oluşturduğu histopatolojik değişimleri araştırmak üzere ratlarda Tip 2 diyabet modeli geliştirmek üzere STZ (35 mg/kg, i.p.) kullanmışlardır.

Nikotinamid (NA) hayvan diyabet modellerinde STZ'nin diyabetojenik etkilerine karşı koruyucu olarak kullanılmaktadır. Çünkü NA, poli [adenozin difosfat riboz] polimeraz aktivitesini inhibe eder, hücre içi nikotinamid adenin dinükleotid seviyelerini düzeltir ve nitrik oksit'in sitotoksik etkilerine karşı β hücrelerini korur.^{76,77} STZ ve NA'nın Tip II diyabet oluşturmak amacıyla birlikte farklı dozlarda (sıçanlarda 110-120mg/kg i.p., farelerde 150 mg/kg i.p.) kullanıldığı çalışmalar mevcuttur.^{78,79}

2.1.9. Metformin HCl

Metformin biguanid türevi olan ve Tip II diyabet tedavisinde yaygın olarak dünya çapında yaklaşık 120 milyon hastaya reçetelendirilmektedir.⁸⁰

Metformin antihiperglisemik ilaç olarak Amerika'da 1995 yılında onaylanmıştır. Metforminin esas etkisi hepatik glukoz çıkışını azaltmak, karaciğer ve diğer periferik

dokuların insüline karşı duyarlılığını ise artırmaktadır. Ayrıca, periferik dokular (iskelet kasları gibi) insülin-aracılı glukoz kullanımını artırırken, ince bağırsaktan glukoz absorpsiyonunu, plazma trigliserid ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) seviyelerini ve glukoneogenezi ise azaltmaktadır. Sonuç olarak, metformin net bir hipoglisemiye neden olmadan hem açlık hem de postprandial plazma glukoz seviyesini hızla düşürmektedir.⁸⁰⁻⁸³ Bunun yanı sıra, metforminin insülin reseptör ekspresyonu ve tirozin kinaz aktivitesi üzerindeki olumlu etkilerinin insülin duyarlılığının iyileştirilmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca, glukagon benzeri peptid-1'in plazma seviyesini artırırken peroksizom proliferatör-aktif reseptör- α 'ya bağlı olan bir mekanizma yoluyla da adacık inkretin reseptör gen ekspresyonunu indüklemektedir.^{77,80}

Metformin tedavisinin başlangıçta bulantı, kusma, diyare, gaz, karın ağrısı gibi istenmeyen yan etkiler oluşmakta ve bu nedenle, Metformin tok karnına alınır ve günlük maksimum dozu 3 g'dır, Ancak maksimum etki genellikle 1.5-2 g doz ile görülmektedir.^{84,85} Düşük dozla başlanarak yavaş bir şekilde doz artırılırsa genellikle iki haftalık süre sonrasında bu etkiler kaybolmaktadır. Uzun süreli kullanımda ise B12 vitamin eksikliğine ve nadir olarak laktik asidoza neden olabilmektedir.^{1,77,85-88}

Metformin nispeten düşük (%50-60) biyoyararlanıma ve kısa-değişken bir biyolojik yarılanma ömrüne (0.9-2.6 saat) sahiptir.⁸⁵ Bu nedenlerle, metforminin modifiye salım yapan dozaj şekillerinin hazırlanması metforminin biyoyararlanımını artırma, dozlama sıklığını ve yan etkilerini azaltma ve hasta uyuncunu artırma açısından faydalı olacaktır.^{77,89}

Metformin ile yapılan hayvan çalışmalarında metforminin yağlı karaciğer hastalığını düzelttiği, hepatomegali, steatozis ve aminotransferaz anormalliklerini geriletmediği gösterilmiştir.^{90,91} Metformin ile yapılan insan çalışmasında da verilen metforminin ortalama transaminaz seviyelerini azalttığı, insülin duyarlılığını önemli

derecede düzelttiği ve karaciğer büyüklüğünü %20 azalttığı gösterilmiştir.⁹² Yapılan çalışmalarda⁹³⁻⁹⁵ metforminin transaminaz seviyelerini normale döndürdüğü ve hedef organların histolojisinde iyileşme sağladığı bildirilmiştir. Diğer oral ajanlar ve insülinle kombinasyonunda da kilo artışı gözlenmez. Bu nedenle obez hastalarda ilk tercih edilen oral antidiyabetik bir ilaç olup, normal kilodaki hastalarda da glisemik kontrolü iyileştirdiği bildirilmiştir.^{21,96} Tip I diyabetli hastalara insülin tedavisine ilave olarak metformin uygulamışlar ve günlük insülin ihtiyacında azalma olduğunu göstermişlerdir.⁹⁷⁻⁹⁹

Metformin tedavisi alan obez, Tip II DM'li hastalarda mikrovasküler komplikasyonlarda, diyabete bağlı tüm son noktalarda ve mortalite hızlarında belirgin azalma saptanmıştır.¹⁰⁰ O yüzden kontrendikasyon yoksa obez, Tip II DM'li hastalarda ilk seçenek olarak kullanılması önerilmiştir. Metforminin diğer oral antidiyabetiklerden önemli bir farkı da kilo almayı önleyici etkisidir. Metformin tek başına kan şekerinde 60-70 mg/dL, HbA_{1c} düzeyinde %1.5-2 azalma sağlamaktadır. Metforminin bu etkileri yanında plazma lipid ve fibrinolizis üzerine olumlu etkilerinin görülmesi önemini iyice arttırmıştır.¹⁰¹

Birçok organda bozukluklara sebep olarak yaşam kalitesini düşüren, uzun süreli ve pahalı bir tedavi gerektiren bir hastalık olan diyabet konusunda, etiyoloji, patogenezis, tedavi ve korunmasına yönelik çok sayıda çalışma yapılmakta ve bu çalışmalar tüm dünyada en fazla desteklenen ve ilgi çeken araştırmalar arasında yer almaktadır. Diğer taraftan insülin kullanımının günde birkaç kez enjeksiyonu gibi uygulama zorluğu, günümüzde hekimleri özellikle oral antidiyabetik ajanların kullanımına yöneltmiştir. Bu sayılan sebeplerden dolayı diyabet özellikle beşeri hekimlikte olmak üzere veteriner hekimlikte de önemini uzun yıllardan beri kaybetmeyen bir konudur.^{1,6,17,55,73,102,103}

Bu alışmada, Tip II diyabet oluşturmak üzere STZ (40 mg/kg) ve NA (120 mg/kg) uygulanmış sıçanlarda meydana gelen patolojik değişiklikler ve metformin HCl-yüklü boncuklarının karaciğer ve pankreas üzerindeki erken dönem etkileri incelenmiştir.



3. MATERYAL VE METOT

Bu tez kapsamında kullanılan materyal ve gerçekleştirilen yöntemler aşağıda belirtilmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

Deneyssel olarak yapılan bu çalışmada, Atatürk Üniversitesi, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan 14.11.2013 tarih 6/145 protokol numarası ile etik onay alınmıştır (EK I). Çalışma için 180-250 g ağırlık aralığında erkek Sprague-Dawley cinsi 43 adet sıçan Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneyssel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM)'nden temin edildi.

3.2. Deneyssel Protokol

Deneyssel çalışma için sıçanlar rastgele seçilerek aşağıda belirtilen gruplar (6 grup) oluşturulmuştur. Deney hayvanlarının standart sıçan yemi ile beslenmeleri sağlanmış ve içme suyu şişeleri günlük olarak değiştirilmiştir. Tüm sıçanlar deney öncesi ve deney sonlanıncaya kadar deney hayvanları laboratuvarında 12/12 saat karanlık/aydınlık periyodunda, $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında barındırılmıştır.

Bu gruplar:

Grup I: Kontrol grubu, herhangi bir deneyssel işlem gerçekleştirilmemiş grup (n=6).

Grup II (STZ-NA): STZ (40 mg/kg; tek doz i.p., 1 mL) ve NA (120 mg/kg; tek doz i.p., 1 mL) ile diyabet oluşturulmuş hayvanlar (DM grubu) (n=8)

Grup III (STZ-NA+OM): Saf Metformin HCl çözeltisi (100 mg/kg; oral yolla) verilen diyabetik hayvanlar (n=6);

Grup IV. Boş boncuk formülasyonu verilen diyabetik hayvanlar (n=8)

Grup V. Metformin HCl içeren AL-CS boncuk formülasyonu (100 mg/kg metformin HCl'ye eşdeğer) verilen diyabetik hayvanlar (n=9)

Grup VI. Metformin HCl içeren AL boncuk formülasyonu (100 mg/kg metformin HCl'ye eşdeğer) verilen diyabetik hayvanlar (n=6)

Metformin HCl içeren boncuk formülasyonları diyabetik sıçanlara 100 mg/kg metformin HCl'ye eşdeğer olacak şekilde oral yolla uygulanmıştır.

Diyabet oluşturmak için STZ (Sigma) enjeksiyonundan bir gece önce, sıçanlara yem verilmesi kesilerek sadece su verilmiştir. STZ enjeksiyonundan önce sıçanların başlangıç ağırlıkları (g) ve bazal kan glukoz değerleri (mg/dL) glukometre (On.Call® Plus, Acon Lab., Inc. Amerika) ile ölçülmüştür. Daha sonra, Grup I dışındaki gruplara ait sıçanlarda diyabet oluşturmak için, hemen deney öncesi pH 4.5 soğuk sitrat tamponu içinde hazırlanmış STZ çözeltisi (1 mL; 40 mg/kg dozda) sıçanlara i.p. olarak enjekte edilmiş ve bu enjeksiyondan 15 dakika sonra hemen uygulama öncesi hazırlanan NA'nın % 0.9'luk NaCl içerisindeki çözeltisi (1 mL) i.p. olarak hayvanlara (120 mg/kg) verilmiştir. Uygulamanın 7. gününde kuyruk veninden alınan kan örneklerinde açlık kan glukoz düzeyi >126 mg/dL olanlar diyabetik (Tip II) olarak kabul edilip çalışmaya dâhil edilmiştir. Daha sonra, metformin çözeltisi ve boncuk formülasyonları oral olarak uygulanmış ve bu uygulamadan 72 saat sonra sıçanlar sevofluran anestezisi altında uyutularak organları alınmıştır.

3.3. Makroskopik İncelemeler

Sıçanların ötenazi sonrası nekropsileri yapılarak organların (pankreas, karaciğer) makroskopik muayeneleri gerçekleştirilmiştir.

3.4. Histopatolojik İncelemeler

Nekropsi sonrası, mikroskopik incelemeler için pankreas ve karaciğer dokuları %10'luk tamponlu formalin solüsyonuna alınmıştır. Örnekler üzerinde yapılan Laboratuvar işlemleri Erzurum Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Patoloji Laboratuvarına getirilen doku örneklerinin iyi tespit edilebilmesi için iki aşamalı bir uygulama gerçekleştirilmiştir. 1. tespit işleminden sonra küçültülen dokulara 2. tespit işlemi uygulanmış ve sonra sürekli

akan musluk suyu altında yıkamaya bırakılan dokular formalin kalıntılarından arındırılmıştır. Blok büyüklüğünde ve 0.5 cm kalınlığında hazırlanan doku parçaları otomatik takip cihazında (SHANDON Citadel 1000) dehidrasyon, şeffaflandırma ve parafinizasyon işlemleri amacıyla alkol ve ksilol serilerinden geçirilmiştir. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotomla (Reichert-Rotary) 5 mikron kalınlığında kesitler alınmış ve sağlanan tüm kesitler Hemotoxilen-Eosin boyama yöntemi ile boyanmıştır.¹⁰⁴

Hazırlanan preparatların mikroskopik muayeneleri Olympus BX51(DP72 kamera ataçmanlı) marka ışık mikroskobu ile yapılmıştır. Işık mikroskopunda incelenen rastgele 10 sahadaki kesitlerde ait gözlenen histopatolojik bulgular; pankreasın langerhans adacıklarının atrofik görünümüne göre; normal (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++), karaciğer ise nekrotik ve dejeneratif değişiklikler yönünden yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirilmiştir. Gerekli görülen kesitlerin mikroskopik fotoğrafları çekilmiştir.

3.5. İmmunohistokimyasal İncelemeler

Pankreasın langerhans adacıklarındaki β hücrelerinin insülin immunpozitifliği Streptavidin-Biotin Kompleks metoduna göre immünohistokimyasal olarak ilgili firmanın önerdiği şekilde yapılmıştır (LSAB+ System- HRP, DAKO Carpinteria, USA). Bu amaçla polilislinli lamlara alınan kesitler ksilol ve alkol serilerinden geçirilmiş, sonra kesitler PBS (phosphate buffer solution) ile yıkanmış ve %3'lük H_2O_2 'de 10 dk. tutularak endojen peroksidaz inaktivasyonu sağlanmıştır. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için antijen retrieval solüsyonu ile 2x5 dk 500 watt'da mikrodalgada muamele edilmiştir. Daha sonra, PBS ile yıkanan dokular 37° C' de 30 dk. süreyle Anti-insülin primer antikoruyla (1/1000) (Monoklonal Anti-İnsülin Antibody, Katalog No: I2018, SIGMA) inkube edilmiştir. İnkubasyon sonunda PBS ile yıkanan dokular biyotinlenmiş antikor ve Streptavidin- HRP'de 15'er dk. Bekletilmiştir. Kromojen olarak 3,3

diaminobenzidine (DAB) kullanılmıştır. Yaklaşık 2 dk. kromojende bekletilen kesitler saf su ile yıkandıktan sonra Mayer'in hematoxileni ile zıt boyama yapılmış ve kesitler üzerine entellan damlatılarak ışık mikroskopunda incelenmiştir.

Karatuğ¹⁰⁵ 'un uyguladığı yöntemin modifikasyonuna göre değerlendirme yapılmıştır. Bu amaçla immunohistokimyasal olarak pankreastaki rastgele 10 sahadaki langerhans adacıklarının çapları ve insülin immunpozitif β hücrelerin sayıları belirlenerek her bir hayvana ait ortalama sayısal değerler aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir.

$$\text{Ortalama değer (çap}/\mu) = \frac{\text{Langerhans adacıklarının toplam çapı}}{\text{Langerhans adacıklarının toplam sayısı}}$$

$$\text{Ortalama değer (hücre sayısı)} = \frac{\text{Langerhans adacıklarındaki toplam hücre sayısı}}{\text{Langerhans adacıklarının toplam sayısı}}$$

3.6. İstatiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede SPSS 20.0 programı kullanılmıştır. Histopatolojik incelemede pankreastaki langerhans adacıklarının atrofik görünümü ve karaciğerdeki nekrotik-dejeneratif değişikliklere ait verilerin gruplar arası farklılığı Kruskal Wallis testi, farklılığı oluşturan grupların tespiti Mann Whitney U testi ile belirlenmiştir. İmmunohistokimyasal olarak elde edilen parametrik verilerin değerlendirilmesinde ise One-Way ANOVA ve gruplar arası farklılığın istatistiksel önemi Tukey HSD testi ile incelenmiştir. ($p < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmektedir).

4. BULGULAR

Deneysel olarak yapılan bu çalışmada, oluşturulan Tip IIDM'de pankreas ve karaciğerde şekillenen patolojik bulgular ve etkin madde/etkin madde içeren taşıyıcı sistemlerin uygulanmaları sonucu gözlenen değişikliklerincelenmiş ve saptanan makroskobik ve mikroskobik özellikteki patolojik bulgulara ait bulgular aşağıda verilmiştir.

