

TIP 1 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
SİNARİN ve OLEUROPEİN' NİN OKSİDAN-
ANTIOKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ

RÜVEYDE KÖKTENTÜRK



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TİP 1 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA SİNARİN ve OLEUROPEİN'
NİN OKSİDAN-ANTIOKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ**

RÜVEYDE KÖKTENTÜRK

DANIŞMAN

Doç.Dr. SİBEL TAŞ

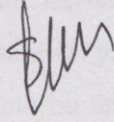
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

BURSA - 2014

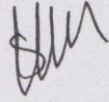
TEZ ONAYI

Rüveyde Köktentürk tarafından hazırlanan "Tip I Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Sinarin Ve Oleuropeinin Oksidan ve Antioksidan Sistemler Üzerine Etkisi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ OLARAK** kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Sibel TAŞ



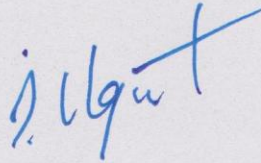
Başkan: Doç. Dr. Sibel TAŞ



Üye: Prof. Dr. Naciye İŞBİL-BÜYÜKCOŞKUN



Üye: Prof. Dr. İsmail H. UĞURTAŞ



Yukarıda sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR

Enstitü Müdürü

18/03/2014

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

19/03/2014

Rüveyde KÖTENTÜRK

ÖZET

Yüksek Lisans

TİP 1 DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA SİNARİN ve OLEUROPEİN' NİN OKSİDAN-ANTIOKSİDAN SİSTEMLER ÜZERİNE ETKİSİ

Rüveyde KÖKTENTÜRK

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Sibel TAŞ

Diyabetes Mellitusta kan glukoz ve lipit düzeylerinde gözlenen artışa bağlı olarak gelişen oksidatif stres diyabet komplikasyonlarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Sinarin ve Oleuropein ise artan kan glukozu ve lipit düzeylerini düşürerek ve antioksidan enzim sistemlerine etki ederek oksidatif stresi azaltabilir. Bu çalışmada, streptozotosin ile tip 1 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda sinarin ve oleuropeinin kan glukozuna ve oksidan-antioksidan sistemler üzerine etkisi araştırıldı. Tip 1 diyabet streptozotosinin sıçanlara tek doz (65mg/kg) intraperitoneal olarak enjeksiyonu ile oluşturuldu. Oleuropein, Sinarin ve Oleuropein + Sinarin (%10) içme suyuna 5 hafta boyunca eklendi. Wistar türü erkek sıçanlar rastgele kendi aralarında sekiz gruba ayrıldı; kontrol (K), kontrol oleuropein (K+OLEE), kontrol sinarin (K+CYE), kontrol oleuropein + sinarin (K+OLEE+CYE), diyabet (D), diyabet oleuropein (D+OLEE), diyabet sinarin (D+CYE), diyabet oleuropein + sinarin (D+O+S). Kontrol + Oleuropein, kontrol + sinarin ve kontrol + oleuropein + sinarin gruplarında kontrol grubuna göre serum trigliserit, plazma ve doku malondialdehit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken, kan glutatyon peroksidaz ve eritrosit süperoksit dismutaz aktivitelerinde anlamlı bir artış saptandı. Diyabet + oleuropein, diyabet + sinarin ve diyabet + oleuropein + sinarin gruplarında diyabet grubuna göre kan glukoz, serum total kolesterol, trigliserit ve doku malondiadehit düzeylerinde anlamlı bir azalma bulunurken, serum insülin, kan glutatyon peroksidaz, eritrosit süperoksit dismutaz, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinde ise anlamlı artış olduğu saptandı.

Sonuç olarak bu çalışmada oleuropeinin ve sinarinin tip 1 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, antihiperglisemik, antihiperlipidemik ve antioksidan etki gösterdiği bununla birlikte oksidatif strese karşı koruyucu ve /veya önleyici etki göstermesi nedeniyle diyabette tedaviyi destekleyici olarak kullanılmasının yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Diyabet, streptozotosin, *Olea europaea*, oleuropein, *Cynara scolymus*, sinarin, oksidatif stres. 2014, i+62.

ABSTRACT

MSc Thesis.

CYNARIN AND OLEUROPEIN IN TYPE 1 DIABETIC RATS: EFFECTS ON THE OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEMS

Rüveyde KÖKTENTÜRK

Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Sibel TAŞ

Oxidative stress can be induced by blood glucose and lipid levels in Diabetes Mellitus, which can lead to the emergence of diabetes complications. However, cynarin and oleuropein can decrease oxidative stress by reducing enhanced blood glucose and lipid levels, and effecting antioxidant enzyme systems. This study was designed to investigate the effects of oleuropein and cynarin on hypoglycemic, oxidant and antioxidant systems in streptozotocin induced type 1 diabetes. Type 1 diabetes were constituted with injection intraperitoneally one dose of streptozotocin (65mg/kg). Cynarin, oleuropein and cynarin+oleuropein (%10) was supplemented in drinking water for 5 weeks. Wistar rats were randomly divided into eight groups; control (C), control+oleuropein (C+OLEE), control+cynarin (C+CYE), control+oleuropein+cynarin (C+OLEE+CYE), diabet (D), diabet+oleuropein (D+OLEE), diabet+cynarin (D+CYE) and diabet+oleuropein+cynarin (D+OLEE+CYE). Serum triglyceride, plasma and tissue MDA levels were observed to be significantly reduced while serum total antioxidant capacity were significantly increased in control oleuropein, control cynarin and control oleuropein+cynarin group when compared with control group. Tissue MDA, blood glucose, serum total cholesterol and triglyceride levels were significantly reduced while serum insulin, blood glutathione peroxidase and erythrocyte superoxide dismutase, serum paraoxonase and arylesterase activities were significantly increased in diabet oleuropein, diabet cynarin and diabet oleuropein+cynarin group when compared with diabet group.

In conclusion, with this study, it reported that oleuropein and cynarin have antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant features, and besides that they have a protective and preventive effect against oxidative stress. It can be used to supplement and support the treatment of diabetes on rats which were exposed to type 1 diabetes.

Key words: Diabetes, streptozotocin, *Olea europaea*, oleuropein, *Cynara scolymus*, cynarin, oxidative stress, antioxidant. 2014, ii+62.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bana her konuda yardımcı ve destek olan değerli danışmanım Doç. Dr. Sibel TAŞ' a, laboratuvar olanaklarını sağlayan Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Melehat DİRİCAN' a, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Araş. Gör. Sedef ZİYANOK' a, her zaman yanımda olan ailem ve H.Muhammet AKGÜL' e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜRLER.....	iii
SİMGE ve KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1.GİRİŞ	1
2.KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus, Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller, Antioksidanlar..3	
2.1.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus.....	3
2.1.2. Oksidatif Stres.....	4
2.1.3. Serbest Radikaller.....	4
2.1.3.1. Serbest Radikal Kaynakları	7
2.1.3.1.1. Endojen Kaynaklar.....	7
2.1.3.1.2. Eksojen Kaynaklar.....	8
2.1.4. Antioksidanlar Mekanizmaları.....	9
2.1.4.1.Enzim Yapısında Olan Antioksidanlar.....	9
2.1.4.2 Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar.....	11
2.2. Diyabet ve Oksidatif Stresle İlişkisi.....	14
2.3. <i>Olea europaea</i> ve <i>Cynara scolymus</i> Ekstratlarının Diyabetle İlişkisi.....	17
2.3.1. <i>Olea europaea</i> İçeriği ve Diyabetle İlişkisi	17
2.3.2. <i>Cynara scolymus</i> İçeriği ve Diyabetle İlişkisi	21
3. MATERYAL	22
3.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar.....	22
3.2. Hayvanların Gruplandırılması.....	22
3.3. Diyabetin oluşturulması ve <i>Olea europaea</i> yaprağı ekstraktı ve <i>Cynara scolymus</i> yaprağı ekstraktının uygulanması.....	23

3.4. Sıçanlara maddelerin verilışı.....	23
3.5. Örneklerin Toplanması.....	23
3.6. Araç ve Gereçler.....	24
3. 7. Ticari Kitler.....	24
3. 8. Kimyasal Malzemeler.....	24
4.YÖNTEM.....	26
4.1. Serum Total Kolesterol, HDL-K ve Trigliserit Ölçümü.....	26
4.2. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü.....	26
4.3. Eritrosit GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü.....	27
4.4. Serum Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü.....	28
4.5. Serum Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü.....	29
4.6. Doku (Kalp, Karaciğer, Böbrek ve Gastrocnemius kası) MDA Düzeyi Ölçümü.....	29
4.7. Plazma MDA Düzeyi Ölçümü.....	30
5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	30
6.SONUÇLAR.....	31
7.TARTIŞMA.....	51
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	65

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ4

Simgeler

Açıklama

Δ	Delta
δ	Delta
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
Mmol	Mikromol
%	Yüzde

Kısaltmalar

Açıklama

ARE	Arilesteraz
DNA	Deoksiribonükleik asit
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
GR	Glutasyon reduktaz
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
G6PD	Glukoz-6- fosfat dehidrogenaz.
$\text{HO}_2\cdot$	Perhidroksil Radikali
H_2O_2	Hidrojen Peroksit Radikali
HDL	High Density Lipoprotein
HDL-K	HDL-Kolesterol
HOCL	Hipoloröz Asit
IDDM	Insulin Dependent Diabetes Mellitus
KAT	Katalaz
LDL	Low Density Lipoprotein
MDA	Malondialdehit
NADP	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat (okside)
NADPH	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat (redükte)

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

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Non-enzimatik glikozilasyon şeması.....	16
Şekil 2. Poliöl yolu.....	17
Şekil 6.1. Kontrol, Kontrol + <i>Olea europea</i> ekstratı, Kontrol + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol + <i>Olea europea</i> ekstratı + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen vücut ağırlığı değişimi....	34
Şekil 6.2. Kontrol, Kontrol + <i>Olea europea</i> ekstratı, Kontrol + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol + <i>Olea europea</i> ekstratı + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen kan glukoz değişimi.....	34
Şekil 6.3. Diyabet, Diyabet + <i>Olea europea</i> ekstratı, Diyabet + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet+ <i>Olea europea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen vücut ağırlığı değişimi.....	35
Şekil 6.4. Diyabet, Diyabet + <i>Olea europea</i> ekstratı, Diyabet + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet + <i>Olea europea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen kan glukoz değişimi.....	35
Şekil 6.5. Kontrol, Kontrol <i>Olea europeae</i> ekstratı, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol <i>Olea europea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet, Diyabet <i>Olea europeae</i> ekstratı, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet <i>Olea europeae</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kalp MDA Düzeyleri.....	43