4.1. Makroskobik Bulgular

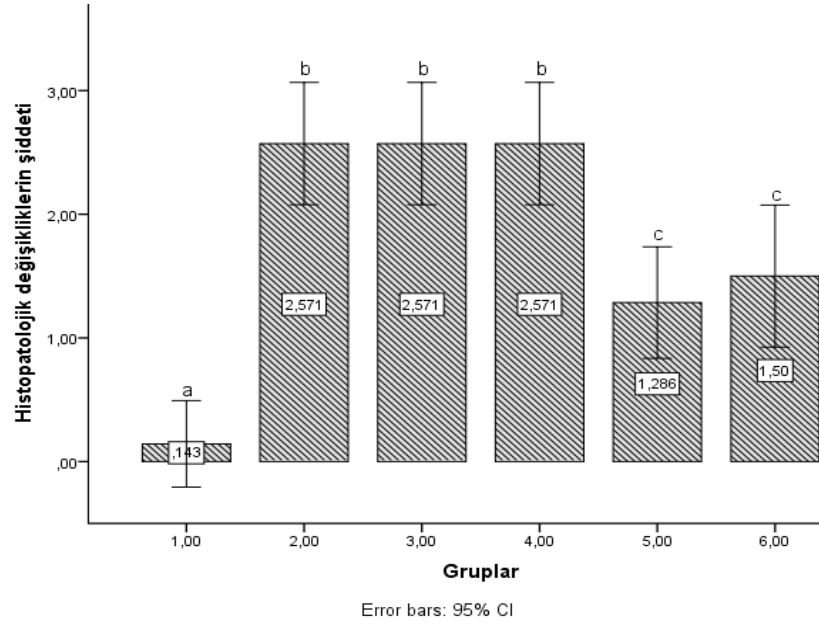
Ötenazi sonrası nekropsileri yapılan sıçanların organları (pankreas ve karaciğer) herhangi bir makroskobik lezyon olup olmadığını saptamak üzere incelenmiş ve dikkat çekici bir bulgu gözlenmemiştir.

4.2. Mikroskobik Bulgular

Alınan doku örnekleri üzerinde histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler yapılmıştır.

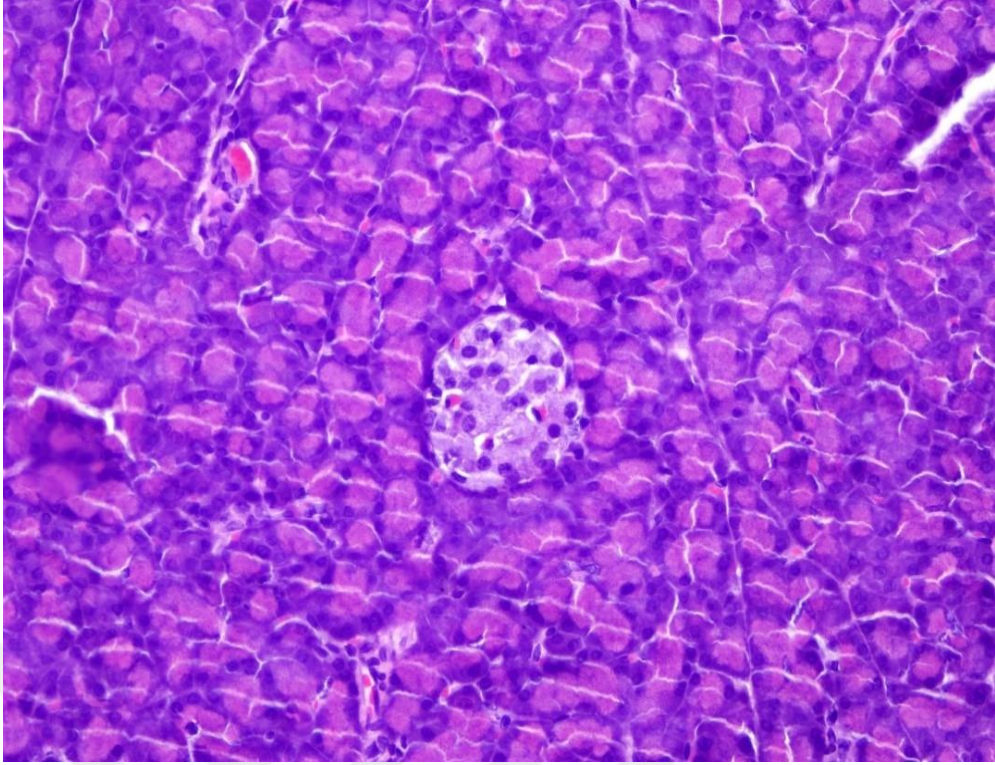
4.2.1. Histopatolojik Bulgular

Pankreasın histopatolojik incelemesinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında langerhans adacıklarının atrofik görünümü şiddetiyönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1) $p<0.05$. STZ-NA ve STZ-NA+OM grupları (Grup II ve III) arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Şekil 4.1) $p>0.05$. Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyonlarının verildiği gruplar (Grup V ve VI) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Ancak, STZ-NA ve STZ-NA+OM (Grup II ve III) ve boş boncuk (grup IV) grupları ile Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyonları (Grup V ve VI) arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Şekil 4.1) $p<0.05$.

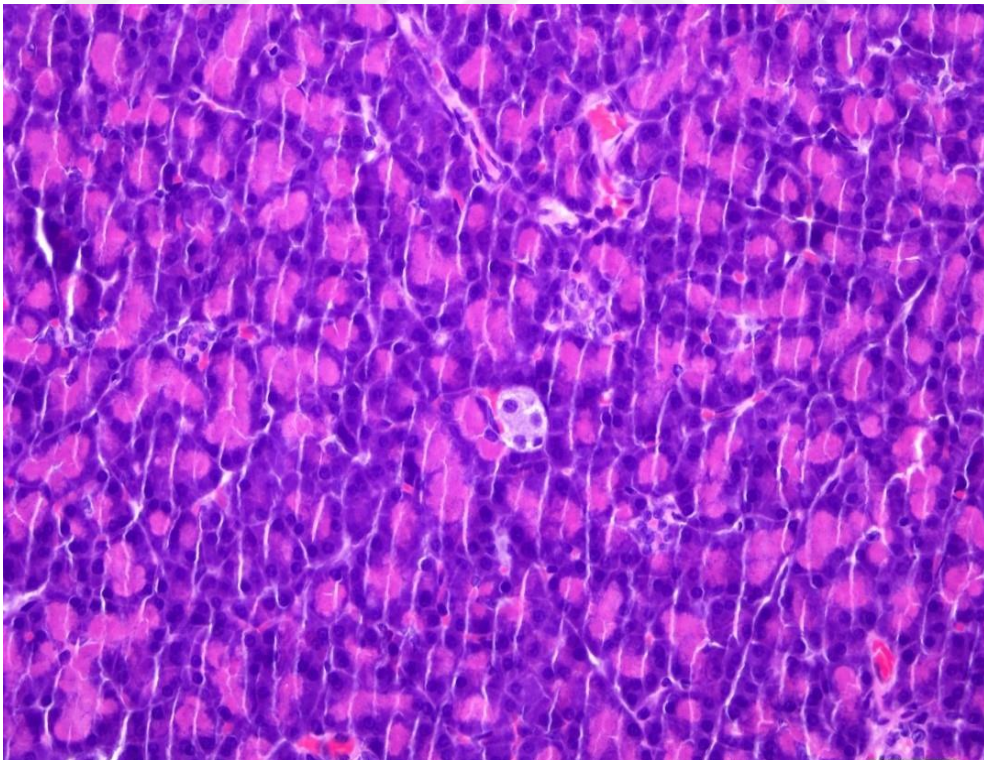


Şekil 4.1. Pankreasta görülen histopatolojik değişikliklerin şiddeti

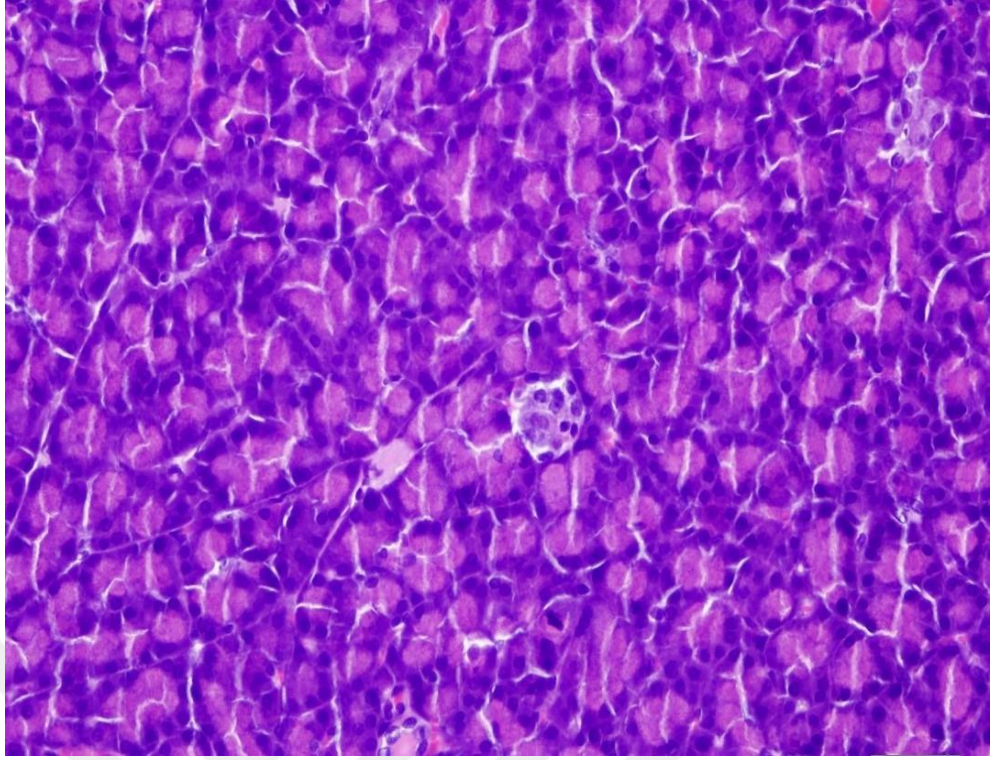
Kontrol grubundaki (Grup I) sıçanların pankreas dokuları normal histolojik yapısında görülmüştür (Şekil 4.2). STZ ve NA ile indüklenmiş diyabet grubundaki (Grup II) sıçanların pankreasının, ekzokrin pankreas kısmında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmazken, endokrin pankreas kısmında dejeneratif ve nekrotik değişikliklere rastlanmıştır. Bu gruptaki sıçanların endokrin pankreasındaki lanherghans adacıklarının dejeneratif ve nekrotik değişiklikler sonucu atrofik bir görünüm aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3), STZ-NA+OM (Grup III) ve boş boncuk (Grup IV) gruplarındaki sıçanlarda lanherghans adacıklarında dejeneratif ve nekrotik değişiklikler sonucunda atrofik görünümün devam ettiği belirlenmiştir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5). Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon (Grup V, VI) gruplarında ise nekrotik ve dejeneratif değişikliklerin diğer deneysel gruplardaki sıçanlara göre azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7).



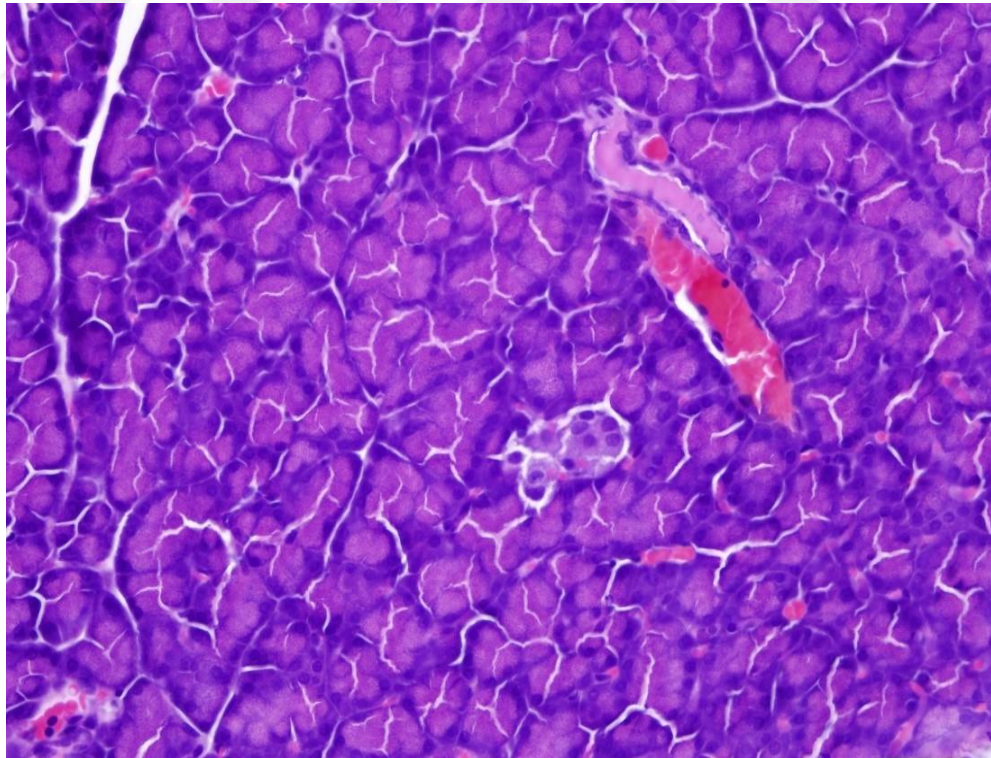
Şekil 4.2. Normal görünümdeki pankreas, kontrol grubu (Grup I). Pankreas. Langerhans adacığı ve ekzokrin pankreasın normal histolojik görünümü. HE. 20µm.



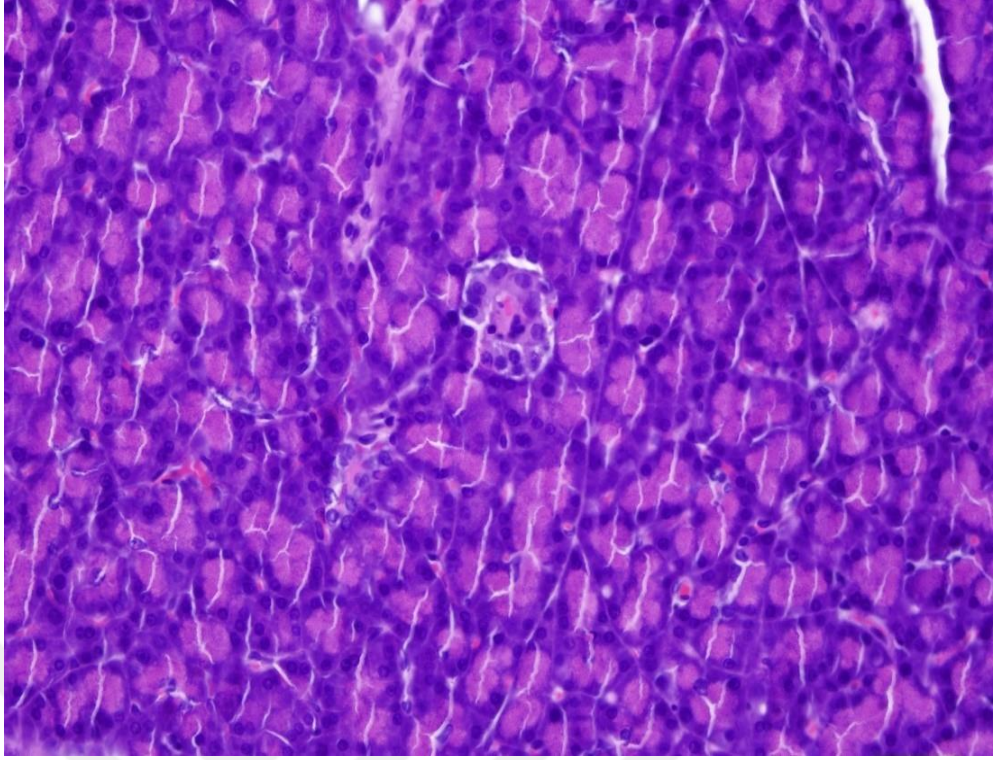
Şekil 4.3. STZ-NA grubu (Grup II). Pankreas. Atrofik langerhans adacığı. HE. 20µm.