Şekil 6.6. Kontrol, Kontrol <i>Olea europaeae</i> ekstratı, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol <i>Olea europaeae</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet, Diyabet <i>Olea europaeae</i> ekstratı, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> , Diyabet <i>Olea europea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kas MDA Düzeyleri.....	44
Şekil 6.7. Kontrol, Kontrol <i>Olea europaeae</i> ekstratı, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol <i>Olea europaeae</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet, Diyabet <i>Olea europaeae</i> ekstratı, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet <i>Olea europea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Karaciğer MDA Düzeyler.....	45
Şekil 6.8. Kontrol, Kontrol <i>Olea europaeae</i> ekstratı, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol <i>Olea europaeae</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet, Diyabet <i>Olea europaeae</i> ekstratı, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> , Diyabet <i>Olea europea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Böbrek MDA Düzeyleri.....	46
Şekil 6.9. Kontrol, Kontrol <i>Olea europaeae</i> ekstratı, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol <i>Olea europaeae</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet, Diyabet <i>Olea europaeae</i> ekstratı, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> , Diyabet <i>Olea europea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Plazma MDA Düzeyleri.....	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1. Sık tartışılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri.....	5
Çizelge 4.1. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü, Deneyin Yapılışı.....	27
Çizelge 4.3. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü, Deneyin Yapılışı.....	29
Çizelge 6.1. Kontrol, Kontrol <i>Olea europaea</i> ekstratı, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol <i>Olea europaea</i> + <i>Cynara scolymus</i> , Diyabet, Diyabet <i>Olea europaea</i> ekstrat, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> ekstrat, Diyabet <i>Olea europaea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstrat gruplarında yem, sıvı alımı, vücut ağırlığı, glukoz ve insülin değerleri.....	36
Çizelge 6.2. Kontrol, Kontrol <i>Olea europaea</i> ekstrat, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstrat, Kontrol <i>Olea europaea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstrat, Diyabet, Diyabet <i>Olea europaea</i> ekstrat, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> ekstrat, Diyabet <i>Olea europaea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstrat, gruplarında kolesterol, trigliserit ve HDL-Kolesterol seviyeleri.....	37
Çizelge 6.3. Kontrol, Kontrol <i>Olea europaea</i> ekstrat, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstrat, Kontrol <i>Olea europaea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstrat, Diyabet, Diyabet <i>Olea europaea</i> ekstrat, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> ekstrat, Diyabet <i>Olea europaea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstrat gruplarında Eritrosit GSHPx, Eritrosit SOD, serum PON ve Arilesteraz değişimleri.	40
Çizelge 6.4. Kontrol, Kontrol <i>Olea europaea</i> ekstratı, Kontrol <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kontrol <i>Olea europaea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Diyabet, Diyabet <i>Olea europaea</i> ekstratı, Diyabet <i>Cynara scolymus</i> , Diyabet <i>Olea europaea</i> + <i>Cynara scolymus</i> ekstratı, Kalp, Kas, Karaciğer ve Böbrek Doku MDA ve Plazma MDA düzeyleri..	48

1.GİRİŞ

Diyabetes Mellitus (DM), insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azalması sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozulmaya yol açan kronik bir hastalıktır. Diyabet, Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki grup altında toplanır. Tip1 diyabet, pankreastan salgılanan endojen insülinin eksikliği veya yokluğuna bağlı olarak gelişir ve IDDM; Insulin Dependent Diabetes Mellitus-insüline bağımlı diyabet olarak adlandırılır. Tip 2 diyabet ise, İnsüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM: Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus) olarak da adlandırılmakta ve insülin direnci, insülin salgılanmasında bozukluk ve hepatik glikoz üretiminde artış gibi metabolik bozukluklara bağlı olarak gelişir (Yenigün ve Altuntaş 2001). Fakat tip 2 diyabetin oluşmasında insülin direnci ve insülinin salgılanmasındaki bozukluk arasındaki etkileşim daha önemlidir. İnsülin, karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glikoz üretimini baskılar ve glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşır. İnsülin direncinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glukoz supresyonu bozulur. İnsüline direnç oluşmasıyla beta hücrelerinde sürekli olarak insülin salgısı artar ve beta hücrelerinde oluşan disfonksiyon sonucunda insülin salgılanmasında bozukluk meydana gelir. İnsülin salgılanmasında ortaya çıkan bozukluk hiperglisemiye neden olur (Yenigün ve Altuntaş 2001). Hiperglisemi durumlarında glukozun hücre içine alınmasının insülininden bağımsız olduğu eritrosit, beyin, böbrek, lens, periferik sinirler gibi dokularda intrasellüler konsantrasyonu artan glukoz, proteinlere enzimatik olmayan bir tepkime sonucu bağlanmaktadır ve bu durum serbest radikallerin oluşmasına sebep olabilir. Diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur. Oksidatif stresde reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengesizlik diyabetin kronik komplikasyonlarına neden olmaktadır. Bir başka deyişle hiperglisemi oksidatif strese yol açmaktadır. Oksidatif stres serbest radikaller (oksidan veya prooksidan) ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Antioksidanlar oksidanları inaktif hale getiren maddelerdir. Diyabette bilinen antioksidan maddeler antioksidan vitaminler (E vitamini, A vitamini ve C vitamini), antioksidan enzimler [Süperoksid Dismutaz (SOD), katalaz(KAT), Glutasyon

peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon S –Transferaz (GST), Glutasyon Redüktaz (GR)]’dır (Memişoğulları 2005). Son yıllarda paraoksanaz (PON) ve arilesteraz (ARE) enzimi antioksidan özelliklerinin ortaya konması nedeniyle güncellik kazanmıştır. PON ve ARE, aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan esteraz grubundaki enzimlerdir. PON1’in çeşitli formlarda (polimorfik) değişim gösterdiği bilinmesine karşın ARE enzimi genetik polimorfik bir değişim göstermemektedir. PON1 enzimi LDL (Low Density Lipoprotein)’ i oksidasyondan koruyucu özelliği ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere diğer radikalleri nötralize etme kapasitesi nedeniyle antioksidan işlevde bulunmaktadır. ARE ise, PON1’ deki değişimlerden etkilenmeyen asıl proteinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Memişoğulları 2005). Diyabet, serbest radikallerin arttığı ve/veya antioksidan mekanizmaların inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından birisidir. Çeşitli yayınlarda bazı antioksidan enzimlerin azaldığı, arttığı veya değişmediği rapor edilmişse de araştırmacıların kesinlikle fikir birliğine vardıkları konu diyabette lipid peroksidasyonunun arttığı ve antioksidan mekanizmaların bozulmuş olduğudur. Bu yüzden diyabet tedavisinde antidiyabetiklere ek olarak antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikleri olan antidiyabetiklerin kullanılması, oksidatif stresle başa çıkabilmek için tavsiye edilmektedir (Memişoğulları 2005). Bu amaçla araştırılan antioksidan özelliği olan maddelerden biri *Cynara scolymus* (enginar yaprağı) diğeride *Olea europaea* (zeytin)’ dir.

Yapılan araştırmalarda *Cynara scolymus* ve *Olea europaea* bitkilerinin içeriğinin antioksidan özelliği olduğu belirtilmektedir. *Olea europaea* bitkisinin, antioksidan, anti-inflamatuar, anti-kanser, anti-viral, anti-mikrobiyal, anti-yaşlanma, anti-ajan, anti-aterojenik ve deri koruyucu özellikte olduğu gösterilmiştir (Uysal ve ark.2011).

Yapılan araştırmalarda deneysel olarak diyabet oluşturulmuş hayvanlarda zengin *Olea europaea* (zeytin) diyetleri dokulardaki oksidatif stresi azaltmakta olduğu ve glutasyon antioksidan seviyesini artırdığı da belirtilmektedir (Omar 2010). *Olea europaea* ‘nin in vitro şartlarda yüksek bir antioksidan etkiye sahip olduğu, süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri ve hipoklorozdan türemiş radikalleri temizlediği bildirilmiştir (Andreadou ve ark. 2006). *Cynara scolymus* yaprağının basal MDA üretimini engelleyemediği fakat MDA oluşumuyla uyarılan hidrojenperoksiti önlediği belirtilmiştir (Gibhardt 1997).

Yaptığımız literatür taramalarında tip 1 diabetli sıçanlarda *Olea europaea* ekstratı ve *Cynara scolymus* ekstratının oksidan–antioksidan sistemler üzerine etkisi ile ilgili sınırlı çalışma olduğu görülmüştür. Ayrıca, *Olea europaea* ekstratı ve *Cynara scolymus* ekstratının kombine olarak sıçanlara uygulandığı herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Bu amaçla, bu çalışmada antioksidan savunma sistemini tayin etmek için eritrosit SOD ve kan GSH-Px aktiviteleri, serum PON ve arilesteraz aktiviteleri saptandı. Aynı zamanda bu çalışmada oksidatif stresin göstergelerinden biri olan kalp, karaciğer, iskelet kası ve böbrek dokularında ve plazmadaki MDA düzeyleri tespit edildi. Ayrıca kan lipit profili; total kolesterol (TK), trigliserit (TG) ve yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K) düzeyleri tespit edildi.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus, Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller, Antioksidanlar