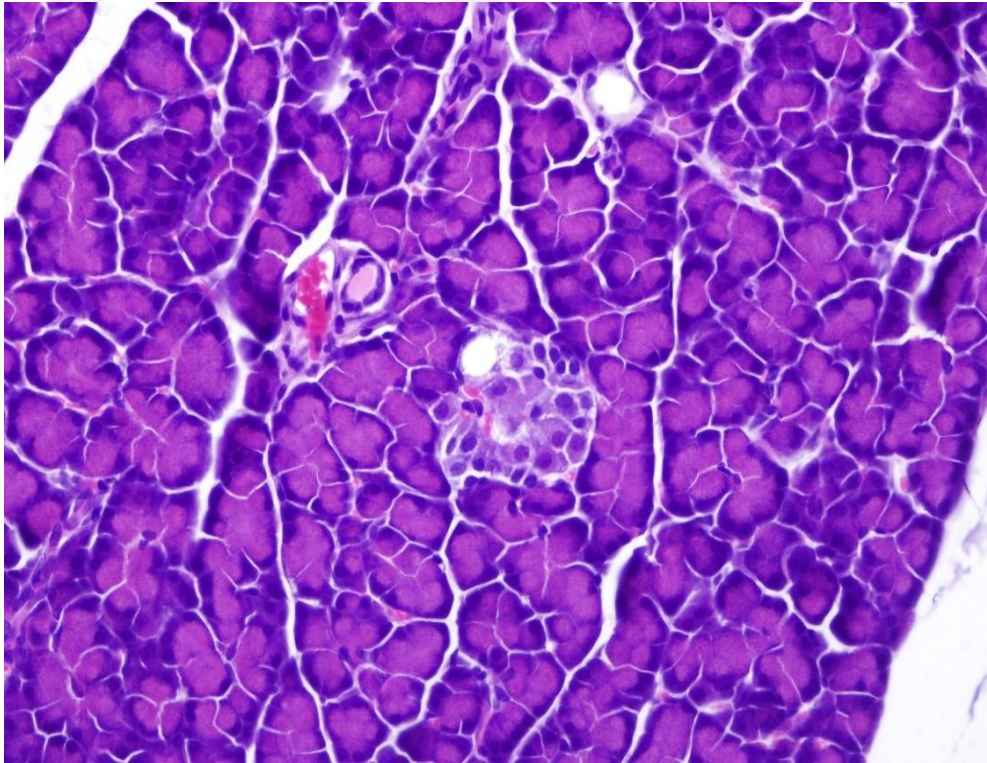
Şekil 4.4. STZ-NA+OM grubu (Grup III). Pankreas. Atrofik langerhans adacığı. HE. 20µm.



Şekil 4.5. Boş boncuk grubu (Grup IV). Pankreas. Atrofik görünümdeki langerhans adacığı. HE. 20µm.

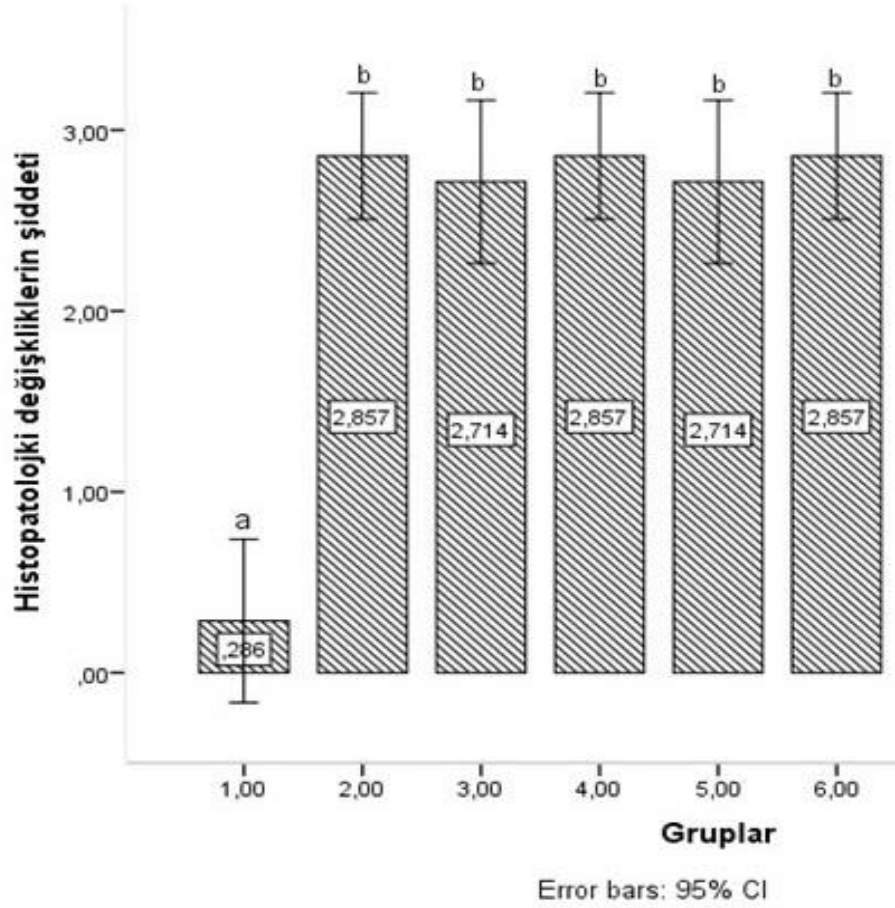


Şekil 4.6. Metformin HCl içeren AL-CS boncuk grubu (Grup V). Pankreas. Langerhans adacığı. HE. 20µm.



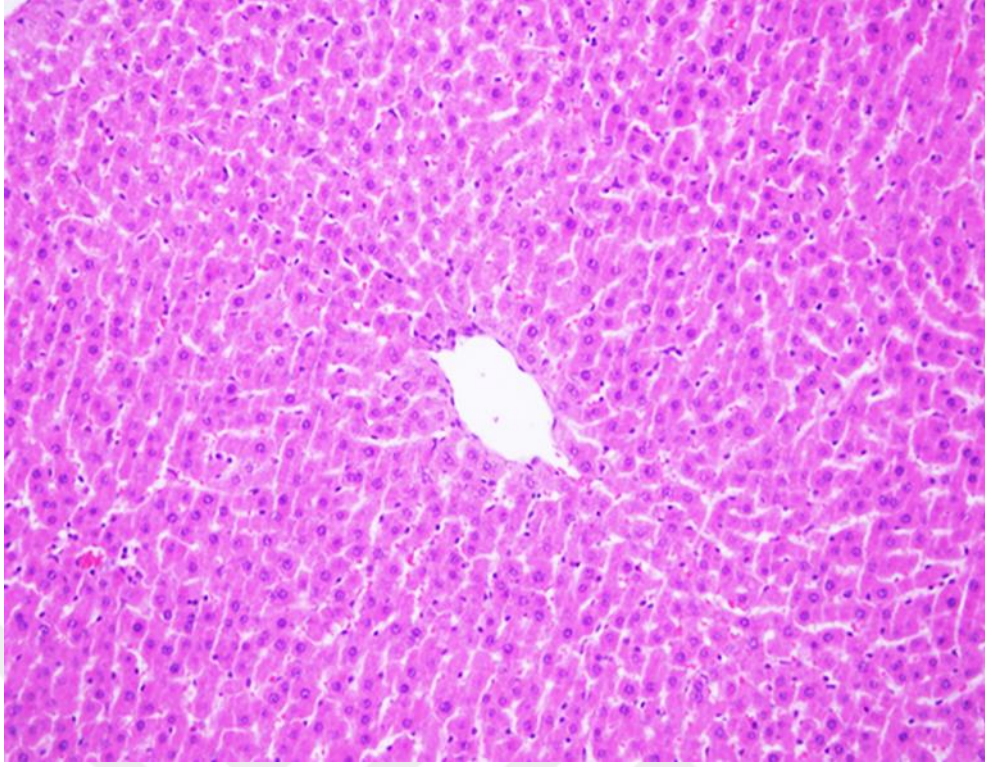
Şekil 4.7. Metformin HCl içeren AL boncuk grubu (Grup VI). Pankreas. Langerhans adacığı. HE. 20µm.

Karaciğerin histopatolojik incelemesinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Şekil 4.11) $p < 0.05$. STZ-NA, STZ-NA+OM (Grup II ve III) ve boş boncuk (Grup IV) grupları ile Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyonları (Grup V ve VI) arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Şekil 4.8) $p > 0.05$.

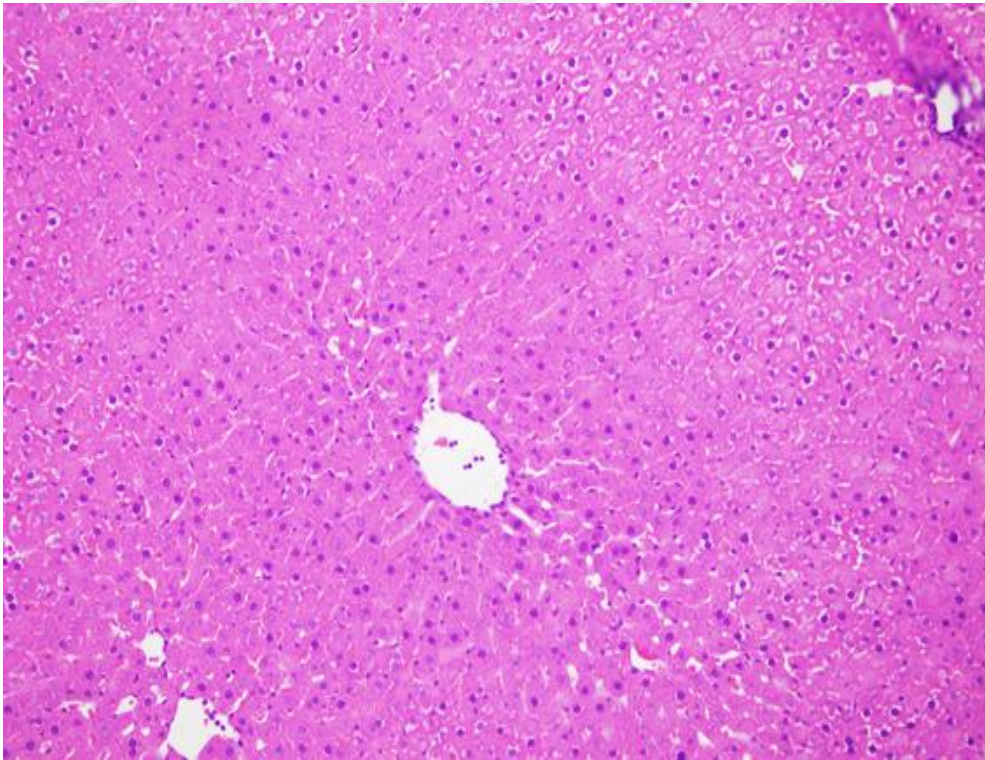


Şekil 4.8. Karaciğerde görülen histopatolojik değişimlerin şiddeti.

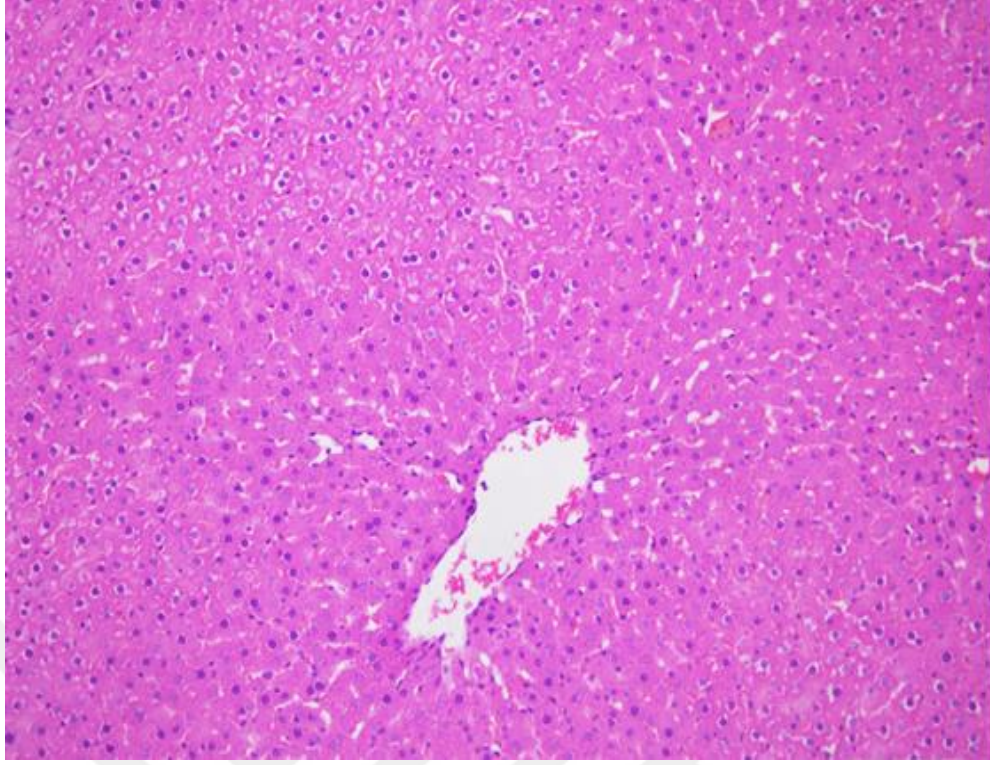
Kontrol grubundaki sıçanların karaciğer dokularının normal histolojik yapısında olduğu görülmüştür (Şekil 4.9). STZ-NA ve STZ-NA+OM (Grup II ve III) ve boş boncuk (Grup IV) grupları ile metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon (Grup V ve VI) gruplarındaki sıçanların karaciğerinde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz görülmüş (Şekil 4.10-14), ayrıca hafif düzeyde konjesyon, periportal alanlarda yangısal hücre infiltrasyonların da mevcut olduğu saptanmıştır.



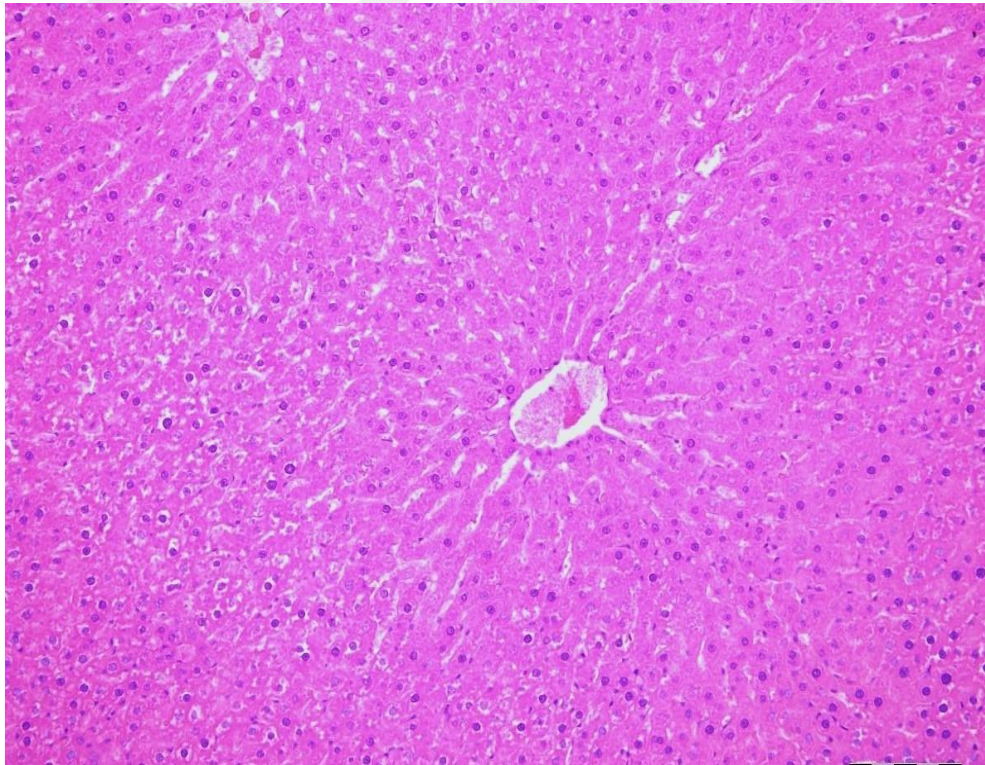
Şekil 4.9. Normal görünümdeki karaciğer dokusu, kontrol grubu (Grup I). Karaciğer. Normal histolojik görünüm. HE. 20µm.