2.1.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus

Tip 1 diyabetes mellitus (DM) çocukluk yaş grubunda sık görülen T-hücrelerinin aracılık ettiği insülin üretiminde görev alan pankreasın beta hücrelerinin süregelen otoimmün veya otoimmün dışı nedenlerle haraplanması sonucu gelişen insülin yetersizliği ve hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır (Abacı ve ark. 2007). Genetik ve çevresel faktörler, pankreasın adacık hücrelerine karşın otoimmün sürecin başlamasında tetikleyicidirler (Abacı ve ark.2007). Otoimmün kaynaklı tip 1 DM’de insülin sekresyonudaki azalma iki mekanizma ile olmaktadır. Bunlardan birincisi pankreasın beta hücrelerinin haraplanması iken diğer mekanizma ise ortamdaki sitokinlerin pankreasın beta hücrelerinden insülin sekresyonunu azaltmaları ile olmaktadır (Abacı ve ark. 2007). İnsülinin azalması ve yokluğunda; insülin salgılanmaması hiperglisemiye sebep olur. Hipergliseminin nedeni hücrelerin glukozu kullanmaması, glukozun kanda kalmasıdır. Kandaki glukoz miktarı böbrekten geri emilimin eşik değerini aşarsa (litrede 1.8gr glukoz) böbrekler fazlasını kana aktaramaz ve idrarda glukoz görülür yani glukozüri gelişir. İnsülin yetersizliği sonucu hücelere glukoz giremeyince, hücre gerekli enerjisini başka kaynaklardan örneğin yağ asitlerinden sağlamaya çalışır. İnsülin yokluğunda glukagon salgılanması artar ve glukagon yağ asitlerini depolardan çözer ve kana verilmesini sağlar. Aşırı yağ

mobilizasyonu sonucu bol miktarda keton cisimleri meydana gelir. Ve kanda bol miktarda keton cisimleri bulunur yani ketozis gelişir. Fazla keton cisimlerinin (asetoasetik asit ve β -hidroksi bütirik asit) serbest bıraktığı hidrojen iyonları kan pH'sını asit yönünde değiştirir yani asidozis gelişir. Kan glukoz düzeyindeki yükselme osmotik basınca sebep olduğu için böbrek tübülus epitelyum hücrelerinden suyun tübül sistemine geçmesine neden olur ve buna bağlı olarak poliüri (aşırı idrara çıkarma), buna bağlı olarak vücut su kaybına uğradığı için ileri derecede susuzluk nedeniyle polidipsi (aşırı su içme) görülür. İnsülin yokluğuna bağlı glukoz hücreye giremediği için hücrenin açlığı vücudun açlığı şeklinde belirir ve polifaji (iştah artması) görülür (Noyan 1995).

2.1.2 Oksidatif Stres

Organizmada oksidan-antioksidan'lar bir denge içinde bulunur, bu dengenin özellikle oksidanlar lehine bozulması, membran lipitleri, proteinler ve DNA gibi hücrenin yaşamsal yapılarında bütünlüğün bozulmasına ve canlıda patolojik olayların gelişmesine yani oksidatif stresin oluşmasına yol açar (Memişoğulları 2005). UV ışınları, ilaçlar, yağ oksidasyonu, immunolojik reaksiyonlar, radyasyon, stres, sigara, alkol ve biyokimyasal redoks reaksiyonları gibi pek çok yolla serbest radikal oluşumu gerçekleşebilir (Fang ve ark. 2002). Oluşan serbest radikaller aralarında ateroskleroz, kalp hastalıkları, kanser, serebrovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, akut renal yetmezlik, akciğer hastalıkları, anfiyem, bronşit ve alkolik karaciğer hastalıkları gibi yaşlanmaya bağlı dejeneratif bozuklukların da yer aldığı patolojik durumların oluşumuna katkıda bulunurlar (Fang ve ark. 2002).

2.1.3. Serbest Radikaller

Dış orbitallerinde eşleşmemiş elektron bulunan kısa ömürlü reaktif atom ve moleküller serbest radikal olarak adlandırılırken, radikal ve reaksiyonlarını önlemeye çalışan maddeler ise antioksidan olarak adlandırılır. Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler 'oksidan' veya 'prooksidan' olarak da tanımlanmaktadır. Hücre metabolizmasının bir ürünü olan radikaller ve antioksidan savunma elemanları bilimsel gündemin en çok tartışılan parametreleridir (Dündar ve Aslan 2000).

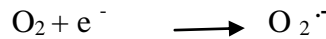
Çizelge 1. Sık tartışılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri

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

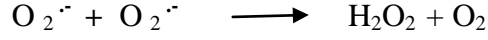
Bununla birlikte diyabette oksidatif strese yol açan serbest radikaller, O₂ (süperoksit radikali) , OH[·] (hidroksil radikali), H₂O₂ (Hidrojen peroksit radikali), NO (Nitrikoksit radikali) ve geçiş metalleridir (Memişoğulları 2005).

- **O₂^{·-} (Süperoksit Radikali)**

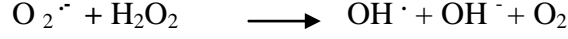
Süperoksit radikali moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamaktır ve oluştuğu yerden fazla uzağa difüze olamaz. Örneğin, bir elektron alarak indirgenmesi, NADPH (nikotin amid difosfat hidrojen)' e bağlı olarak dehidrogenazdan elektron sızmasına ve süperoksit radikali oluşumuna yol açar.



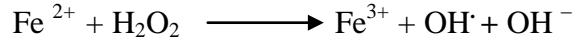
Süperoksit radikali, 7.2'lik pH'da 3.8×10^{-5} M/s sabitesinde daha stabil bir metabolit olan H_2O_2 'e dönüşür.



Süperoksit, Cu^{+2} gibi geçiş metalleri ve radikal türevleriyle kolay reaksiyona girer ve H_2O_2 ile 'Haber - Weis' tepkimesini vererek oldukça toksik hidroksil radikalini oluşturur.

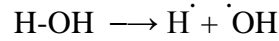


Demir iyonları katalizörlüğünde 'Fenton tepkimesi' gerçekleşir ve reaksiyon ortalama 4000 kez hızlanır (Dündar ve Aslan 2000)



- **OH[·] (Hidroksil Radikali)**

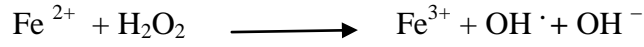
Hidroksil, bilinen en reaktif radikaldir. Aminoasitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerin birçoğuyla reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^+ 'in birleşmesinden oluşur. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve iki radikal oluşur. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülden H atomu çıkarılmasını sağlar (Memişoğulları 2005).



- **H₂O₂ (Hidrojen peroksit radikali)**

Doğal oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki H molekülü ile birleşirse H_2O_2 oluşur. H_2O_2 süperoksidin SOD ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak ta üretilebilmektedir. H_2O_2 aslında radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin aksine membranları geçen, sitozole difüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Bu nedenle süperoksidin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksidle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak

üzere kolaylıkla yıkılabilir. Hidrojen peroksit başka bir şekilde de serbest Fe⁺² ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşur.

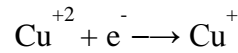
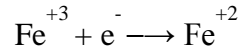


Bu da doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açabilen vazodilatasyon kaybına neden olur (Memişoğulları 2005).

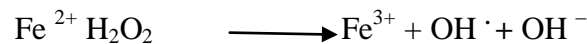
- **NO (Nitrikoksit radikali)**

NO, nitrik oksit sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksit düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur.

- **Geçiş Metalleri**



Gibi bir elektronun alınması ve verilmesi durumlarında bu serbest metal iyonları radikal reaksiyonunu hızlandırır. Metal iyonları lipid peroksidasyonu esnasında rol oynarlar. Oluşmuş lipid hidroperoksitlerin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu katalize ederler. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler. Fenton reaksiyonu olarak bilinen reaksiyonda Fe⁺² iyonlarının H₂O₂' i indirgeyip .OH oluşturabildikleri bilinmektedir (Memişoğulları 2005).



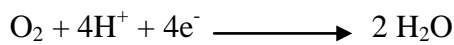
2.1.3.1. Serbest Radikal Kaynakları

2.1.3.1.1. Endojen Kaynaklar

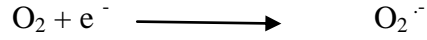
Normal metabolizma sırasında çeşitli basamaklarda serbest radikal yapısına sahip ara ürünler meydana gelmektedir.

- **Mitokondrial Elektron Transport Zinciri**

Makromoleküllerin yıkılmasıyla açığa çıkan elektronlar mitokondri iç membranında bulunan elektron taşıyıcıları aracılığıyla moleküler oksijene aktarılıp su oluşturulur.



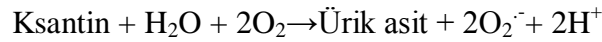
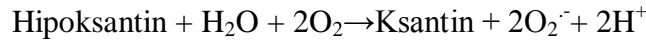
Elektronların elektron transport zincirinden kaçıp moleküler oksijenle direkt olarak reaksiyona girmesi süperoksit radikalini oluşturur.



Mitokondriyal solunum zincirinde akan elektronların yaklaşık olarak %1-2'si bu şekilde toksik bir ürünü oluşturmak üzere sızıntıya uğrar. Süperoksit radikallerinin üretimi ve salınımı iç mitokondri membranından sitozolik tarafa doğru olur (Kehrer ve Smith 1994).

- **Karma Fonksiyonlu Oksidazlar**

Aminoasit oksidaz, sitokrom oksidaz, monoamin oksidazlar, ksantin oksidaz en önemlileridir. Bunlardan özellikle ksantin oksidaz pürin katabolizmasının en son iki reaksiyonunu katalizleyen enzim olarak iskemik koşullarda fazla miktarda $\text{O}_2^{\cdot -}$ üretir. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürikasite oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir (Southorn ve Powis 1988).



- **Solunum Patlaması**

Nötrofiller fagositoz esnasında, membran ve sitoplazmalarında bulundurdukları NADPH oksidaz ve miyeloperoksidaz enzimleri ile hem serbest oksijen radikalleri hem de aşırı okside edici HOCL ajanları üreterek virüs, bakteri, mantar gibi ajan patojenlerini yok ederler. Bu işlem esnasında hem ana hem de ara ürün olarak çok fazla miktarda ROS oluşur (Babior 2000).

- **Prostaglandin Sentezi**

Prostaglandinlerin sentez edildiği lipooksijenaz ve siklooksijenaz ana metabolik yollarında farklı basamaklarda ROS üretilir. Bunların dışında ayrıca bazı küçük moleküllerin otooksidasyonu (tiyoller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, antibiyotikler gibi) ROS oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Jain ve ark. 1994).

2.1.3.1.2. Eksojen Kaynaklar

Çevresel kimyasal ajanlara maruz kalma, hücrelerde radikal oluşumu ve reaksiyonlarını artırarak oksidatif strese yol açmaktadır. Hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma,

organik yanık madde alımı yanmış gıdalar, sigara dumanı gibi ve iyonize edici radyasyon başlıca eksojen radikal kaynaklarıdır (Dündar ve Aslan 2000).

2.1.4. Antioksidanlar Mekanizmaları

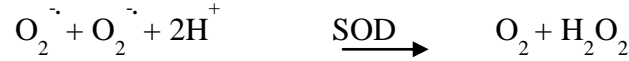
ROS'ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinirler (Dündar ve Aslan 2000).

Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir (Memişoğulları 2005).