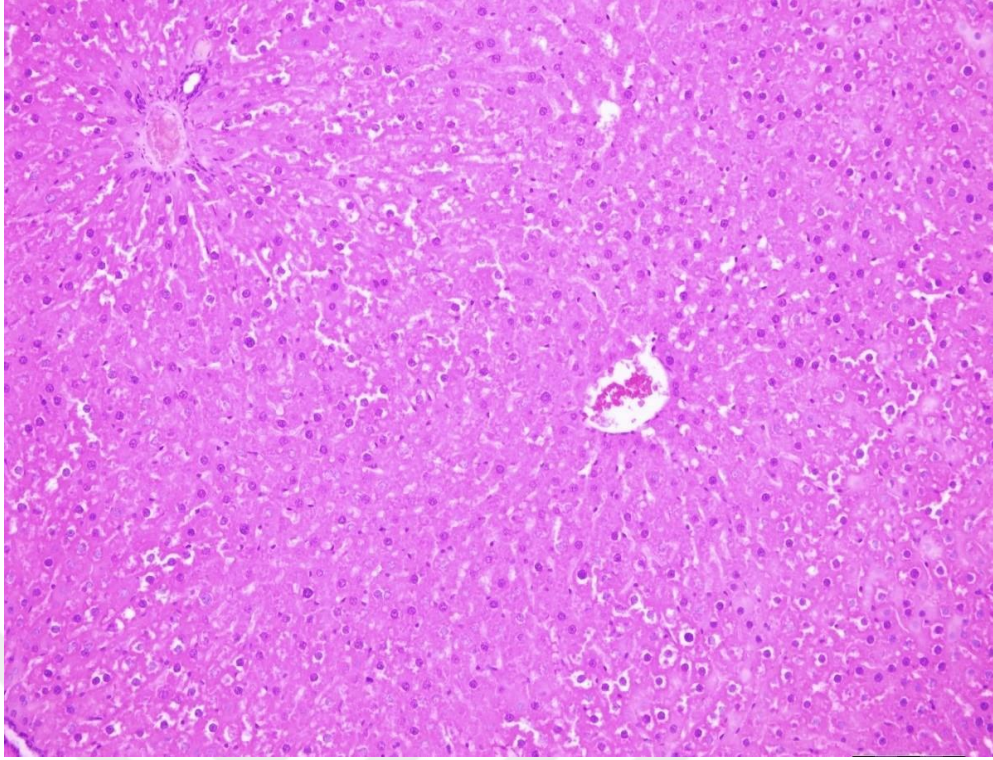
Şekil 4.10. Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. (STZ-NA; Grup II) HE. 20µm.



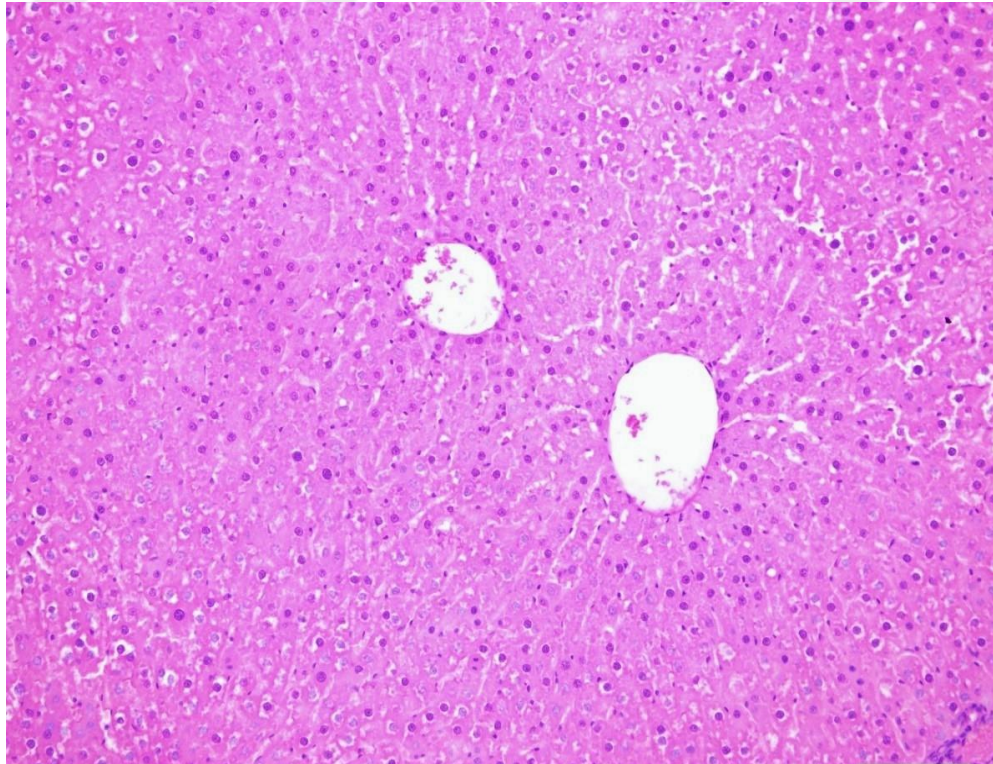
Şekil 4.11. Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. HE. 20µm. (STZ-NA+OM;GrupIII)



Şekil 4.12. Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. HE. 20µm. (Boş boncuk; Grup IV)



Şekil 4.13. Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. HE. 20µm.
(Metformin HCL içeren AL-CS boncuk; Grup V)



Şekil 4.14. Karaciğerde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz. HE. 20µm
(Metformin HCl içeren AL boncuk, Grup VI)

4.2.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Langerhans adacıklarının çapı ve insülin immunpozitif β hücre sayıları açısından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2). STZ-NA ve STZ-NA+OM (Grup II ve III) ve boş boncuk (Grup V) grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde, Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$). Fakat, STZ-NA, STZ-NA+OM (Grup II ve III) ve boş boncuk (Grup IV) grupları ile Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon grupları (Grup V ve VI) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2) $p<0.05$.

Tablo 4.1. Langerhans Adacıklarının Çapı

Gruplar	Çap (μm)
Kontrol	45.15 $\pm$ 3.41 ^a
STZ-NA	11.04 $\pm$ 0.60 ^b
STZ-NA+OM	12.61 $\pm$ 1.84 ^b
Boş boncuk	12.86 $\pm$ 1.23 ^b
Metformin HCl-AL-CS boncuk	23.06 $\pm$ 1.78 ^c
Metformin HCl-AL boncuk	25.57 $\pm$ 0.95 ^c

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında fark vardır ($p<0.05$)

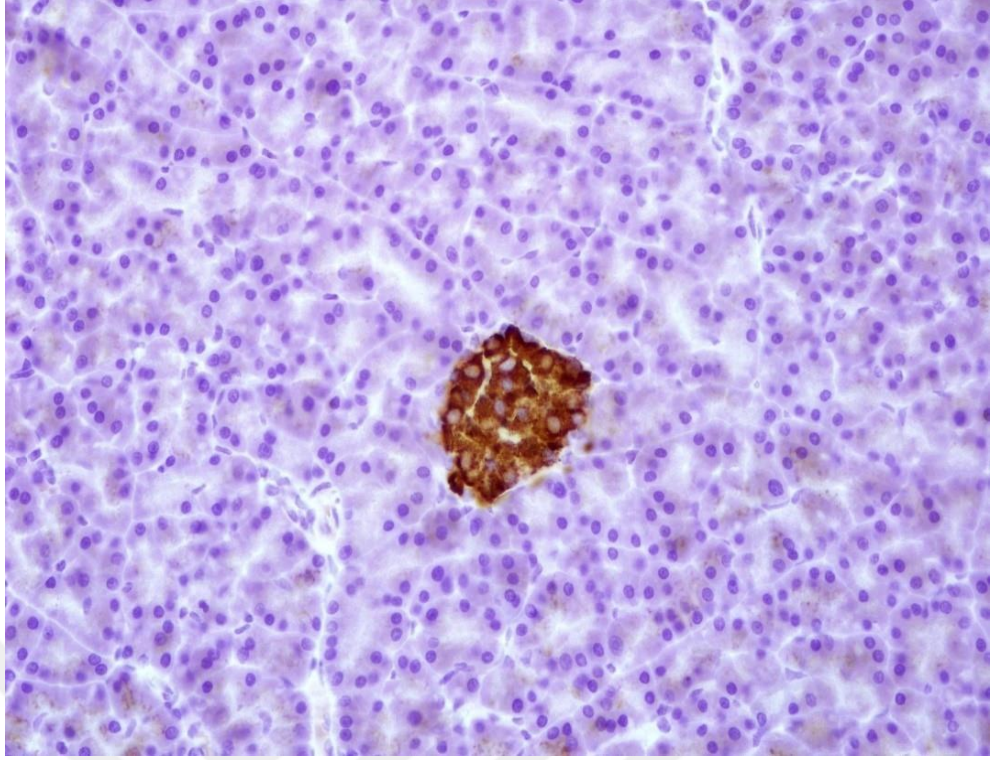
Tablo 4.2. Langerhans Adacıklarındaki İnsülin Pozitif β Hücre Sayısı

Gruplar	Hücre sayısı
Kontrol	32.17 $\pm$ 1.86 ^a
STZ-NA	4.48 $\pm$ 0.62 ^b
STZ-NA+OM	6.15 $\pm$ 0.87 ^b
Boş boncuk	4.53 $\pm$ 0.55 ^b
Metformin HCl-AL-CS boncuk	13.01 $\pm$ 1.78 ^c
Metformin HCl-AL boncuk	15.91 $\pm$ 1.18 ^c

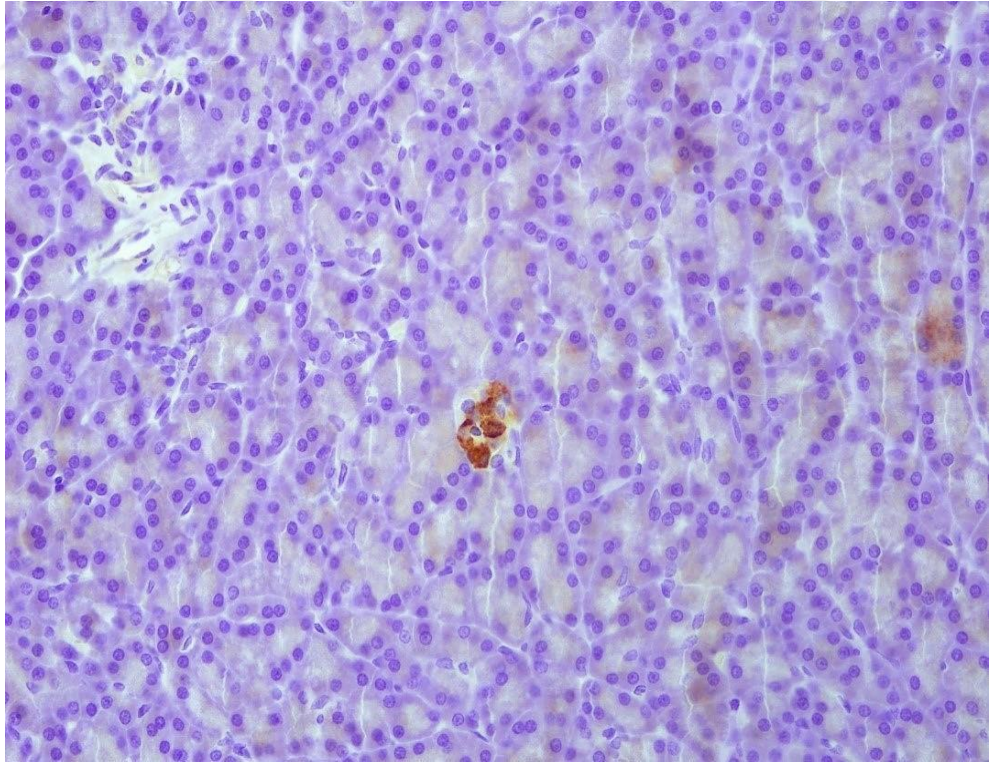
^{a,b,c} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında fark vardır ($p<0.05$)

Kontrol grubundaki sıçanların pankreas dokularındaki langerhans adacıklarının çapı ve insülin immunpozitif β hücre sayıları normal düzeyde görülmüştür (Şekil 4.15). STZ-NA (Grup II) grubundaki sıçanların pankreasındaki lanherghans adacıklarının çapının küçüldüğü ve insülin immunpozitif β hücre sayılarının azaldığı tespit edilmiştir. STZ-NA, STZ-NA+OM (Grup III) ile boş boncuk (Grup IV) gruplarındaki sıçanlarda langerhans adacıklarının çapı ile insülin β immunpozitif hücre sayılarındaki yetersizliğin devam ettiği belirlenmiştir (Şekil 4.16-18) Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon (Grup V, VI) gruplarında ise langerhans adacıklarının çapı ile insülin β immunpozitif hücrelerin sayısının diğer deneme gruplarına göre arttığı görülmüştür (Şekil 4.19-20).

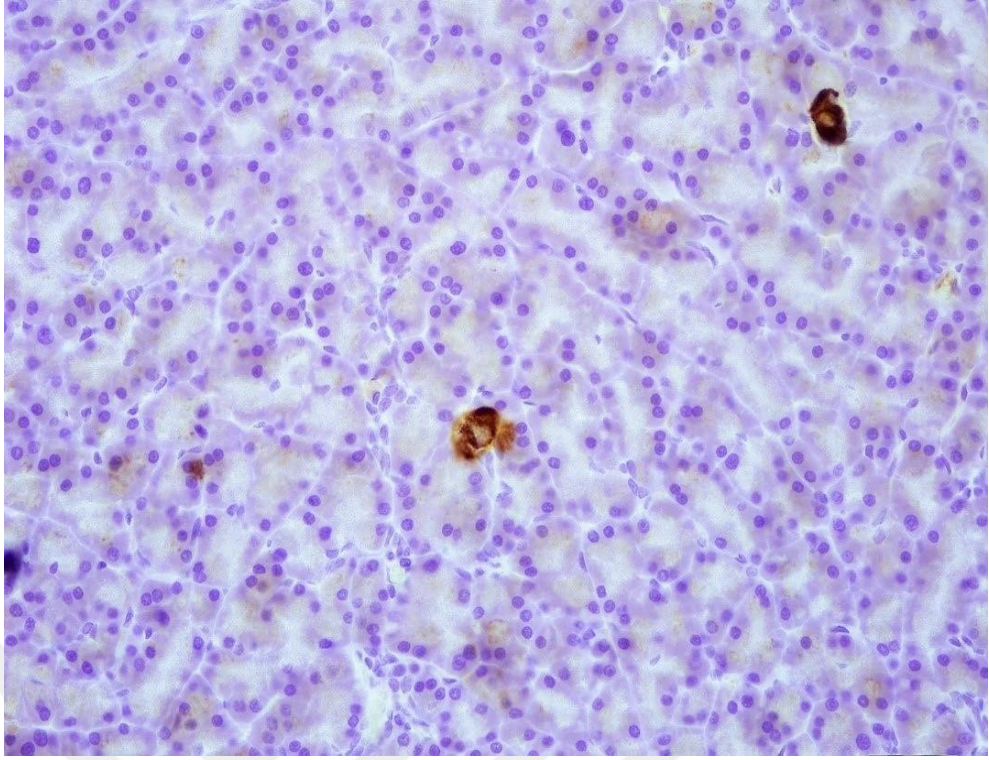




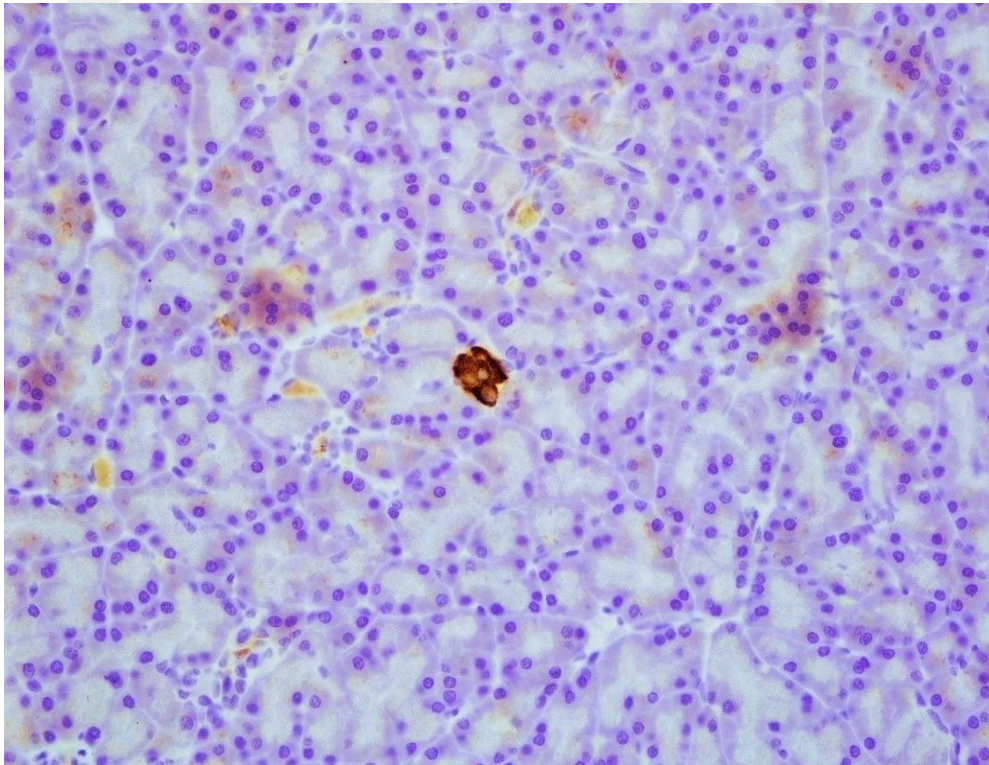
Şekil 4.15. Normal görünümdeki langerhans adacığının çapı ve insülin β immunpozitif hücreler. IHC. 20 μ m. (Kontrol, Grup I)



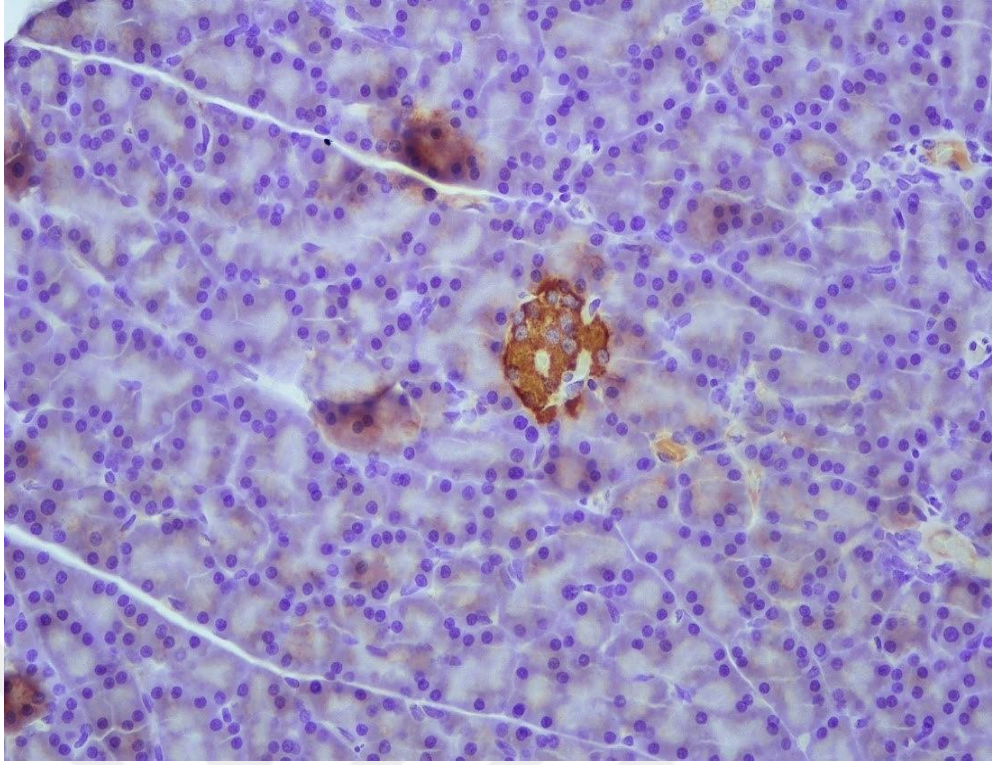
Şekil 4.16 Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 μ m. (STZ-NA; Grup II)



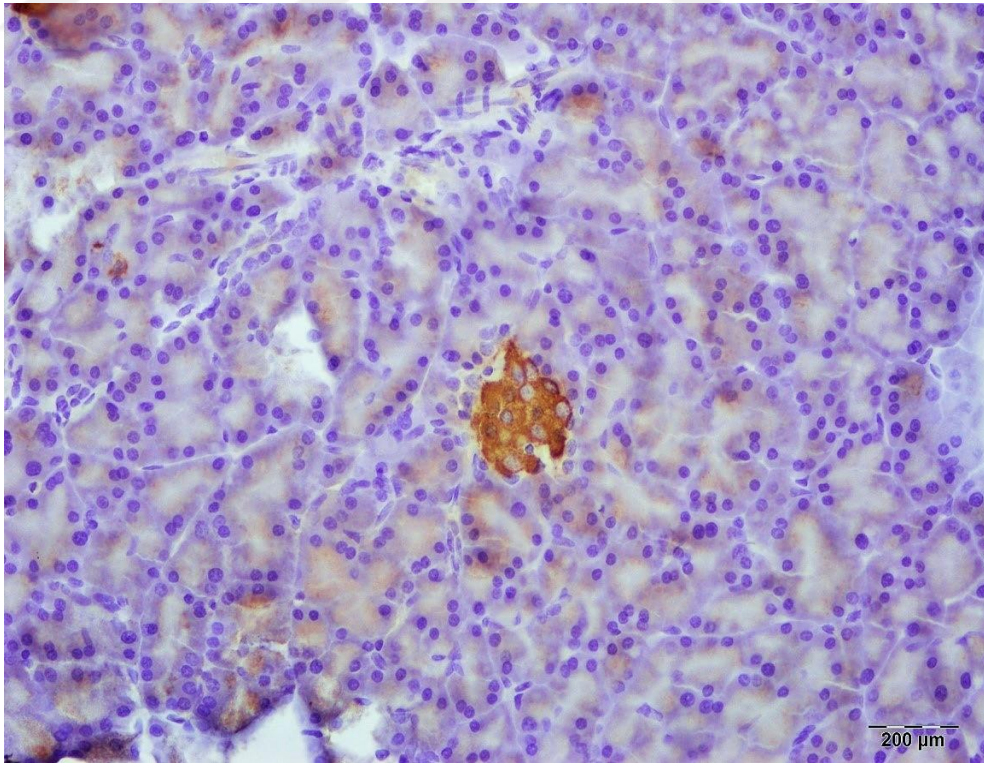
Şekil 4.17. Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 μ m. (STZ-NA+OM; Grup III)



Şekil 4.18. Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 μ m. (Boş boncuk; Grup IV)



Şekil 4.19. Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 μ m. (Metformin HCl içeren AL-CS boncuk, Grup V)



Şekil 4.20. Langerhans adacığının çapında ve insülin β immunpozitif hücrelerde azalma. IHC.20 μ m.(Metformin HCl içeren AL boncuk; Grup VI)

5. TARTIŞMA

DM, insülin hormonunun gerçek veya göreceli yetersizliği ve glukoz intoleransının ortak payda olduğu, kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıkların heterojen bir grubudur.^{3,25,29,106} Günümüzün en önemli sağlık sorunlarından birisi olan DM, dünyada hızla yayılan ve kronik seyreden bir metabolizma hastalığıdır.^{33,107} Bu hastalığın etiyolojisinde çok sayıda faktör rol oynamaktadır ve kronik hiperglisemi ile beraber insülin sekresyonundaki, aktivitesindeki veya her ikisindeki defektler sonucunda karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklar ile ortaya çıkmaktadır.^{1,3,108}

Birçok organda komplikasyonlara sebep olarak yaşam kalitesini düşüren, uzun süreli ve pahalı bir tedavi gerektiren diyabetin, etiyoloji, patogenezis, tedavi ve korunmasına yönelik çok sayıda araştırmalar yapılmaktadır.^{1,50,55,73,102,103}

Yapılan son çalışmalar, Tip II diyabetin patofizyolojisi ile ilgili olarak bazı kritik yönleri açığa çıkarmıştır. Bunlar, orta şiddette (hafif tip) Tip II diyabet hastalarında glikoz alımı (oral) sonrası kan şekeri sağlıklı kişilere göre daha fazla artmakta ve bu artış daha uzun süreli olmaktadır. Bununla birlikte, serum insülininde beklenen artış daha geç gerçekleşmekte ve uzun süre devam etmektedir. Ayrıca, β -hücre fonksiyon bozukluğuna ek olarak bastırılmamış glukagon konsantrasyonu söz konusudur. Daha şiddetli (belirgin diyabetli kişilerde) diyabet hastalarında ise glikoz seviyesi daha yüksek, β -hücre disfonksiyonu daha ciddi ve bastırılmamış normal glukagon seviyeleri söz konusudur.^{109,110}

Tip II diyabet modeli geliştirilmesinde kemirgenler genetik faktörler gibi nedenlerden dolayı ilk tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan hayvanlardır. Hayvan çalışmalarında diyabet oluşturmak amacıyla farklı yöntemler (cerrahi, farmakolojik, genetik) kullanılmaktadır. STZ, diyabetojenik bir ajan olarak farmakolojik yöntemle

diyabet oluşturmak amacıyla yaygın bir şekilde, intraperitoneal (i.p.), intravenöz (i.v.) veya subkütan (s.c.) yollarla ve geniş bir doz aralığında (sıçanlarda genellikle uygulanan doz aralıkları: 40-80 mg/kg i.v. yolla; 35 (yüksek yağlı diyetle birlikte)-150 mg/kg i.p. yolla; 60-100 mg/kg s.c. yolla) uygulanabilmektedir.^{33,54,71,72,96} Hücre içinde biriken STZ'nin, reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna neden olarak pankreatik β hücre hasarına yol açtığı bilinmektedir.^{111,112} Verilen doza bağlı olarak Tip I veya Tip II diyabet modellerinin hayvanlarda oluşturulması sağlanmaktadır.^{77,113,114} Bunlardan, Srinivasan ve ark.¹¹⁵ sıçanlarda düşük doz STZ enjeksiyonu ile Tip 2 diyabet modeli oluşturmak üzere yaptıkları bir çalışmada, 25 mg/kg dozunda STZ enjekte edildiğinde Tip I veya Tip II diyabetin oluşmadığı, 35 mg/kg STZ uygulanan sıçanlarda ise çoğunlukla hiperinsülinemi ile birlikte insülin direncinin gelişmesiyle Tip II diyabet modelinin oluşturulabildiği ve plazma glukoz seviyesi 300 mg/dL ve üzeri olan sıçanların Tip II diyabet grubu olarak ayrıldığı, 45 ve 55 mg/kg dozlarında STZ enjekte edilen gruplarda ise Tip I diyabetin geliştiği rapor edilmiştir. Hazman da yaptığı çalışmada³³ STZ'yi 30 mg/kg dozunda birer hafta arayla 2 defa olmak üzere i.p. olarak enjekte etmiş ve plazma glukoz seviyeleri 300 mg/dl ve üzerinde olan sıçanlarda Tip II diyabet oluştuğu kabul edilmiştir.

Vardı ve ark.⁵⁴ yaptıkları çalışmada, tek doz STZ'nin (45 mg/kg) i.p. enjeksiyonu ile diyabetik sıçan modeli oluşturduklarını, daha önce yapılan çalışmalarda^{96,116} STZ enjeksiyonunu takiben 48-72 saat sonra hiperglisemi meydana geldiği bilgisiyle uyumlu olarak STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra yapılan ölçümlerde hiperglisemiye saptamışlardır.

Sadece STZ kullanılarak Tip II diyabet modeli geliştirilmesindeki bu belirsizlikler nedeniyle, Tip II diyabet modeli oluşturmak üzere sıçanlarda STZ'nin β -

sitotoksik etkilerine karşı NA'nın koruyucu etkilerinden faydalanmak üzere STZ ve NA'nın sıklıkla birlikte kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır.^{78,117}

Sıçanlarda Tip II diyabet modeli oluşturmak üzere STZ ve NA birlikte ilk olarak Masiello ve ark.¹¹⁸ tarafından kullanılmış ve araştırmacılar, STZ-NA kullanımıyla diğer mevcut modellere (Goto-Kakizaki sıçanları, neonatal dönemde-STZ enjekte edilmiş sıçanlar gibi) göre yetişkin sıçanlarda insan Tip II diyabetine daha yakın deneysel diyabet oluşturduklarını rapor etmişlerdir.

STZ-NA ile indüklenmiş Tip II diyabet modeliaşağıdaki özelliklere sahiptir. Bunlar;^{118,119}

- a. Orta derecede ve stabil seyreden bir hiperglisemi (yaşam için dışarıdan insülin kullanımı gerektirmez);
- b. β -hücrelerinde ve insülin depolarında azalma;
- c. Ancak, hala glukoz ve sülfonilüre türevlerine karşı insülin duyarlılığının devam etmesi;
- d. Esas olarak bozulmuş insülin sekresyonundan dolayı glukoz intoleransı;
- e. Polifaji ve Polidipsi görülmesi.

Diğer bir çalışmada, 2 aylık Wistar cinsi sıçanlara 200-230 mg/kg dozda nikotinamid i.p. olarak uygulanmış ve bu uygulamadan 15 dakika sonra STZ (60 mg/kg) ise i.v. olarak sıçanlara verilmiştir. Sıçanların çoğunluğunda (%75-80) yaklaşık %40'lık pankreatik β -hücre azalması (α -hücrelerinde değişme olmamıştır) olduğu ve orta derecede, stabil seyreden bir hiperglisemi (tokluk hiperglisemisi; 150–180 mg/dl) geliştiği raporlanmıştır. % 20-25'lik kısmında ise ya 2-3 haftada şiddetli diyabet geliştiği ya da normoglisemik olarak devam ettiği saptanmıştır.¹¹⁷

STZ ve NA'nın dozları, birbirine göre uygulama zamanları ve hayvanların yaşı sonuçları etkilemektedir. Daha genç hayvanlar STZ'ye daha az duyarlıdır ve NA daha

iyi bir koruma sağlar. Yapılan deneysel çalışmalarda, STZ i.p. veya i.v. olarak 45-65 mg/kg aralığında, NA ise i.p. olarak 60-290 mg/kg dozlarında kullanılarak diyabet modeli geliştirilmiştir. NA, STZ uygulamasından 15-30 dakika öncesinde hayvanlara tatbik edilebildiği gibi STZ enjeksiyonu sonrası 2 saate kadar da hayvanlara uygulanabilmektedir ve NA, STZ'nin sitotoksik etkilerine karşı koruyucu özelliğini gösterir. Ancak, uygulama sonrası belirtilen sürenin aşılması ile birlikte NA'nın β -hücreleri üzerindeki koruyucu etkisi azalmaktadır (STZ uygulaması sonrası ne kadar kısa sürede uygulanırsa o kadar koruyucu özellik gösterir)¹¹⁹Söz konusu tez çalışmasında, STZ uygulanmasından 15 dakika sonra NA uygulanmıştır.