2.1.4.1. Enzim Yapısında Olan Antioksidanlar

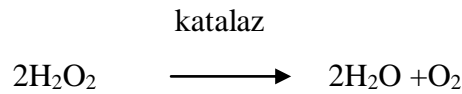
- **Süperoksid Dismutaz**

Metalloprotein olan SOD bir süperoksid molekülünü O₂ molekülüne yükseltgeyip, diğer süperoksid H₂O₂' e indirger (Dündar ve Aslan 2000). SOD, O₂⁻ radikalini katalitik olarak uzaklaştıran ve lipid peroksidasyonunu inhibe eden bir enzimdir (McCord ve Fridovich 1969).



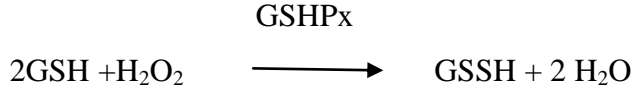
- **Katalaz**

Bir metalloenzim olarak bilinen katalaz enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir. SOD enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik hidrojen peroksit (H₂O₂) 'katalaz' enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülmektedir (Dündar ve Aslan 2000).



- **Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)**

Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücrel antioksidanlardır. Suda çözünebilen bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyona sahip olan glutasyon, biyolojik mebranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Aktivitesi için Se mineraline ihtiyaç duyan GSH-Px enzimi, glutasyonun indirgenmiş formu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSH) dönüştürmektedir (Dündar ve Aslan 2000)



Glutasyon aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen (O_2), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksi (OH) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir. (Memişoğlu 2005, Dündar ve Aslan 2000). Fagositik hücrelerde önemli bir fonksiyonu vardır. Solunum patlaması sırasında serbest radikal hasarı sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit birikmesine ve hücre hasarına yol açar. GSH-Px, hem lipit peroksidasyonunun başlamasını önler, hem de lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerin metabolizmasını sağlar (Fang ve ark. 2002).

- **Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz**

Pentoz fosfat yolunun ilk ve hız sınırlayıcı enzimi olarak bilinen G6PD (Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz), intrasellüler NADPH'ın da başlıca kaynağıdır. Üretilen NADPH ise serbest radikallerin detoksifikasyonunda rol oynayan GSH-Px enziminin aktivitesi için gerekli olan indirgenmiş GSH sağlamaktadır. Son yapılan çalışmalarda G6PD'nin vasküler endotelial hücreler ve düz kas hücrelerinde de serbest radikallere karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca G6PD'nin vasküler endotelial hücrelerde NADPH'ı kofaktör olarak kullanan eNOS (endotelial nitrik oksit sentaz) enziminin aktivitesi için de gerekli olduğu ve eksikliğinde eNOS'ın yeterli aktivite gösteremeyerek süperoksit radikali üretmeye başladığı ve sonuçta LDL oksidasyonunun tetiklenebileceği gösterilmiştir (Tian ve ark. 1999, Leopold ve ark. 2001).

- **Glutasyon Redüktaz (GR)**

Yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren 2 subünitten oluşmuş bir dimerdir. Her bir subünit: NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alan olmak üzere 3 tane yapısal alan içerir. Okside glutasyon bir subünitin FAD alanı ve diğer subünitin arayüz alanından oluşan bir bağlanma bölgesi vardır. Glutasyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'ye transfer edilir. Daha sonra subünitlerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatyon aktarılmış olur (Omar 2010). Yapılan çalışmalarda diyabette glutasyon redüktaz aktivitesinin azalmış olduğu belirtilmektedir.

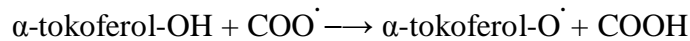
- **Paraoksonaz**

Paraoksonaz enzimi ilk olarak organofosfor zehirlenmesine karşı koruyucu bir bariyer olarak tanımlanmıştır. Bu enzim hakkında son yıllarda oldukça fazla sayıda araştırma yapılmış olup, sahip olduğu fonksiyonlar ve hastalıklardaki rolü hakkında büyük ilerleme kaydedilmiştir. Glikoprotein yapıda, kalsiyum bağımlı bir ester hidrolaz olan paraoksonaz (PON), hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip bir enzimdir (Uysal ve ark. 2011). Son yıllarda insan serum paraoksonazı (PON1) olarak tanımlanmış olup, son derece zehirli organofosfat tarım ilacı parationun toksik metaboliti paraoksonu (organofosfat substratı) hidroliz edebilmesinden dolayı bu ismi almıştır. PON1, hidrolize ettiği organofosfat substratlarına geri dönüşümlü olarak bağlanır. PON1, dolaşıma giren organofosfatların nörotoksisitesinden sinir sistemini koruyucu bir ajandır. *In vitro* çalışmalar, PON1 ve PON3'ün LDL'nin lipid oksidasyonunu inhibe ettiğini, böylece ateroskleroza başlatan ve ilerleten okside lipid seviyelerini azalttığını göstermiştir. PON1 aynı zamanda kolesterol esterlerinin peroksitlerini metabolize eder. PON'ların antiaterosklerotik aktivitesi HDL partikülleri üzerindeki lokalizasyonları ile yakından ilişkili olup; kolesterol (aterosklerotik lezyonlarda köpük hücrelerinden) akışına aracılık eder ve LDL'nin lipid oksidasyonunda sınırlama rolüne sahiptir (Uysal ve ark. 2011).

2.1.4.2. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar

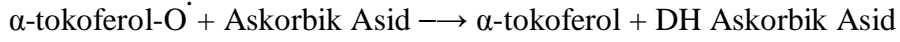
- **E Vitamini**

İlk olarak Evans tarafından 1938 yılında bulunmuştur. Yağda çözünen vitamin olduğu için hem sellüler hem de subsellüler membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur. Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. En aktif formu α -tokoferoldür. Zincir kırıcı antioksidan olarak fonksiyon görür. Hidrofobik kısmına hidrojenini kolaylıkla verebilen OH grubu bağlıdır. Bu yüzden lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidi yerine α -tokoferolle birleşerek reaksiyon zinciri kırılmış olur.



Böylece α -tokoferol yeni bir radikal olan α -tokoferol-O $^{\cdot}$ e dönüştürülmüş olur. Bu radikalın ise başka bir yağ asidiyle birleşebilme aktivitesi düşüktür. Sonuçta zincir

reaksiyonunu durdurur. Oluşan bu tokoferoksil radikali membran yüzeyinde askorbik asitle (C vitamini) reaksiyona girerek tekrar tokoferole dönüşmektedir.



α -tokoferol ve C vitamininin organizmada düşük düzeylerde olması miyokard enfarktüsü ve bazı kanserlerin artmış insidansı ile ilişkili bulunmuştur. Kutlu ve ark. 2005 diyabetli sıçanlara vitamin E ve C suplementasyonunun lipid peroksidasyonunu azalttığını rapor etmişlerdir.

- **C Vitamini (Askorbik Asit)**

Askorbik asit; moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olan ve sulu ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona girebilme kabiliyetinde olan suda eriyen bir vitamindir. Plazmada oksidan ajanlara karşı ilk antioksidan defansı oluşturur. LDL kolesterolün oksidasyonunu önleyerek ateroskleroza karşı korunmada yardımcı olur. Kollojen sentezinde, tirozin yıkımında, epinefrin sentezinde, safra oluşumunda ve pek çok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak rol alır. Süperoksid ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girip onları temizleyen bir antioksidan olmasının yanı sıra tokoferoksil radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar. Bu esnada kendisi de dehidroaskorbata okside olur. C vitamini yetersizliği durumlarında oluşan tokoferoksil radikalleri tokoferole dönüşmesi için GSH ile reaksiyona girecek ve böylece hücredeki GSH miktarını azaltacaktır. Yine plazma C vitamini düşük (0,2 mmol/L'den düşük) olduğu zaman oksidan etki de gösterebilir. Süperoksid dışında Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeyen başka bir ajandır. Bu şekilde demiri Fenton reaksiyonuna girmeye uygun hale getirir. Böylece plazma düzeyleri düşük olduğu zaman süperoksid üretimine katkıda bulunur. Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda C vitamini düzeyleri, sağlıklı kişilerden anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (Memişoğlu 2005).

- **A Vitamini (b - Karoten)**

A Vitaminleri görme, üreme, büyüme ve epitel dokusunun sağlamlığı için gerekli olan bir grup bileşiklerdir. Diyetteki retinolün oksidasyonu sonucu oluşan retinoik asit, retinoidlerin görme dışında diğer etkilerinin çoğuna aracılık eder. α -tokoferolle karşılaştırıldığında oldukça zayıf bir antioksidandır. İnsan LDL'sinde α -tokoferol'ün 1/20'si oranında bulunur ve α -tokoferol bittikten sonra kullanılır (Memişoğlu 2005).

- **Glutasyon (GSH)**

Hücre içerisinde indirgen formda (GSH) bulunur. Endojen üretilen peroksidlere karşı okside olarak onları indirger. Glutasyon peroksidaz bu reaksiyonu katalizler. Glutasyon etkin olarak hücreyi koruyabilmesi için büyük kısmı redükte halde tutulmalıdır. Bu reaksiyonu da Glutasyon Redüktaz katalizler. Glutasyonun Glutasyon redüktazla indirgenmesi reaksiyonu NADPH'a ihtiyaç duyduğu için heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır. Yapılan çalışmalarda diyabette GSH düzeylerinin sağlıklı kişilerden anlamlı şekilde düşük olduğu rapor edilmektedir (Memişoğlu 2005).

- **Ürik Asit**

Ürik asitin antioksidan etkisini nasıl gösterdiği hakkında değişik görüşler vardır. Bazı yayınlara göre C vitaminini oksidasyondan koruyarak, bazılarında göre geçiş metal iyonlarını (Fe, Cu) bağlayarak, bir kısmına göre de radikal çöpçüsü olarak (süperoksit radikali, hidroksil radikali) antioksidan etki gösterdiği savunulmaktadır (Yu 1994).

- **Seruloplazmin**

Hem doku homojenatları, hem de basit lipid emulsiyonlarında güçlü bir serbest radikal inhibitörüdür (Winyard ve ark. 1984, Yanbeyi 1999). Demirin transferine bağlanmasını kolaylaştırır ve ekstrasellüler SOD gibi davranır. Ayrıca ferrik demiri ferro demire yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu önler (Akkuş 1995, Dikici 1999).

- **Transferrin**

Dolaşımdaki serbest demiri bağlar (Akkuş 1995, Dikici 1999).

- **Ferritin**

Dokudaki demiri bağlayarak serbest radikallerle reaksiyona girmesini önler (Akkuş 1995, Dikici 1999).

- **Bilirubin**

Hem proteinlerinin yıkım ürünü olan bilirubin aynı zamanda çok efektif bir lipid antioksidandır. Bilirubin mikromolar konsantrasyonlarda dahi peroksil radikalini yakaladığı ve zincir kıran antioksidan olarak davrandığı gösterilmiştir (Gutteridge 1995, Krinsky 1988, Fırat, 1997).

2.2 Diyabet ve Oksidatif Stresle İlişkisi

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi yüksek reaktif özelliğe sahip moleküllerin üretiminin artması veya antioksidan savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılmaları sırasında oluşan yavaşlamanın sonucunda bu denge bozulur ve oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkar. Oksidatif denge, organizmada denge halinde olduğu sürece dokular serbest radikallerden etkilenmemektedirler (Dominguez ve ark. 1998). Oksidatif stres, antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kalmasıyla ya da çeşitli durumlarda serbest radikallerin artmasıyla oluşur. Bunun sonucunda hücrede DNA, protein, lipid, karbonhidrat ve enzim molekülleri zarar görebilir (Sies 1997, Halliwell ve Gutteridge 1999, Sorg 2004). Oksidatif stres, ateroskleroz, mutasyonlar, kanserojen toksinler, radyasyona maruz kalma ve diyabet durumunda artmaktadır. Diyabette görülen hiperglisemi durumunda, oksidatif stresin arttığı ve antioksidan savunmanın azaldığı bilinmektedir (Toyokuni ve ark.1995, Vincent ark. 2004, Altan ve ark. 2006).

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı (Kuyvenhoven 1999, West 2000) ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (Wolff 1987, Baynes ve Thorpe 1999). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Szaleczky ve ark. 1999).

Hidrojen peroksidin, yüksek reaktiviteye sahip bir ROS ürünü olan OH[•] radikaline dönüşmesi sonrası insülin reseptör sinyal sistemi üzerinde etkili olduğu ve insülin tarafından reseptör aracılığı ile düzenlenen sinyal transdüksiyon yollarında anahtar bir rol oynayabileceği görüşü araştırmacıların savları arasında bulunmaktadır (Donath ve ark. 1999). Glikasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen transkripsiyonunu azalttığını ve beta hücre apoptozuna yol açtığını gösteren çalışmaların bulguları bu görüşü destekler niteliktedir (Ihara ve ark.1999, Tiedge 1997). T ve B lenfositlerin, makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerin beta hücrelerine toksik etkilerini de serbest radikaller aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir. Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında

yakın ilişki olduğu görüşü in vivo çalışmalar ile de desteklenmiştir (Wolf ve Dean 1987, Hunt ve ark. 1988, Cameron ve Cotter 1995). Hiperglisemi aracılı ROS üretimi başlıca 3 mekanizma ile açıklanmaktadır:

1) Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi

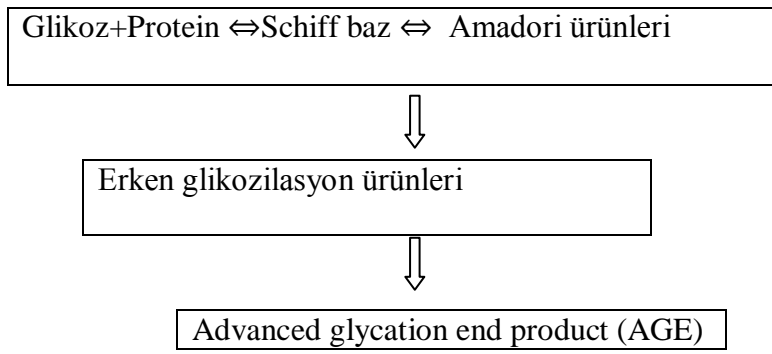
Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, superoksit radikalının hidrojen peroksit üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali oluşturması ile sonuçlanır. Hücre içi glukoz oksidasyonu NADH'nın açığa çıkmasına yol açar. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Solunum zincirindeki bu reaksiyon sırasında süperoksit radikali açığa çıkar. Yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında bu yolla süperoksit radikal üretimi artar. Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi ROS üretim kaynağıdır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksit radikali oluştuğu düşünülmektedir. Diyabetteki patolojilerin birçoğunun artmış mitokondriyal ROS üretimi ile ilintili olduğunu göstermektedir (Mullarkey ve ark. 1990, Hori ve ark. 1996, Hunt ve ark.1998, Cameron ve Cotter 1995).

2) Proteinlerin Glikasyonu ve AGE (ilerlemiş glikasyon son ürünleri)

Oluşumu

Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar, durmadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur. Glukoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla önce Schiff bazları sonra Amodori ürünleri ve en son olarak ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşur. AGE'ler, endotelin-1 aracılığıyla vazokonstriksiyonu arttırarak endotel hasarına yol açtığı gibi, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme kapasitesine de sahiptirler. AGE'lerin toksik etkileri arasında proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmeleri de bulunmaktadır. Araştırmalar AGE'lerin, reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu arttırdığını göstermektedir

(Kuyvenhoven ve Meinders 1999, West 2000, Cameron ve Cotter 1995). Hücre içi AGE oluşumu ile lipid peroksidasyonu arasında sıkı bir ilişki olduğunu, lipid peroksidasyonunun önlenmesi ile AGE oluşumunun da önlendiğini bildirmişlerdir. Glukoz ile dolaşımdaki ve dokuların yapısındaki proteinler arasında gelişen bir reaksiyondur, sonuçta glikozilasyon ürünleri (AGE) ortaya çıkar. Bu reaksiyon, diyabetlilerde normal kişilere göre en az iki kat fazladır ve bu son ürün AGE'ler doku hasarına neden olur (Kuyvenhoven ve Meinders 1999, West 2000, Wolf ve Dean 1987, Hunt ve ark. 1988, Cameron ve Cotter 1995).



Şekil 1. Non-enzimatik glikozilasyon şeması

3) Polioliol Yol

Yüksek glukoz konsantrasyonu, polioliol yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından hücre içi NADPH tüketilir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (Kuyvenhoven ve Meinders 1999). Redükte glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynar (Godin ve ark. 1988). Vazodilatör mediatörlerin kaybı endonöronal kan akımının azalmasına dolayısıyla endonöronal hipoksi veya iskemiye yol açmaktadır. Bu olayın sonucunda nöronal hücre, schwann hücrelerde hasar meydana gelmektedir (Cameron ve Cotter 1997, Greene ve ark. 1987). Glukozun sorbitol yolu ile fruktoza ve sorbitola çevrilmesinin bir sonucu olarak hücrede miyoinozitol düzeylerinde azalma ve

bunun sonucunda da Na-K ATP-az enzim aktivitesinde düşme olduğu gözlenmiştir ki bu enzim aktivitesi sinir iletim hızı için önem taşımaktadır (Greene ve ark. 1990, Bukan ve ark. 2004). Sorbitolun kendisi bir doku toksini gibi hareket eder. Bu nedenle retinopati, nöropati, katarakt, nefropati ve kalp hastalığı patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir (Bukan ve ark. 2004).



Şekil 2. Poliöl Yolu.

2.3. *Olea europaea* ve *Cynara scolymus* Ekstratlarının Diyabetle İlişkisi

2.3.1. *Olea europaea* İçeriği ve Diyabetle İlişkisi

Zeytin ağacı (*Olea europaea*) Oleaceae familyasına ait çok yıllık odunsu bir bitkidir. Son zamanlarda pek çok bilimsel araştırmanın zeytin, zeytinyağı ve zeytin yaprağı gibi ürünler başta olmak üzere zeytin ağacı üzerinde odaklandığı görülmektedir (El ve Karakaya 2009). Zeytin yaprağının ilk olarak 18. yüzyılda, Malarya salgınına karşı kullanıldığı ve terapötik özellikleri konusunda da ilk verilerin 1854 yılında ortaya atıldığı ve geçen yüzyılın ortalarında ise, zeytin yaprağı ekstresinin hipertansiyon üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Bouallagui ve ark. 2011). Son dönemlerde bilim adamlarının zeytin yaprağının potansiyel sağlık etkileri konusuna artan ilgisi dikkat çekicidir ve toplumun da bitkisel çayların sağlıkla ilgili etkilerine artan ilgisi nedeniyle, sık kullanılan geleneksel bitki çaylarından zeytin yaprağı çayı da araştırma konuları arasına katılmıştır (Büyükbalcı ve El 2008). Yapılan araştırmalara göre, zeytin yaprağı bazı element, vitamin ve yağlar gibi mikro besinler dahil yüz kadar farklı kimyasal madde içermektedir. Bu maddeler arasında özellikle fenolik bileşikler ve türevleri, zeytin yaprağının biyolojik etkilerinde oldukça önemlidir (Benavente-Garcia ve ark. 2000). Zeytin yaprağı ekstresinde başlıca beş grup fenolik bileşik bulunur:

*Oleuropeositler (oleuropein ve verbascoside),

*flavonlar (luteolin-7- glukozit, apigenin-7-glukozit, diosmetin-7-glukozit, luteolin ve diosmetin),

*flavonoller (rutin),

*flavan-3-oller (kateşin) ve

*substitue fenoller (tirosol, hidroksitirozol, vanilin, vanilik asit ve kafeik asit) (Benavente-Garcia ve ark. 2000).

HPLC yöntemi ile bu bileşiklerin bir kısmı (oleuropein, verbascoside, rutin, kafeik asit, luteolin-7-glucosit, apigenin-7-glucozit ve luteolin-4-glucosit) tanımlanmıştır (Pereira ve ark. 2007). Zeytin polifenollerinin iki temel kaynağı; zeytin yaprağı ve zeytinyağı sanayisinde “alperujo” olarak bilinen katı atıklardır. Alperujo (pirina), zeytinyağında bulunandan 100 kat daha yüksek konsantrasyonlara kadar içeriğiyle, doğal antioksidanların ucuz bir kaynağıdır. Zeytin yaprakları, diğer ürünlere göre, en yüksek antioksidan ve serbest radikal temizleyici güce sahiptir. Zeytin yaprağında en bol oleuropein bulunurken, hidroksitirozol, luteolin, apigenin-7-glikozitler ve verbascoside onu izlemektedir.