Szkudelski¹²⁰ STZ ve NA dozlarının önemli olduğunu, seçilen doza göre oluşacak diyabetin şiddetinin değiştiğini ve STZ-NA kullanılarak geliştirilen diyabet modelinin diyabetin farklı yönlerinin araştırılması açısından faydalı bir model olduğu raporlanmıştır.

Barik ve ark.¹²¹ tarafından “*Ichnocarpus frutescens*” sulu kök ekstraktlarının antidiyabetik aktivitesini değerlendirmek üzere STZ (60 mg/kg tek doz, i.p.) ve STZ uygulamasını takiben 15. dakikada NA (120 mg/kg tek doz i.p.) sıçanlara (bir gece öncesinden aç bırakılmış) uygulanmış ve uygulamanın 7. gününde plazma glukoz seviyeleri ölçülmüştür. Açlık plazma glukoz seviyesi >126 mg/dL olan sıçanlar Tip II diyabetli olarak seçilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Ekstrenin önemli antidiyabetik etki gösterdiği ve glukoz toleransını artırdığı saptanmıştır.

Weng ve ark.¹²² ise STZ-NA'yı (65 mg/kg i.v.-110 mg/kg i.p.; STZ uygulamasından 15 dakika önce enjekte edilmiş) 220-240 g ağırlığında, bir gece aç bırakılmış sıçanlara tatbik etmişler ve uygulamanın 7. gününde açlık kan glukoz seviyesini tespit etmişlerdir. Açlık kan glukoz değeri $\geq$ 126 mg/dL olan sıçanlar Tip II diyabetli olarak kabul edilerek deneysel çalışmaya dahil edilmiştir.

Bir gece aç bırakılmış, 200-300 g ağırlık aralığında olan sıçanlara STZ (60 mg/kg, i.p.) ve NA'nın farklı dozlarının (95 mg/kg i.p.; 120 mg/kg i.p.) uygulandığı ve enjeksiyonun 7. gününde açlık kan glukoz seviyeleri >126 mg/dL olan sıçanların Tip II diyabetli olarak kabul edildiği çalışmalar da mevcuttur.^{40,123,124}

Bisht and Bhattacharya,⁷⁸ “*Desmodium gangeticum*” ekstrelerinin etkilerini STZ-NA ile indüklenmiş Tip II diyabetli sıçanlar üzerinde incelemişlerdir. Tip II diyabet geliştirmek için bir gece aç bırakılan sıçanlara STZ (40 mg/kg; tek doz olarak i.p.) ve NA (110 mg/kg; tek doz i.p.) uygulanmıştır. Tip II diyabet geliştirilen sıçanlara (açlık kan glukoz seviyeleri >230 mg/dL) farklı çözücülerdeki ekstreler uygulanmış ve sulu ekstrenin antidiyabetik etki açısından ümit verici olduğu raporlanmıştır.

Benzopironların antidiyabetik aktivitelerini değerlendirmek üzere yapılan başka bir çalışmada, bir gece aç bırakılmış sıçanlara 60 mg/kg dozda STZ ve 120 mg/kg dozda NA i.p. olarak uygulanmış ve 7 gün sonra açlık kan glukoz düzeyleri >200 mg/dL olanlar Tip II diyabetli olarak kabul edilerek çalışmaya dâhil edilmiştir. Kuersetin maddesinin önemli bir hipoglisemik etki gösterdiği saptanmıştır.¹²⁵

Tahara et al.¹²⁶ Sprague Dawley cinsi sıçanlarda STZ (50 mg/kg) ve NA (0, 50, 100, 150 ve 200 mg/kg) kullanarak diyabet oluşturmuşlardır. Sadece STZ kullanılarak diyabet oluşturulan sıçanların açlık plazma insülin seviyesinin (0,27 ng/mL) sağlıklı sıçanların plazma insülin seviyesine (0,55 ng/mL) oranla önemli derecede azaldığını ve diyabetik sıçanların önemli bir kilo kaybına uğradığını saptamışlardır. Ancak, NA kullanılmasıyla ve dozunun artırılmasıyla birlikte STZ tarafından oluşturulan hiperglisemi, pankreas üzerindeki olumsuz etkiler ve vücut ağırlık kaybının ise azaldığı tespit edilmiştir. 200 mg/kg kullanıldığında ise STZ'nin bu etkilerinin tamamen önlendiği raporlanmıştır. STZ (50 mg/kg) ile birlikte NA (50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg ve 200 mg/kg) kullanıldığında saptanan açlık plazma insülin seviyeleri sırasıyla

0,50; 0,52; 0,61 ve 0,70 ng/mL; açlık plazma glikoz seviyeleri ise STZ kullanıldığında 249 ± 17 mg/dL, STZ-NA (50 mg/kg) kullanıldığında 179 ± 15 mg/dL, STZ-NA (100 mg/kg) kullanıldığında 125 ± 8 mg/dL ve diğer iki NA (150 ve 200 mg/dL) dozu içinse sırasıyla 117 ± 5 mg/dL ve 102 ± 8 mg/dL ve sağlıklı sıçanlar içinse $94,6 \pm 5,3$ mg/dL olarak saptanmıştır. Sağlıklı sıçanların ortalama ağırlığı ile karşılaştırıldığında STZ ve STZ (50 mg/kg)-NA (50 mg/kg) uygulanan sıçanların ortalama ağırlıkları istatistiksel olarak farklı iken STZ(50 mg/kg)-NA (100, 150 ve 200 mg/kg dozları) uygulanan sıçanların ortalama ağırlıkları ise anlamlı bir fark göstermemiştir. Bu nedenle, araştırmacılar tarafından ciddi diyabet modeli oluşturmak için sadece STZ (50 mg/kg) kullanılırken ılımlı diyabet modeli oluşturmak içinse STZ-NA için sırasıyla 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozları seçilerek kullanılmıştır.

Söz konusu tez çalışmasında ise, yukarıdaki bilgiler ve ön demeler sonucunda, STZ-NA (40 mg/kg, i.p.-120 mg/kg, i.p.) uygulanmış sıçanların açlık kan glukoz seviyeleri uygulamanın 7. gününde kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukometre (On.Call® Plus, Acon Lab., Inc. Amerika) kullanılarak tespit edilmiş ve açlık kan glikoz düzeyi >126 mg/dL olanlar diyabetik (Tip II) olarak kabul edilmiştir.

STZ ile diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlarda, akut döneme ait patolojik değişiklikler bir çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir.^{39,54,73,102,127} Özdemir ve ark.³⁹, tarafından STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda, kan glukozu değeri 200-300 mg/dl arasındaki grup (D1) ile kan glukozu 300 mg/dl'den fazla olan grup (D2) arasında akut döneme ait patolojik değişiklikler incelemiş, pankreas, karaciğer, dalak ve böbrekte diyabetli gruplar ile kontrol grubu arasında dejenerasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p < 0.05$) bulunduğu, D1 ve D2 arasında ise anlamlı bir fark bulunmadığı ($p > 0.05$) bildirilmiştir.

Özmen ve ark. da,¹²⁷ STZ ile oluşturulan ve daha sonra kısa etkili insülin(INS) verilen DM'a yönelik klinik, patolojik ve immunohistokimyasal olarak inceledikleri çalışmada, STZ ve STZ+INS gruplarında 24 saat sonra hiperglisemi saptandığını, STZ ve STZ+INS grubunda histopatolojik bulguların benzerlik gösterdiğini ve her iki grupta da dejenerasyon saptandığını, ancak immunohistokimyasal incelemede STZ+INS grubunda insülin salgılayan hücrelerde STZ grubuna göre daha fazla azalma saptandığını rapor etmişlerdir. Karatug¹⁰⁵, da yaptığı deneysel çalışmada STZ verilen diyabetik bireylerde % insülin pozitif hücre alanında azalmanın ve kan glukoz değerlerinde artışın olduğunu bildirmiştir.

Nakamura ve ark.¹²⁸ STZ-NA ile indüklenmiş Tip II diyabetik fare modelinde patofizyolojik değişimleri incelemişlerdir. Sadece STZ (100 mg/kg, i.p.) ve STZ (100 mg/kg, i.p.) ile birlikte NA'nın iki farklı dozu (120 ve 240 mg/kg, i.p.) uygulanarak farelerde diyabet geliştirilmiş ve sadece STZ kullanılan fare dokularında spesifik olarak ve belirgin bir şekilde β hücre kaybı meydana gelmiştir. Ancak, STZ-NA kullanımıyla pankreatik β hücrelerindeki morfolojik hasarın sadece STZ grubuna göre belirgin ölçüde azaldığı raporlanmıştır.

NA'nın STZ tarafından oluşturulan pankreatik β hücre hasarını doz bağımlı olarak kısmen önlediği ile ilgili yayınlanmış çalışmalar mevcuttur.^{117,120} Bundan dolayı, STZ-NA uygulanmış Tip II diyabetli sıçanlar yükselmiş kan glukoz değeri ve kısmen azalmış β hücre kaybı ile karakterizedir.^{117,120,129}

Bu tez çalışmasında, pankreas histopatolojik incelenmiş ve kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). STZ-NA ve STZ-NA+OM grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Şekil 4.1) $p>0.05$. Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit

edilememiştir (Şekil 4.1) $p>0.05$. Fakat, STZ-NA, STZ-NA+OM ve boş boncuk grupları ile metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiş olması, saf etkin madde (Grup III) ve boş ilaç taşıyıcı sistemle (Grup IV) karşılaştırıldığında, etkin madde yüklü boncuk formülasyonlarının (Grup V ve VI) histopatolojik değişimlerin hafifletilmesi açısından etkili olduğunu göstermiştir.

STZ-NA grubundaki sıçanların pankreasının, ekzokrin pankreas kısmında histopatolojik bir bulguya rastlanmazken, endokrin pankreasta lanherghans adacıklarının nekrotik ve dejeneratif değişiklikler sonucu atrofik bir görünüm aldığı görülmüştür. Salem ve ark.¹⁰² diyabetik sıçanlarda β hücreleri üzerindeki aloe vera (AV) koruyucu etkisini belirlemek amacıyla sadece STZ'nin tek doz i.p. olarak uygulanması ile yaptıkları çalışmada, birçok adacık hücrelerinde sitoplazmik vakuolleşmeye ve piknotik çekirdeklere rastladıklarını bildirmişlerdir. Abunasef ve ark.¹³⁰ da yaptıkları deneysel çalışmada, streptozotosinin ağırlıklı olarak adacıklar merkezinde olmak üzere pankreas adacıklarında ciddi dejeneratif değişikliklere neden olduğunu, bazı hücrelerin köpüklü veya şeffaf hale gelmiş, sitoplazmaları genişlemiş vakuolizasyonlar gösterdiğini ve çekirdeklerde karyolysis görüldüğünü rapor etmişlerdir.

Yukarıda da açıkladığı gibi STZ-NA'nın birlikte kullanımı ile bu değişimler NA'nın koruyucu etkisinden dolayı sadece STZ kullanımına göre azalmış şekilde tespit edilmektedir.^{117,120,129}

Söz konusu tez çalışmasında, deney hayvanlarına STZ-NA ve STZ-NA+OM ve boş boncuk gruplarındaki sıçanların lanherghans adacıklarında nekrotik ve dejeneratif değişiklikler sonucu atrofik görünümün devam ettiği belirlenmiştir. Metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon gruplarında ise nekrotik ve dejeneratif değişikliklerin diğer deneysel gruplardaki sıçanlara göre azaldığı tespit edilmiş olup,

etkin madde yüklü ilaç taşıyıcı sistemlerin (AL-CS ve AL boncuk) saf etkin maddeye göre daha etkili olduğu saptanmıştır.

Abunasef ve ark.¹³⁰ STZ ile ratlarda deneysel oluşturdukları ve pankreas β hücrelerindeki histolojik, immunohistokimyasal, morfometrik ve biyokimyasal değişiklikleri inceledikleri diyabet model çalışmalarında, immunohistokimyasal bulgular olarak; kontrol grubunda, adacıkların ve β hücrelerinin alanda yoğun olarak bulunduğu ve pozitif insülin sentezinin β hücrelerinin sitoplazmasında koyu kahverengi granül şeklinde pozitif görülürken, diyabetik grup β hücreleri sayısında ise belirgin bir azalma gösterdiği bildirilmiş, kafein verilen grubun β hücreleri sayısında ve β hücrelerinin alan yüzdesinde önemli bir artış gözlemlendiğinden, kafeinin diyabette koruyucu rolü olabileceği rapor edilmiştir. Yaptığımız bu çalışma da benzer şekilde kontrol grubundaki sıçanların pankreas dokularındaki langerhans adacıklarının çapı ve insülin immunpozitif β hücre sayıları normal düzeyde görülmüştür. STZ-NA grubundaki sıçanların pankreasındaki lanherghans adacıklarının çapının küçüldüğü ve insülin immunpozitif β hücre sayılarının azaldığı tespit edilmiştir. STZ-NA ile birlikte STZ-NA+OM ve boş boncukgruplarında bulunan sıçanlarda lanherghans adacıklarının çapı ile insülin β immunpozitif hücre sayılarındaki yetersizliğin devam ettiği belirlenmiştir. Metformin HCl içeren AL-CS ve metformin HCl içeren AL boncuk gruplarında ise lanherghans adacıklarının çapı ile insülin β immunpozitif hücrelerin sayısının diğer deneme gruplarına göre arttığı görülmüştür.

Bu tez çalışmasında, kontrol grubundaki sıçanların karaciğer dokuları normal histolojik yapısında görülürken, STZ-NA ve STZ-NA+OM, boş boncuk, metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon gruplarındaki sıçanların karaciğerinde hidropik dejenerasyon ve periasiner nekroz ile hafif düzeyde konjesyon, periportal alanlarda yangısal hücre infiltrasyonları saptanmıştır. Histopatolojik olarak karaciğerde

görülen dejeneratif değişikliklere benzer bulgular başka araştırmacılar tarafından yapılan deneysel diyabet çalışmalarında da rapor edilmiştir.^{39,41}

Aboonabi ve ark.⁴⁰ tarafından yapılan bir çalışmada STZ (60 mg/kg, i.p.) ve NA (120 mg/kg, i.p.) kullanılarak diyabet geliştirilmiş sıçanların (açlık kan glukoz düzeyi >126 mg/dl) karaciğerinde kontrol grubu (sağlıklı sıçanlar) ile karşılaştırıldığında patolojik değişimler (sinüzoidal ve merkezi ven dilatasyonu, merkezi ven çevresinde inflamasyon ve hepatositlerde nekroz) olduğu saptanmıştır.

İnsülin rezistansı Tip II DM hastalarında hipergliseminin esas nedenlerinden birisidir. İnsülin rezistansına bağlı hiperinsülinemi, makrovasküler komplikasyonlar ile yakından ilişkilidir. Dolayısıyla insülin duyarlılığını artıran ilaçlar diyabet tedavisinde önemlidir.^{1,2,34,35} Bu grup içinde yer alan metformin temelde hepatik glukoz yapımını ve insülin rezistansını azaltarak kan glukoz düzeylerini düşürür.^{131,132} Ancak, metformin klinik olarak 1950’li yıllardan beri bilinmesine rağmen etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Metformin tarafından insülin duyarlılığının iyileştirilmesi, onun insülin reseptör ekspresyonu ve tirozin kinaz aktivitesi üzerindeki olumlu etkilerine bağlanmaktadır. Metformin, kısmen inkretinlerin çoklu bileşenlerinin modülasyonu yoluyla da faydalı metabolik etkiler gösterebilmektedir. Metformin akut bir şekilde glukagon benzeri peptid-1 (glukagon-like peptide; GLP-1)’in plazma seviyesini artırırken peroksizom proliferatör-aktive reseptör (PPAR)- α ’ya bağlı olan bir mekanizma yoluyla da adacık inkretin reseptör gen ekspresyonunu indüklemektedir.⁷⁸ Metforminin antihiperglisemik etkinliği (insülin duyarlılığını artırarak) sonucu glukotoksisiteyi azaltmasıyla indirekt olarak hücre fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir.¹³³

Ismail ve ark.⁸ Tip II diyabet geliştirilmiş sıçanlarda metforminin moleküler ve immünohistokimyasal etkilerini incelemek üzere serum lipid profilini, insülin direnci ile

ilgili çeşitli genlerin ekspresyon seviyelerini, karaciğer ve pankreasta meydana gelen histopatolojik değişimleri değerlendirmişlerdir. Tip II diyabet geliştirmek üzere yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlara 35 mg/kg dozda STZ i.p. olarak uygulanmış ve Tip II diyabetli kabul edilen sıçanlara metformin (400 mg/kg/gün) 4 hafta boyunca oral yolla verilmiştir. Metforminin diyabetik sıçanlarda, serum lipid profilini normalleştirerek insülin direncine bağlı semptomları düzelttiği, insülin reseptör ve lipid metabolizmasıyla ilgili genlerin (açıl-CoA oksidaz, karnitinpalmitoiltransferaz-1 ve peroksizom proliferatör-aktive reseptör- α) ekspresyonunu artırdığı, aynı zamanda metformin uygulamasının hepatosit sitoplazma ve parenkimasında rejeneratif değişiklikleri uyardığı ve ayrıca, insülin salımı ve pankreasın β hücrelerinin rejenerasyonu üzerinde de pozitif etkileri olduğu tespit etmişler ve bu durumu metforminin karaciğer hücreleri sitoplazmalarında ve parankiminde rejeneratif değişiklikleri uyardığını, pankreasta ise tedavinin olumlu sonucu olarak insülin sinyali ile pankreatik β hücrelerinin yenilenmesini indüklediği şeklinde bildirmişlerdir.

Patané ve ark.¹³⁴ metforminin pankreatik β -hücreleri üzerindeki direkt etkilerini incelemek üzere bir çalışma yapmışlar ve metforminin β -hücrelerinin salgı fonksiyonu üzerinde doğrudan faydalı etkilere sahip olabileceğini ifade etmişlerdir.

Başka bir çalışmada, fare embriyonik pankreası metformine maruz bırakılmış ve β -hücre gelişiminin erken evresinde metformine maruziyetin pankreatik ve endokrin progenitörlerin sayısında artışa neden olduğu bildirilmiştir.¹³⁵

Yapılan başka bir çalışmada,⁹² %70 karaciğer rezeksiyonundan hemen sonra başlanarak sıçanlara 40 mg/kg/gün metforminin i.p. olarak verildiği ve rezeksiyonundan sonraki 3. ve 7. günlerde sıçanların sakrifiye edilerek karaciğer rejenerasyonunun değerlendirildiği ve metformin kullanımının rejenerasyonu anlamlı bir şekilde artırdığı bildirilmiştir.

Bu çalışmada immunohistokimyasal bulgular değerlendirildiğinde, Langerhans adacıklarının çapı ve insülin immunpozitif β hücre sayıları açısından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. STZ-NA ve STZ-NA+OM ve boş boncuk grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Benzer şekilde, metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemezken, STZ-NA, STZ-NA+OM ve boş boncuk grupları ile metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Etkin madde yüklü ilaç taşıyıcı sistemlerin (AL-CS ve AL boncuk) saf etkin maddeye göre langerhans adacıkları üzerinde olumlu etkisi olduğu saptanmıştır.

Diyabet üzerine çalışmalar tüm dünyada en fazla desteklenen ve ilgi çeken çalışmalar arasındadır ve diyabet; insan yaşamının uğruna aşılması gereken bir hastalıktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gerek beşeri gerekse veteriner hekimlikte popülaritesini uzun yıllardan beri kaybetmeyen DM günümüzde de önemli bir metabolizma hastalığı ve sağlık sorunu olarak birçok ülkede ölümlere neden olan ilk beş hastalık içerisinde yer almaktadır.

Bu çalışmada;

1. Nekropside, tüm çalışma gruplarından alınan organlarda (karaciğer ve pankreas) herhangi bir makroskopik bulgu gözlenmemiştir.
2. Mikroskopik incelemede kontrol grubundaki sıçanların pankreas ve karaciğer dokularının normal histolojik yapılarında olduğu görülmüştür.
3. Histopatolojik muayenede, pankreasın histopatolojik incelemesinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında langerhans adacıklarının atrofik görünümü yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). STZ-NA ve STZ-NA+OM grupları ile metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). STZ-NA ve STZ-NA+OM ve boş boncuk gruplarındaki sıçanların karaciğerlerinde görülen hidropik dejenerasyon, periasiner nekroz, konjesyon, periportal alanlarda yangısal hücre infiltrasyonları gibi histopatolojik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$).
4. Langerhans adacıklarının çapı ve insülin immunpozitif β hücre sayıları açısından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir.
STZ-NA grubundaki sıçanların pankreasındaki langerhans adacıklarının çapının küçüldüğü ve insülin immunpozitif β hücre sayılarının azaldığı tespit

edilmiştir. STZ-NA+OM ve boş boncuk gruplarındaki sıçanlarda langerhans adacıklarının çapı ile insülin β immunpozitif hücre sayılarındaki yetersizliğin devam ettiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyon gruplarında ise langerhans adacıklarının çapı ile insülin β immunpozitif hücrelerin sayısının saf madde ve boş ilaç taşıyıcı sistemlerin uygulandığı gruplara göre arttığı görülmüştür.

Hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemlerin (metformin HCl içeren AL-CS ve AL boncuk formülasyonları) metforminin etkinliği üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu ve bu sistemlerin diyabetik sıçanların pankreas ve karaciğer dokularındaki hasarın azaltılması açısından etkili olabileceği de görülmüştür.

Sonuç olarak, oluşturulan diyabet modelinin pankreas ve karaciğerde fizyolojik fonksiyonları etkileyecek oranda patolojik değişikliklere ve parankim hücrelerinde sayısal azalmaya sebep olduğu, metformin HCl yüklü ilaç taşıyıcı sistemlerin metforminin antidiyabetik etkilerinin açısından faydalı olabileceği saptanmıştır. Aynı doğrultuda daha ileri yeni çalışmalar yapılması planlanmalıdır. Bu çalışmada sağlanan verilerin literatüre ve sonraki çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Basic Pathology, çeviri: Uğur Çevikbaş, *Temel Patoloji*, 6. Baskı. İstanbul, Elma Basım, 2000, 563-575.
2. Aydın Y. *Temel Patoloji*, 1. Baskı, Ankara, Ayban Matbaacılık, 2008, 224-225.
3. Anderson WAD, Thomas MS. *Synopsis of Pathology*, 2. Baskı, Çeviri: Aykan TB, Tüzüner N, Sav A, İnce Ü, *Kısa Patoloji*, İstanbul, Fatih Gençlik Vakfı Matbaa işletmesi. 1986, 546-552.
4. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL(Eds), Power AC. Diabetes mellitus. In: Harrison's Principles of Internal Medicine 15 th ed. New York:McGraw-Hill 2003, 2109-43.
5. Tanrıverdi M.H, Çelepkolu T, Aslanhan H. Diabetes mellitus and primary healthcare. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 2013, 4:562-567.
6. Whiting DR, Guariguata L, Weil Cand Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030.*Diabetes Research and Clinical Practice*, 2011, 94: 311-321.
7. Çetinkalp Ş. Diyabet tedavisinde oral antidiyabetiklerin bugünü ve yarını. *Ege Diyabet ve Çalışma Grubu*, 2005, 1: 1-15.
8. Ismail TA, Soliman MM, Nassan MA. Molecular and immunohistochemical effects of metformin in a rat model of type 2 diabetes mellitus. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2015, 9: 1921-1930.
9. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2010, 87: 4-14.
10. Satman İ. TURDEP-II Çalışması ilk sonuçlar, 32.EMH Kongresi, 13-17 Ekim 2010, *Antalya kongre Kitabı*, p,12.

11. Ayhan D, Kahveci R, Meltem K.E, Sencan İ, Kasım İ, Özkara A, Güler S. Ceza infaz kurumlarında diyabet yönetimi. *Ankara Medical Journal*, 2012, 12:199-204.
12. Altınova AE, Yetkin İ. Tip 1 Diabetes mellitus'a yatkınlıkta rolü olabilecek genetik faktörler. *Marmara Medical Journal*, 2011, 24:126-130.
13. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*. 2007 verileri. (çevrimiçi: <http://www.eatlas.idf.org/>, erişim: 10.10.2009).
14. Direct and Indirect Costs of Diabetes in the United States, American Diabetes Association (www.diabetes.org/diabetes-statistics/cost-of-diabetes-in-us.jsp, erişimi: 07.09.2009).
15. FEND & IDF. Diabetes, the Policy Puzzle: *Towards Benchmarking in the EU* 25. 2005.
16. Jönsson B; CODE-2 Advisory Board. Revealing the cost of Type II diabetes in Europe. *Diabetologia*, 2002, 45:S5-12.
17. American Diabetes Association. Economic costs of diabetes in the U.S. In 2007. *Diabetes Care*, 2008,31:596-615.
18. Akalın HE, Hayran M, Özdemir O. Direct medical cost analysis in patients with diabetes mellitus in Turkey. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 1998, 2: 9- 13.
19. Charles J. A. Jubb Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. *The Pancreas*, Vol:2 chapter 3, saunders ltd, 5 edition, 2007, 389-419.
20. Yenigün M, Altuntaş Y (Editörler). Diabetes mellitusun fizyopatolojisi. *Her yönüyle diabetes mellitus*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 85-129, 2001.
21. Özkan S, Turgay M. Tip 1-2 diabetik hastalarda psikiyatrik morbidite ve hastalıkla baş etme güçlükleri. *Konsültasyon-Liyazon psikiyatrisi 1. baskı* İstanbul, 398-407, 1994.

22. Bağıraçık N. Diabetes mellitus: Tanım, tarihçesi sınıflaması ve sıklığı, sürekli tip eğitimi etkinlikleri diabetes mellitus sempozyumu 18-19 Aralık 1997, diabetes mellitus. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi *sürekli tıp eğitimi komisyonu yayın* No:4, İstanbul 9-18, 1997.
23. Garber A.J. Diabetes mellitus internal medicine, editor: Stein JH, *Mosby year book, St Lois*, Missouri. 1391-92, 1994.
24. Köloğlu S. Endokrinoloji, temel ve klinik, medical network, *diabetes mellitus*, 1. baskı, Ankara, 367-386, 1996.
25. National diabetes data group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and categories of glucose tolerance. *Diabetes Care*, 1999, 28:039-57.
26. The expert committee of the diagnosis and classification of the diabetes mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and clasification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2005, 28:4-36.
27. Expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus: followup report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2003, 26: 3160-3167.
28. Milli ÜH, Hazıroğlu R.Özkan Matbaacılık *Veteriner Patoloji*, I. Cilt, 2. Baskı, Ankara 148-210, 2000.
29. Bennett PH, Knowler WC. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis, Kahn C R, Weir GC, King G L, Jacobson A M, Moses A C, and Smith R J. Eds. Lippincott, Williams and Wilkins, *in Joslin's Diabetes Mellitus*, 331-339, 2005.
30. Altuntaş Y. Tip 2 diabetes mellitus için risk faktörleri. Yenigün M, Altuntaş Y (Editörler). *Her Yönüyle Diabetes Mellitus'da*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 189-99, 2001.

31. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine*, 2002, 1: 1-14.
32. Fidanol Z. Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanların Testis Dokularında p38 Mapk İmmun Reaktivitesini İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, *Yüksek Lisans Tezi*, Edirne Trakya Üniversitesi, 2012.
33. Hazman Ö. Oral Antidiyabetik İlaç Sitagliptin'in Oksidan-Antioksidan Denge Üzerine Etkisinin Deneysel Tip 2 Diyabet Modeli Oluşturulan Ratlarda Araştırılması. sağlık bilimleri enstitüsü, doktora tezi, afyon kocatepe üniversitesi, 2011.
34. Altınova A, Aktürk M, Balos Törüner F, Arslan M. Tip 1 Diabetes mellitus ve insülin direnci, *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, 2007, 27:220-223.
35. Baudry A, Leroux L, Jackerott M, Joshi RL. Genetic manipulation of insulin signaling, action and secretion in mice, Insights into glucose homeostasis and pathogenesis of type 2 diabetes. *EMBO Reports*, 2002,3:323-8.
36. Kuhad A, Chopra K. Lycopene ameliorates thermal hyperalgesia and cold allodynia in stz-induced diabetic rat. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2008, 46: 108-111.
37. Li G, Huang L, Jiang M, Wu H, Chen J, Huang Y, Shen Y, He-xi-ge S, Fan W, Lu Z, Lu D. Implantation of bFGF-treated islet progenitor cells ameliorates streptozotocin-induced diabetes in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2010, 31: 1454-1463.
38. Goldman L, Ausiello D. Diabetes mellitus. *Cecil Textbook of Medicine*, 22th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2254-68, 2004.

39. Özdemir O, Akalın P, Baspınar N, Hatipoğlu F. Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetic rats, *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2009, 53; 4:783-790.
40. Aboonabi A, Rahmat A, Othman F. Effect of pomegranate on histopathology of liver and kidney on generated oxidative stress diabetic induced rats. *Journal of Cytology & Histology*, 2014, 6:1.
41. El-Soud NHA, Khalil MY, Hussein J.S, Oraby FSH, Farrag ARH, Antidiabetic effects of fenugreek alkaloid extract in streptozotocin induced hyperglycemic rats. *Journal of Applied Sciences Research*, 2007, 3: 1073-1083.
42. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2003, 1: 5-20.
43. Laakso M, Lehto S. Epidemiology of macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Review*, 1997, 5:294-315.
44. Pyörälä K, Laakso M, Uusitupa M. Diabetes and atherosclerosis: an epidemiologic view. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews Journal*, 1987, 3:463-524.
45. Fıçıoğlu C, Aydın A, Hakan M, Kızıltan M. Peripheral neuropathy in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *The Turkish Journal of Pediatrics*, 1994, 36:97-104.
46. Said G. Diabetic neuropathy: on update. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 1996, 243: 431- 40.
47. Orhan Y. Diabetes Mellitus. *Endokrinoloji Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları'nda*. Sencer E (Ed.) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 246-86, 2001.
48. Yenigün M. Diabet mellitus geç komplikasyonları Yenigün M (editor). *Her Yönüyle Diabetes Mellitus*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 458-530, 2001.

49. Candeğer Y, Temel Y, İmamoğlu Ş. Diyabetik nefropati. *Diabetes mellitus'da*. İstanbul:Nobel tıp kitabevi,139-44, 2000.
50. Çorakçı A. Diyabetik nefropati patogenezi ve tedavisi. *Türkiye Klinikleri Endokrinoloji Dergisi*, 2003, 1: 223-31.
51. American Diabetes Association. Diabetic nephropathy. *Diabetes Care*, 2003, 26:94-8.
52. Ritz E, Orth SR. Nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, 1999, 341:1127-33.
53. McCance KL, Huether S. Pathophysiology The Biologic Basis for Disease in Adults and Children: In: McCane KL. *Altered Cellular and Tissue Biology*. Second edition, 73, 1994.
54. Vardı N, İraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlı A. Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2005,12: 145-152.
55. Cam M, Yavuz O, Guven A, Ercan F, Bukan N, Ustündag N. Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pineal Research*, 2003, 35: 212-220.
56. Lehman R, Schleicher D. Molecular mechanism of diabetic nephropathy. *Clinica Chimica Acta - Journal – Elsevier*,2000, 297: 135-144.
57. Reeves BR, Andreoli TE. Transforming growth factor β contributes to progressive diabetic nephropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, 97: 7667-7669.