Zeytindeki fenolik bileşiklerden en önemlisi oleuropeindir. Acı bir bileşik olan oleuropein zeytin ağacındaki baskın sekoiridoid olup, güçlü antioksidan özelliğe sahiptir. Oleuropein 1908 yılında keşfedilmiştir. Daha yaygın olarak hidroksitirozol olarak bilinen 3,4-dihidroksifenil etanol, oleuropeinin başlıca yıkım ürünü, bir diğer ifade ile oleuropein öncülü iken, verbascoside hidroksitirozol ve kafeik asitin konjuge bir glukozididir (Benavente-Garcia ve ark. 2000, Granados-Principal ve ark. 2010). İşlenmiş zeytin ve zeytinyağında hidroksitirozol, işlenmemiş zeytin ve yapraklarında ise oleuropein daha yüksek miktarlarda bulunur. Oleuropein konsantrasyonu azaltan ve hidroksitirozol konsantrasyonu artıran en önemli etken zeytinin olgunlaşması sırasında meydana gelen kimyasal ve enzimatik reaksiyonlar ya da zeytinyağı üretim sürecinde yapılan işlemlerdir (Tan ve ark. 2003). Oleuropeinin bağırsaklardan emiliminin yetersiz olup bunun nedeninin onun büyük boyutu ve düzlemsel yapıya sahip olmasından dolayı olduğu belirtilmektedir. Bir glikozit olan oleuropein için, ince barsak epitel hücreleri üzerinde sodyuma bağımlı glukoz taşıyıcısına benzer olası bir geçiş modeli öne sürülmüş ve benzer bir polifenolik bileşik olan kuersetinin glikozidi absorbe eden aktif şeker taşıyıcıları içerdiği bildirilmiştir (Hollman ve ark. 1995). Oleuropein aynı zamanda antiinflamatuvar özelliğe sahip güçlü bir antioksidandır. Zeytin yaprağı ekstresinin toplam (karışım halinde) antioksidan aktivitesinin en yüksek değere

ulaşması ve radikal temizleme kapasitesinin bu bileşiklerin her birinin tek başına gösterdiği değerden yüksek olması, fenolik bileşiklerin sinerjik davranış gösterdiğini düşündürmektedir. Flavonoidler, oleuropeositler ve substitue fenollerin relatif radikal temizleme kapasiteleri; rutin > catechin \cong luteolin > hydroxytyrosol > diosmetin > caffeic acid > verbascoside > oleuropein > luteolin-7-glucoside \cong vanillic acid \cong diosmetin-7-glucoside > apigenin-7-glucoside > tyrosol > vanillin şeklinde sıralanmaktadır. Oleuropein tarafından serbest radikal oluşumunun önlenmesi; siklooksijenaz yolunu etkilemeksizin lipoksijenazlar gibi çeşitli inflamatuvar enzimleri inhibe etme yoluyla olabileceği gibi, serbest radikal üretim reaksiyonlarını kataliz eden Cu^+ ve Fe^+ gibi metal iyonlarını şelatlama kabiliyeti nedeniyle de olabilir. Oleuropein ve hidrokstitirozol, zeytin yaprağı ekstresindeki temel bileşikler olup, sırasıyla hidroliz olurlar. Oleuropein ve metaboliti hidrokstitirozol, her ikisi de optimum antioksidan ve/veya radikal temizleyici aktivite için fonksiyonel bir (katekol) gruba sahiptir. Nötrofillerde respiratuvar patlama ve hipoklorik asit kaynaklı radikaller için inhibitör etkiye sahip olan bu iki bileşiğin, aynı zamanda süperoksit anyon temizleyicisi oldukları da gösterilmiştir (Chimi ve ark. 1991). Bunlardan hem oleuropeinin hemde hidrokstitirozolün hidroksil radikallerini temizlediğini ama bu etkinin oleuropeinde daha güçlü olduğu belirtilmiştir (De la Puerta ve ark.1999, Gordon ve ark. 2001). Zeytin yapraklarından elde edilen oleuropeinin oksidatif stres, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar üzerine etkileri alloksan ve STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda ya da tavşanlarda gösterilmiştir. Alloksanla diyabet oluşturulmuş tavşanlarda oleuropeinin hiperglisemi ve oksidatif stresi inhibe ettiği ve oksidatif stresle ilişkili komplikasyonların önlenmesinde faydalı olabileceği gösterilmiştir (Al-Azzawie ve Alhamdani 2006). Bouaziz ve ark. (2008), işlenmiş zeytin, kabuk yağları ve hidrolizat özütleri ile zenginleştirmenin, yapraklar ve ekstrenin antioksidan içeriği nedeniyle oksidatif bozulmaya karşı belirgin direnç oluşumuna yol açtığını rapor etmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise, ekstrenin antioksidan potansiyeli, hem tuz-duyarlı hem de tuz dirençli Sprague Dawley sıçan kanlarında glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim düzeyleri izlenerek ölçülmüştür. Evre-1 hipertansiyonu olan hastalarda günde iki kez (500 mg) zeytin yaprağı ekstresinin, sistolik ve diyastolik kan basıncı üzerinde, günde iki kez etkin doz (12,5-25 mg) kaptopril tedavisine benzer

tansiyon düşürücü etkisinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, ekstrenin lipit profili üzerinde de (trigliserit, total ve LDL kolesterolü düşürücü) faydalı etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Susalit ve ark. 2011). Zeytin yaprakları geleneksel olduğu kadar, artık günümüzde de hiperglisemi, hipertansiyon ve bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılmakta ve özellikle Avrupa'da diyabet ve hipertansiyon için geleneksel bir ilaç olarak kabul edilmektedir (Sato ve ark. 2007, Pereira ve ark. 2006). Gonzalez ve ark. (1992) insanlarda pişmiş pirinç yüklemesine glisemik yanıtı araştırdıkları çalışmada, zeytin yaprağı ekstresinin, borderline grup kan şekeri düzeylerini, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalttığı ve zeytin yaprağındaki oleuropeinin hücrelere glukoz alımını hızlandırdığı rapor edilmiştir. Zeytin yaprağı (*olea europaea*) ekstresinin kardiyovasküler etkileri, oleuropein ve oleacein temel komponentlerine atfedilmektedir (Lasserre ve ark.1983). Somova ve arkadaşlarının araştırmalarında oleanolik asit, ursolik asit ve üç farklı zeytin yaprağı (Afrika, Yunanistan ve Cape Town) ekstrelerinin antihipertansif, diüretik, aterosklerotik, antioksidan ve hipoglisemik etkileri, insülin dirençli genetik hipertansiyon sıçan modeli kullanılarak araştırıldı. İnsülin dirençli sıçanların kan şekeri düzeyinde % 26 ve total kolesterolde % 108 oranında anlamlı artışla birlikte, LDL kolesterol ve trigliseritlerde dört kattan fazla artış ile erken ateroskleroz geliştirme eğilimi gözlemlendi. Oleanolik asit, ursolik asit ve zeytin yaprağı ekstresiyle tedaviden 6 hafta sonra, tüm biyokimyasal parametrelerin neredeyse tamamen normale döndüğü bildirildi. Yakın zamanda yayınlanmış bir diğer çalışmada, zengin hidroksitirozol ve oleuropein içeren zeytin yaprakları ekstresinin, meme kanseri hücrelerinde ilerlemeyi yavaşlattığı rapor edilmiş ve bu etkilerin mikrobisiner, özellikle polifenollerden ileri geldiği ileri sürülmüştür (Bouallagui ve ark. 2011). Antioksidanlar ve özellikle fenolik bileşikler için önemli bir besin kaynağı olan zeytin yaprağı ekstresi de fonksiyonel bir gıda olma potansiyeline sahiptir (Lee ve Lee 2010). Ancak, çoğu bitkisel kaynaklı bu tür ürünlerin doğru/tavsiye edilen dozajda olmadığı ve fitokimyasal içerikleri nedeniyle potansiyel risk taşıdıklarına da dikkat çekilmektedir. Rodrigues ve ark. (2011) yaptığı araştırma sonuçları, farelerde 14 hafta süreyle zeytin yaprağı ekstresi takviyesinin biyokimyasal, histolojik ve karaciğer mitokondrilerinde anlamlı değişiklikleri indüklediğini göstermişlerdir. Jemai ve ark. (2009) alloxan ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda zeytin yaprağındaki oleuropeinin ve hidroksitirozolün

antihiperglisemik, antilipidemik ve antioksidan özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipit peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir. Bunlara ilave olarak, uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin, diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafında vurgulanmaktadır (Altan ve ark.2006).

2.3.2. *Cynara scolymus* İçeriği ve Diyabetle İlişkisi

Enginar (*Cynara scolymus* L.), çok yıllık otsu eski bir bitkidir, kuzey Afrika ve akdenizin güneyinde yetişir. Günümüzde enginar dünyanın heryerinde büyük ölçüde yetişmektedir, İtalya ve ispanya dünyanın önde gelen üreticilerindedir. Eski Mısır, Yunan ve Romanlar tarafından tedavi edici özelliği bilinip tıbbi bitki olarak kullanıldığı görülmektedir. Yine Enginar yapraklarının eski zamanlardan beri koleretik olarak bitkisel tedavide kullanıldığı görülmektedir. Daha eskiden enginar preparasyonlarının sindirime yardımcı olarak kullanıldığı görülmektedir. Son dönemlerde bilimsel çalışmaların belirttiği sonuçlara göre enginarın hipolipidemik ve hipokolesterolemik etkisinden söz edilmektedir. Enginar yaprağının kimyasal bileşenleri geniş ölçüde çalışılmaktadır ve en önemli kimyasal bileşen olarak flavonoidler ve mono- ve dicaffeoylquinic asid ile polifenolik bileşikler bulunmaktadır (Adzet ve Puigmacı 1985, Wagenbreth 1996). Çeşitli farmakolojik testlerde enginar yaprağı ekstratı LDL oksidasyonu ve kolesterol biyosentezini engellemesinin yanında antibakteriyal, antioksidan, anti-HIV, karaciğer koruyucu, idrara çıkma ve koleretik aktiviteler göstermektedir (Dranik ve ark. 1996, Martino ve ark. 1996, Brown ve Rice-Evans 1998). Enginarın en yüksek antioksidan kapasitesi özellikle, chlorogenic acid (CGA) olarak bilinen 5-caffeoylquinic acid, 1,3-dicaffeoylquinic acid (cynarin), 1,5-dicaffeoylquinic acid ve caffeic acid den dolayıdır (Sonnante ve ark. 2011). Son zamanlarda araştırmalar enginar yaprağı ekstratının antioksidan aktivitesi üzerine yoğunlaşmaktadır. Wang ve ark. (2003) in vitro yaptıkları çalışmada enginar yapraklarının ve baş kısımlarının fenolik içerik yönünden çok zengin olduğu ve yüksek antioksidan özellik gösterdiğini bulmuşlar ve bu sonuçlarının diğer çalışmaları doğrular özellikte olduğunu belirtmişlerdir. Enginar yaprağı ekstratı, hepatosit oluşturulmuş

sıçanlarda oluşan oksidatif stresi engellemek için, hidrojen peroksitin sebep olduğu hemolizi engellemek için ve in vitro şartlarda lipoproteinleri oksidasyondan korumak için antioksidan ve koruyucu özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Brown ve Rice-Evans 1998, Gibhardt 1997). Vinik ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada lifli gıdaların karbonhidrat metabolizması üzerine yararlı etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Nazni ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada tip 2 diyabetlilerin 3 ay süre ile enginarı gıda olarak tükettiklerinde açlık ve tokluk kan glikoz değerlerinin düştüğü saptamışlardır. *Cynara scolymus*' la (yabani enginar) doza bağlı olarak yapılan çalışmalarda yüksek dozun genotoksik etki gösterebileceği de belirtilmiştir. Bunun için tedavi dozunun iyi tesbit edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Meriele ve ark.2013). Yapılan literatür araştırmalarında enginarın diyabet ve oksidatif stres üzerine etkileri ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır.