58. Younger DS, Bronfin L. Overview of diabetic neuropathy. *Seminars in Pediatric Neurology*, 1996, 16: 107-13.
59. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Early photocoagulation for diabetic retinopathy: ETDRS report no.9. *Ophthalmology*, 1991, 98:776-85.
60. Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA, Takagi H, Iwamoto MA. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Archives of Ophthalmology Journal*, 1995, 113:1538-44.
61. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, D'Amico DJ, Folkman J, Yeo TK. Elevated vascular permeability factor vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eye with proliferative diabetic retinopathy. *American Journal of Ophthalmology*, 1994, 80: 241-45.
62. Armstrong JR, Daily RK, Dobson HL, Girard L. The incidence of glaucoma in diabetes mellitus: a comparison with the incidence of glaucoma in the general population. *American Journal of Ophthalmology*, 1960, 50: 55-63.
63. Klein BEK, Klein R, Moss SE. Intraocular pressure in diabetic persons. *Ophthalmology* 1984, 91: 1356-60.
64. Yıldırım KÖ. Diabetik ve Non-diabetik Hastalarda Demansı Etkileyen Faktörlerle Birlikte mini-mental Test Skorlarının Karşılaştırılması (Tez). İstanbul: Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Kliniği, 2007.
65. Lipsky BA, Berendet AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW. Infectious Diseases society of america diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clinical Infectious Diseases*, 2004, 39: 885-910.

66. Mayou R, Peveler R, Davies B, Mann Fairburn C, Psychiatric morbidity in young adults with insulin-dependent diabetes mellitus. *Psychological Medicine*, 1991, 21: 639-45.
67. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 2001,50: 537-46.
68. Rossini AA, Like AA, Chick WL, Appel MC, Cahill GF. Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1977, 74: 2485-2489.
69. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 2008, 51: 216-226.
70. Vavra JJ, Deboer C, Dietz A, Hanka LJ, Sokolski WT. Streptozotocin, a new antibacterial antibiotic. *Antibiotics Annual*, 1959,7: 230-235.
71. Mansford KR, Opie L. Comparison of metabolic abnormalities in diabetes mellitus induced by streptozotocin or by alloxan. *Lancet*, 1968, 670-671.
72. Rerup CC. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacological Reviews*, 1970, 22: 485-518.
73. Karaboğa F. Deneysel Diyabetik Fare Beyin Dokusundaki Apoptotik Değişiklikler Üzerine d3 Vitamininin Etkisinin Araştırılması, *uzmanlık tezi*, Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2010.
74. Rathinam A, Pari L, Chandramohan R, Sheikh BA. Histopathological findings of the pancreas, liver, and carbohydrate metabolizing enzymes in STZ-induced diabetic rats improved by administration of myrtenal. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2014, 70: 935-946.
75. Hu W, Yeo JH, Jiang Y, Heo S, Wang MH. The antidiabetic effects of an herbal formula composed of *Alnus hirsuta*, *Rosa davurica*, *Acanthopanax senticosus* and

- Panax schinseng in the streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research and Practice*, 2013, 7: 103-108.
76. Gedik O. Tip 2 ve Tip 1 diyabet gelişmesinin önlenmesi. *Türkiye Tıp Dergisi*, 2004, 11: 10-17.
77. Mokhtare B. Metformin HCl Yüklü İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Hazırlanması ve *in vivo* Değerlendirilmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*, 2015.
78. Ananda PK, Kumarappan CT, Sunil C, Kalaichelvan VK. Effect of biophytum sensitivum on streptozotocin and nicotinamide-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012, 2: 31-35.
79. Bisht R, Bhattacharya S. Effect of various extracts of Desmodium gangeticum on streptozotocin-nicotinamide induced type-2 diabetes. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2013, 3: 28-34.
80. Viollet, B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clinical Science*, 2012, 122: 253-270.
81. McCullochDK, Munshi M. Treatment of Type-2 diabetes mellitus in the older patient. www.uptodate.com/contents/treatment-of-type-2-diabetes-mellitus-in-the-older-patient, 2015.
82. Grzybowska M, Bober J, Olszewska M. Metformin-mechanisms of action and use for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Postepy Hig Med Dosw*, 2011, 65:277-285.
83. Güğündoğdu N. Polimerik Taşıyıcı Sistem Geliştirilmesi ve *in vitro* Karakterizasyon. *Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum*, 2012.

84. Erdoğan G. Koloğlu endokrinoloji temel ve klinik. 2. Baskı. Ankara: MN Medikal ve Nobel Tıp Kitap Sarayı, 2005.
85. Sweetman S. Martindale: The complete drug reference, Electronic version, London Pharmaceutical Press, 2007.
86. Ayvaz G, Kan E. Tip 2 diabetes mellitus tedavisinde oral antidiyabetik ilaçlar tip 2 diabetes mellitus tedavisi. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, 2010, 23-24, 8-13.
87. Ahmann, AJ, Riddle MC. Current oral agents for type 2 diabetes: Many options, but which to choose when. *Postgraduate Medicine*, 2002, 111: 32-46.
88. Bloomgarden ZT, Futterweit W, Poretsky L. Use of insulin-sensitizing agents in patients with polycystic ovary syndrome. *Endocrine Practice*, 2001, 7: 279-286.
89. Marathe PH, Wen Y, Norton J, Greene DS, Barbhaiya RH, Wilding IR. Effect of altered gastric emptying and gastrointestinal motility on metformin absorption. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2000, 50: 325-332.
90. Manton ND, Lipsett J, Moore DJ, Davidson GP, Bourne AJ, Couper RTL. Nonalcoholic steatohepatitis in children and adolescents. *Medical Journal of Australia*, 2000, 173: 476-479.
91. Uygun A, Kadayifci A, Isik AT, Ozgurtas T, Deveci S, Tuzun A, Yesilova Z, Gulsen M, Dagalp K. Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2004, 19: 537-544.
92. La Brecque DL, Feigenbawn A, Bachur NR. Effects on hepatic regeneration and hepatic regenerative stimulator substance. *Science*, 1978, 199:1082-1084.
93. Younossi ZM, Matteoni CA, Gramlich T. Patient characteristics cirrhosis and death in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1998, 28:303.

94. Manton ND, Lipsett J, Moore DJ, Davidson GP, Bourne AJ, Couper RTL. Nonalcoholicsteatohepatitis in children and adolescents. *Medical Journal of Australia*,2000, 173:476-479.
95. Torlak OA. Ratlarda Nonalkolik Yağlı karaciğerde Rezeksiyon Sonrası Metforminin karaciğer Rejenerasyonuna Etkisi. *Uzmanlık tezi*, İstanbul, T.C. Sağlık bakanlığı Dr. Lutfi Kırdarkartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2005.
96. Vural H, Sabuncu T, Arslan SO, Aksoy N. Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. *Journal of pineal research*, 2001, 31:193-198.
97. Pagano G, Tagliaferro v, Carta Q, Caselle MT, Bozzo C, Vitelli F, Trovati M, Cocuzza E. Metformin reduces insulin requirement in Type 1 (insulin-dependent). *Diabete*, 1983, 24:351-4.
98. Janssen M, Rillaerts E, De Leeuw I. Effects of metformin on haemorheology, lipid parameters and insulin resistance in insulin-dependent diabetic patients (IDDM). *Biomed Pharmacother*, 1991, 45:363-7.
99. Hamilton J, Cummings E, Zdravkovic V, Finegood D, Daneman D. Metformin as an adjunct therapy in adolescents with type 1 diabetes and insulin resistance: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*, 2003, 26:138-43.
100. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes. *The Lancet*, 1998, 352: 854-65.
101. Ralph A, DeFronzo MD, Anita M, Goodman MD, The Multicenter Metformin Study Group. Efficacy of metformin in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, 1995, 333:541-9.

102. Salem Mohamed Y, El-Azab Nahla El-Eraky. The possible protective role of aloe vera extracts in pancreatic β cells of experimentally induced diabetic rats: a histological and immunohistochemical study. *The Egyptian Journal of Histology*, 2014, 37:571-578.
103. Vardı N, Uçar M, Iraz M, Öztürk F. Deneysel diyabetin sıçan endokrin pankreasında oluşturduğu morfolojik değişiklikler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 2003, 23: 27-32
104. Presnell J, Schreibman MP. Animal Tissue Techniques. 5th ed. London. The Johns Hopkins University Press Ltd, 269-271, 1997.
105. Karatuğ A. STZ Diyabetik Farelere Uygulanan Kombine Antioksidanın Pankreas Üzerine İmmunohistokimyasal ve Biyokimyasal Etkileri. Fen Bilimleri Enstitüsü, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Üniversitesi, 2009.
106. Lebovitz HE. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. In: Lebovitz HE (Ed) Therapy for Diabetes mellitus and related disorders. *American Diabetes Association clinical education series*, 4 th ed. Virginia, 4-7, 1998.
107. WHO The World Health Report. Life in the 21st Century-a Vision for All. Geneva, Switzerland, WHO, 1998.
108. Nayak BS, Roberts L. Relationship between inflammatory markers, metabolic and anthropometric variables in the Caribbean type 2 diabetic patients with and without microvascular complications. *Journal of Inflammation*, 2006, 3: 17.
109. Rizza RA. Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: implications for therapy. *Diabetes*, 2010, 59: 2697-2707.
110. Thulé PM. Mechanisms of current therapies for diabetes mellitus type 2. *Advances in Physiology Education*, 2012, 36: 275-283.

111. Andersson AK, Sandler S. Melatonin protects against streptozotocin, but not interleukin-1 β -induced damage of rodent pancreatic B-cell. *Journal of Pineal Research*, 2001, 30: 157-165.
112. Rao VSN, Santos FA, Silva RM. Effects of nitric oxide synthase inhibitors and melatonin on the hyperglycemic response to streptozotocin in rats. *Vascular Pharmacology* 2002, 38: 127-130.
113. Gür S. Antidiyabetik aktivite araştırma yöntemleri. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, 2010,23-24, 49-52.
114. Kurçer Z, Karaoğlu D. Deneysel diyabet modellerinde alloksan ve streptozotosin kullanımı. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2012, 16: 34-40.
115. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological Research*, 2005, 52: 313-320.
116. Baydas G, Canatan H, Turkoglu A. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin C on streptozocin-induced diabetes mellitus. *Journal of Pineal Research*, 2002, 32: 225-230.
117. Masiello P. Animal models of type 2 diabetes with reduced pancreatic beta-cell mass. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2006, 38: 873-93.
118. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, Novelli M, Ribes G. Development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*,1998, 47: 224-229.
119. Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review). *Acta Physiologica Hungarica*, 2014, 101: 408-20.

120. Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine*, 2012, 237: 481-490.
121. Barik R, Jain S, Qwatra D, Joshi A, Tripathi GS, Goyal R. Antidiabetic activity of aqueous root extract of *ichnocarpus frutescens* in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 2008, 40: 19-22.
122. Weng Y, Yu L, Cui J, Zhu YR, Guo C, Wei G, Duan JL, Yin Y, Guan Y, Wang YH, Yang ZF, Xi MM, Wen AD. Antihyperglycemic, hypolipidemic and antioxidant activities of total saponins extracted from *Aralia taibaiensis* in experimental type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 152: 553-560.
123. Pierre W, Gildas AJ, Ulrich MC, Modeste WN, Benoit NT, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *bersama engleriana* leaves in nicotinamide/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 12: 264.
124. Shirwaikar A, Rajendran K, Barik R. Effect of aqueous bark extract of *Garuga pinnata* Roxb. in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 107: 285-290.
125. Nayak Y, Hillemane V, Daroji VK, Jayashree BS, Unnikrishnan MK. Antidiabetic activity of benzopyrone analogues in nicotinamide-streptozotocin induced type 2 diabetes in rats, *The Scientific World Journal*, 2014, 12.
126. Tahara A, Matsuyama Yokono A, Nakano R, Someya Y, Shibasaki M. Hypoglycaemic effects of antidiabetic drugs in streptozotocin-nicotinamide-

- induced mildly diabetic and streptozotocin-induced severely diabetic rats. *Basic Clinical Pharmacology and Toxicology*, 2008,103: 560-568.
127. Ozmen O, Topsakal S, Sahinduran S, Ozcelik M. Effect of insufficient insulin treatment in streptozotocin-induced diabetes mellitus, *Pancreas*, 2007, 34, 354-358.
128. Nakamura T, Terajima T, Ogata T, Ueno K, Hashimoto N, Ono K, Yano S. Establishment and pathophysiological characterization of type 2 diabetic mouse model produced by streptozotocin and nicotinamide. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2006, 29,1167-74.
129. Szkudelska K, Nogowski L, Szkudelski T. Adipocyte dysfunction in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes. *International Journal of Experimental Pathology*, 2014, 95: 86-94.
130. Abunasef SK, Amin HA, Abdel-Hamid GA. A histological and immunohistochemical study of beta cells in streptozotocin diabetic rats treated with caffeine.*Folia Histochemica et Cytobiologica*, 2014, 52: 42-50.
131. Florence AJ, Yeager FB. Treatment of type 2 diabetes mellitus. *American Family Physician* 1999, 59: 2835-44.
132. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Cilt:3, 2491-2565, 1993.
133. Dinççağ N. Diabetes mellitus tanı ve tedavisinde güncel durum. *İç Hastalıkları Dergisi*, 2011, 18: 181-223.
134. Patanè G, Piro S, Rabuazzo AM, Anello M, Vigneri R, Purrello F. Metformin restores insulin secretion altered by chronic exposure to free fatty acids or high glucose, adirect metformin effect on pancreatic-Cells.*Diabetes*, 2000, 49: 735-739.

135. Gregg B, Elghazi L, Alejandro EU, Smith MR, Rosano MB, El-Gabri D, Cras-Méneur C, Bernal-Mizrachi E. Exposure of mouse embryonic pancreas to metformin enhances the number of pancreatic progenitors. *Diabetologia*, 2014, 57: 2566-2575.



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Behzad MOKHTARE
Doğum tarihi: 22.04.1985
Doğum yeri: Tabriz,İRAN
Medeni hali: Bekar
Uyruğu: İranlı
Adres: Erzurum, Hacı Ahmet Baba Mah, Arzum Apt, A block, 5.kat, No: 10
Tel: 0090 507 826 55 45
Faks:
E-mail: Behzad_m_64@yahoo.com
Eğitim
Lise: Sahand
Lisans: Şabister Üniversitesi
Yüksek lisans: Atatürk Üniversitesi
Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce – Farsça – Azerice - Arapça
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar

İlgi Alanları ve Hobiler
Kitap okuma, Müzik dinleme, Spor, sosyal aktiviteler, Araba yarışı, sinemaya gitmek

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



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

Sayı : 36643897-173

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

15.11.2013
ERZURUM

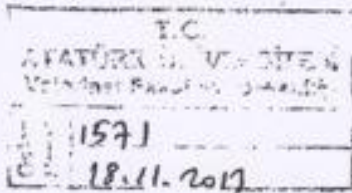
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 14.11.2013 tarih ve 36643897-978 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Yavuz Selim SAĞLAM'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "Deneyisel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Metformin HCl Etkisinin Histopatolojik Olarak Araştırılması" başlıklı Yüksek Lisans Tezi çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 14.11.2013 tarih ve 6 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 145 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.



Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan

Toplantı Tarihi : 14.11.2013

Toplantı Sayısı : 6

KARAR NO : 145- Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Yavuz Selim SAĞLAM'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "Deneyisel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Metformin HCl Etkisinin Histopatolojik Olarak Araştırılması" başlıklı Yüksek Lisans Tezi çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 14.11.2013 tarih ve 36643897-978 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen Yüksek Lisans Tezi çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-236 08 80 Fax : 0-442-236 08 81 e-mail: hadyek@atauni.edu.tr