3. MATERYAL

3.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar

Deneyde Uludag Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi' nden sağlanan 80 adet 350- 400 g ağırlığında Wistar türü erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deneysel çalışmaya başlamadan 20 gün önce ısısı 18° C - 22° C arasında sabit tutulan özel odaya alındılar. Dört sıçan bir kafeste olacak şekilde yerleştirildiler ve standart diyet (pelet) yem ile beslendiler. Sıçanların su ve yem alımları serbest bırakıldı.

3.2. Hayvanların Gruplandırılması

Deney grupları, kontrol grupları 10, diyabet grupları 10 sıçandan oluşmak üzere 8 gruba ayrıldı:

Grup 1: Normal kontrol sıçanlar (K)

Grup 2: Oral olarak *Olea eruopea* ekstraktı alan normal sıçanlar (K + OLEE)

Grup 3: Oral olarak *Cynara scolymus* ekstraktı alan normal sıçanlar (K + CYE)

Grup 4: Oral olarak *Olea eruopea* ve *Cynara scolymus* ekstraktı alan normal sıçanlar (K + OLEE + CYE)

Grup 5: Diyabetik kontrol sıçanlar (D)

Grup 6: Oral olarak *Olea eruopea* alan diyabetik sıçanlar (D + OLEE)

Grup 7: Oral olarak *Cynara scolymus* ekstraktı alan diyabetik sıçanlar (D + CYE)

Grup 8: Oral olarak *Olea eruopea* ve *Cynara scolymus* ekstraktı alan diyabetik sıçanlar (D + OLEE + CYE)

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

3.3 Diyabetin oluşturulması ve *Olea europaea* yaprağı ekstraktı ve *Cynara scolymus* yaprağı ekstraktının uygulanması

Streptozotosin pH'ı 4.5 olan 20mM sodyum sitrat tamponu içinde çözüldü ve sıçanlara tek doz (65mg/kg) intraperitoneal olarak enjeksiyon yapıldı. Kontrol grubu sıçanlarına ise tek doz intraperitoneal sitrat tamponu enjeksiyonu yapıldı. Diyabet grubunu oluşturan sıçanların enjeksiyondan 48 saat sonra kuyukları kesilerek kan glukoz düzeyleri tayin edilerek diyabet oldukları saptandı ve deneysel çalışma başlatıldı.

***Cynara scolymus* ve *Olea europaea* çekirdeği ekstraktının hazırlanması:**

Ticari olarak satın alınan ekstratlar (Kale Naturel, Edremit, Balıkesir) %10 oranında içme suyuna 5 hafta süre ile ilave edildi.

3.4 Sıçanlara maddelerin verilışı

Diyabet oluştuktan bir hafta sonra 1.gruptaki ve 4.gruptaki sıçanlara % 10 'luk *Olea europaea* ekstratı, 2.gruptaki ve 5. Gruptaki sıçanlara %10'luk *Cynara scolymus* ekstraktı, 3. gruptaki ve 6. gruptaki sıçanlara %10 'luk *Olea europaea* ekstraktı ve *Cynara scolymus* ekstraktı 5 hafta süre ile içme suyuna eklendi.

İçme suları günlük olarak hazırlanıp 24 saatlik sıvı tüketimi takip edildi. Ayrıca deney süresi olan 5 haftalık süre içinde sıçanların yem tüketimleri günlük olarak takip edildi. Kan glukoz düzeyleri sıçanların kuyukları kesilerek alınan kanda glukometrede glukostix stripleri kullanılarak (Abbot GlucometerMedisense Products, USA) ölçüldü. Kan glukoz düzeyleri ve vücut ağırlıkları ise haftada bir kez olmak üzere ölçüldü.

3.5 Örneklerin Toplanması

Deneysel bitiminden sonra kan örnekleri, bir kuru tüp, bir heparinli ve iki EDTA'lı tüpe, 0.18 x 40 mm' lik iğne yardımı ile (Vacutainer, İngiltere) hafif eter anestezisi altında, sıçanların kalbinden ponksiyonla alındı. GSH-Px için heparinli tüpten 300 µl ve SOD için hemogram tüpünden (EDTA'lı) 500 µl tam kan ayrıldı. Diğer kan örnekleri 1500 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Serum insülin düzeyleri radioimmunoassay (Diagnostic Products Corporation, USA) ile ölçüldü.

Hemen çalışılmayacak olan parametreler [serum PON, arilesteraz, plazma MDA (malondialdehit), HDL, TK, TG)] için ayrılan örnekler -20° C' de saklandı. SOD için hazırlanan numuneler (0,5 mL EDTA'lı tam kan alındı ve 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek plazması ayrıldı ve aspire edildi, kalan eritrositler, her yıkamada 3 mL % 0,9 NaCl kullanılarak 4 defa yıkandı ve eritrosit paketi seklinde saklandı), GSH-Px (heparinli tam kandan) buzdolabında saklanarak 3 gün içinde çalışıldı. Kalp, kas, karaciger ve iskelet kası dokuları kan alımının hemen ardından çıkartılarak, serum fizyolojik ile yıkandı ve çalışılıncaya kadar -20° C' de saklandı.

3.6 Araç ve Gereçler

Spektrofotometre, "Shimadzu U.V. Visible 1202" (Japonya)

Spektrofotometre, "Shimadzu U.V. Visible 1601" (Japonya)

Su banyosu, "Julabo UC" (Almanya)

Santrifüj, "Sanyo Mistral 2000 R" (İngiltere)

Santrifüj, "Janetzki T 32" (Almanya)

Karıştırıcı (vorteks), "Heidolph" (Almanya)

Otomatik pipet (10 µL), "Gilson" (ABD)

Otomatik pipet (20 µL), "Gilson" (ABD)

Otomatik pipet (20-200µL), "Eppendorf" (Almanya)

Otomatik pipet (500-5000µL), "Eppendorf" (Almanya)

Otomatik pipet (200-1000 µL), "Eppendorf" (Almanya)

Derin dondurucu (-20° C), "Uğur" (Türkiye)

Buzdolabı "Arçelik" (Türkiye)

Abbot Glucometer Medisense Products (ABD)

Kantar (Türkiye)

3. 7. Ticari Kitleler

1. Kolesterol, "Randox Lab." (İngiltere) Lot. no:1132 F, Kat. no: CH200

2. SOD (Ransod), "Randox Lab." (İngiltere) Lot. no:0019 J, Kat. no: SD125

3. GSH-Px (Ransel), "Randox Lab." (İngiltere) Lot. no:1764 J, Kat. no: RS504

3. 8. Kimyasal Malzemeler

1. 2-Tiyobarbitürik asit (TBA) (>% 98), "Sigma" (A.B.D.) Kat. no: T 5500

2. n-Bütül alkol, "Sigma" (A.B.D.) Kat. no: S 15,467-9

3. Sodyum hidroksit, "Merck" (Almanya) Kat. no: 6462
4. Paraokson (Dietil p-nitrofenil fosfat), "Sigma" (A.B.D.) Kat. no: D9286
5. Fenil asetat (% 99), "Aldrich" (A.B.D.) Kat. no: 10,872-3
6. Sodyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat. no: 6400
7. Tris, "Merck" (Almanya) Kat. no: 8387
8. Kalsiyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat. no: 2389
9. Glisin, "Merck" (Almanya) Kat. no: 4201
10. Sodyum dihidrojen fosfat, "Merck" (Almanya) Kat. no: 6345
11. Potasyum dihidrojen fosfat, "Merck" (Almanya) Kat. no: 4871
12. Potasyum ferri siyanür, "Merck" (Almanya) Kat. no: 4971
13. Potasyum siyanür, "Merck" (Almanya) Kat. no: 4966
14. Sodyum bikarbonat, "Horasan Kimya" (Türkiye)
15. Metafosforik asit, "Sigma" (A.B.D.) Kat. no: 6250
16. Metanol (HPLC grade), "BDH" (Almanya) Kat. no:15250
17. Potasyum klorür, "Merck" (Almanya) Kat. no. 4935
19. Sodyum dodesil sülfat (SDS), "Fluka" Kat. no. 71728
20. Bütanol, "Merck" (Almanya) Kat no. K 24430988
21. Asetik asit, "Kimetsan" (Türkiye) Kat no. KIM-AA/01GC
22. Piridin, "Merck" (Almanya) Kat no. 7462
23. 1,1,3,3-Tetramethoxy-propane, "Fluka" Kat no. 87670
24. *Cynara scolymus* yaprağı Ekstrakt, Kale Firması, Edremit-BALIKESİR
25. *Oleu europea* yaprağı Ekstrakt, Kale Firması, Edremit-BALIKESİR

4.YÖNTEM

4.1 Serum Total Kolesterol, HDL-K ve Trigliserit Ölçümü

Serum lipit (kolesterol, HDL-K ve trigliserit) düzeyleri, kantitatif elektrolit tayini yapılan Abbott C16000 otoanalizörde ölçüldü.

4.2. Eritrosit SOD Aktivitesinin Ölçümü

SOD aktivitesi kit (Ransod) kullanılarak ölçüldü. Bu yöntemde ksantin, KO enziminin katalizi ile O_2^- radikali oluşturur. Oluşan radikal 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol) feniltetrazolyumklorid (INT) ile reaksiyona girer ve pembe renkli bir bileşik oluşturur veya SOD enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile dismutasyona uğrayarak H_2O_2 ve O_2 meydana gelir. Böylece INT ile reaksiyona giren O_2^- miktarı azaldığı için reaksiyon inhibe olur. Burada SOD aktivitesinin ölçümü, yukarıdaki reaksiyonun inhibisyon derecesinin ölçülmesine dayanmaktadır. Açığa çıkan pembe renk SOD aktivitesi ile ters orantılıdır.

Ayıracılar:

1- 0,01 M fosfat tamponu (pH 7,0): 0.68 g KH_2PO_4 ve 0,71 g Na_2HPO_4 tartılarak 9 dL distile suda çözüldü ve pH'ı kontrol edilip 1 L' ye tamamlandı.

2- Ransod substrat: Ksantin 0,05 mmol/L, I.N.T. 0,025 mmol/L

3- Ransod tampon: CAPS 40 mmol/L, pH 10.2; EDTA 0,94 mmol/L

4- Ransod XO: 80 Ü/L

5- Ransod standart: 5,4 Ü/mL

SOD aktivitesi ölçümü için, 0,5 mL tam kanın eritrosit paketi alındı ve hacmi soğuk distile su ile 2 mL' ye tamamlandı. Bu karışım $+4^\circ C$ de 15 dakika bekletilerek hemolizat elde edildi. Hemolizat 0,01 M fosfat tamponu (pH 7,0) ile 25 kez sulandırıldı. Böylece ilk başta alınan 0,5 mL tam kan 100 defa sulandırılmış oldu. Deney $37^\circ C$ lik şartlarda gerçekleştirildi.

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

	Ayıraç Körü	Standart	Örnek
Fosfat tamponu	25 µL	–	–
Dilüe hemolizat	–		25 µL
Standart	–	25 µL	
Substrat	850 µL	850	850
KARIŞTIRILDI.			
Ksantin Oksidaz	125 µL	125 µL	125 µL

Tüpler karıştırıldı ve 30 saniye bekledikten sonra her bir tüp için spektrofotometrede 505 nm dalga boyunda absorbans sıfırlandı ve tam 3 dakika sonra son absorbans kaydedilerek $\Delta A/dk$ hesaplandı. SOD aktivitesi, iki seri standart çözeltisi hazırlanarak elde edilen standart eğri grafiği üzerinden kit kataloğunda tarif edildiği gibi hesaplandı. Sonuçlar gram hemoglobin başına ünite olarak verildi (Ü/g Hb).

4. 3. Eritrosit GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü

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

Ayıraçlar:

1. Ransel ayıraç: GSH (4 mmol/L), GR(□□0,5 Ü/L) ve NADPH (0,34 mmol/L)
2. Ransel tampon: 4,3 mmol/L EDTA içeren 0.05 molar fosfat tamponu (pH:7,2)
3. Ransel kümenhidroperoksit: 0,18 mmol/L
4. Ransel sulandırıcı ayıraç

5. Double Drabkin ayıracı: 50 mg potasyum siyanid ve 200 mg potasyum ferri siyanid ve 1 g sodyum bikarbonat tartılarak hacim distile su ile 500 mL' ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

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

Hesaplanma:

Numune aktivitesi kör aktivitesinden çıkarıldı ve çıkan sonuç 41 ile çarpıldı. Ü/L enzim aktivitesini veren bu değer numunenin Drabkin ayıracı ile ölçülmüş g/L cinsinden hemoglobin değerine bölünerek hesaplandı (Ref; Ransel kit). Sonuçlar gram hemoglobin başına ünite olarak verildi (Ü/g Hb).

4. 4 Serum Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü

Paraoksonaz aktivitesi ölçümü Eckerson ve arkadaşlarının (1983) tanımladığı yöntemle yapıldı. PON aktivitesinin saptanması amacıyla pH:10,5'da 0,05 M glisin-sodyum hidroksit tamponu içinde 1,0 mM CaCl_2 ve 1,0 mM paraokson içeren 2,5 ml'lik karışıma 15,62 µL serum eklendi. Paraoksone PON' un etki etmesi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol, 25° C'de spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda (Molar absorbtivite katsayısı = $18,290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ölçüldü. Paraokson'un non-enzimatik kendiliğinden hidroliz oranı ayıraç körü kullanılarak saptandı ve bu değer düşülerek gerçek absorbans değeri elde edildi. Bir ünite paraoksonaz aktivitesi 1 dakikada 1 µmol p-nitrofenol oluşturan enzim aktivitesi olarak tanımlandı ve serum PON aktivitesi ünite/litre (Ü/L) şeklinde ifade edildi.

4. 5. Serum Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü

Arilesteraz aktivitesi ölçümü Eckerson ve arkadaşlarının (1983) yöntemine göre yapıldı. Reaksiyon karışımı pH:8,0'de 9,0 mM tris (hidroksimetil) aminometan/HCl tamponu içinde 0,9 mM CaCl₂ ve 1,0 mM fenilasetat içeriyordu. Reaksiyon 2,5 mL tampon/substrat ayıracına 1:3 oranında tamponla sulandırılmış 16,66 µL numune eklenmesiyle başlatıldı. Fenilasetat'ın hidrolizi ile açığa çıkan fenol oluşumu 270 nm dalga boyunda saptandı. 10. ve 70. saniyede absorbanslar kaydedildi ve böylece bir dakikada açığa çıkan fenol miktarı saptandı (Molar absorbtivite katsayısı=1310 M⁻¹cm⁻¹). Bir ünite arilesteraz aktivitesi; 1 dakikada 1 µmol fenol açığa çıkaran enzim aktivitesi olarak tanımlandı ve serum arilesteraz aktivitesi Ü/L olarak ifade edildi.

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

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

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

Çizelge. 4. 3. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü, Deneyin Yapılışı

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

4.7. Plazma MDA Düzeyi Ölçümü

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

Mobil faz bileşimi: % 50 metanol (HPLC grade)

% 50 25 mM fosfat tamponu (pH: 6,5)

Mobil faz akış hızı: 0,8 mL/dk

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

Dalga boyu: 532 nm

Deneyin yapılışı:

Kör, numune ve standart tüplerinin her birine 500 µL 0,36 M fosforik asit (H_3PO_4), 500 µL 0,44 M tiyobarbitürik asit, 900 µL distile su ve 50 µL sırasıyla, distile su, serum veya standart eklendi. Reaksiyon karışımı 100° C' de 1 saat inkübe edildi. Su banyosundan çıkarıldıktan sonra 10 dk 4° C' de soğutuldu. Bu reaksiyon karışımından 400 µL alınarak üzerine 720 µL metanol (HPLC grade) ve 80 µL 1 M sodyum hidroksit eklendi. 1500xg' de 10 dk santrifüj edildikten sonra metanol fazından 50 µL alınarak HPLC' ye enjekte edildi.

Hesaplanma :

0,5, 1, 2, 4 nmol/mL' lik konsantrasyonlarda hazırlanan 1,1',3,3'-tetraetoksipropan standartları ile çalışılarak standart eğri grafiği çizildi. Yaklaşık 4.dakikada görülen MDA pikinin alanına karşılık gelen değer standart eğri grafiğinden bulunarak konsantrasyon hesaplandı ve serum MDA düzeyi nmol/mL şeklinde ifade edildi.

5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme için SPSS (Statistical Packages of Social Sciences for Windows Standart Version 11,0) paket programı kullanıldı. Veriler aritmetik ortalama (ort) ± ortalamanın standart hatası (SEM) olarak verildi. Gruplar arasındaki farkı karşılaştırmak için Kruskal Wallis testi yapılarak p<0,05 olanlara Mann-Whitney U testi uygulandı. Testlerde p<0,05 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

6.SONUÇLAR

Kontrol *Olea europea* ekstratı uygulanan (K+OLEE) grup, kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında, Kontrol *Olea europea* ekstratı grubunda kontrol grubuna göre, yem alımı (sırasıyla 23±0.63 g/24s ve 22±0.47 g/24s, p<0.05) ve sıvı alımında (sırasıyla 52±2 mL / 24s ve 28±0,8 mL/24s, p<0.05) anlamlı bir artış saptanırken, serum TK düzeyinde (57±1 mg/dL ve 102±4 mg/dL, p<0.05), TG düzeyinde (46±4 mg/dL ve 72±2 mg/dL, p<0.05) ve kan glukoz düzeyinde (sırasıyla 105±2 mg/dL ve 105±4 mg/dL, p<0.05) anlamlı bir azalma saptandı. Ayrıca, serum HDL-K düzeyinde (sırasıyla 44±3 mg/dL ve 52 ±1 mg/dL) azalma, serum insülin düzeyinde azalma (sırasıyla 2.011±0,14 mIU/mL ve 2,13±0,09 mIU/mL) ve vücut ağırlığında artma (sırasıyla 365±16 g ve 336±9 g) gözlenirse de anlamlı bir fark bulunamadı.

Kontrol *Cynara scolymus* (K+CYE) ekstratı uygulanan grup, kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında, yem alımı (sırasıyla 21±1 g/24s ve 22±0.47 g/24s, p< 0.05) azalma gözlenirken, sıvı alımı (sırasıyla 48±2 mL/24s ve 28±0,8 mL/24s, p<0.05) anlamlı bir artış saptandı. Ayrıca, serum TK (54±5 mg/dL ve 102±4 mg/dL, p<0.05), serum TG (35±1 mg/dL ve 72±2 mg/dL, p<0.05) ve serum HDL-K (41±2 mg/dL ve 52±1 mg/dL, p<0.05) düzeylerinde anlamlı bir azalma saptandı. Ayrıca, vücut ağırlığı (sırasıyla 361±16 g ve 336±9 g), serum HDL-K düzeylerinde (sırasıyla 41±2 mg/dL ve 52±1 mg/dL), kan glukoz seviyesinde (sırasıyla 113±2 mg/dL ve 107±4 mg/dL) ve serum insülin düzeyinde (sırasıyla 2,09±0,14 mIU/mL ve 2,13±0,09 mIU/mL) anlamlı bir fark saptanmadı.

Kontrol *Olea europea* ve *Cynara scolymus* (K+OLEE+CYE) birlikte uygulanan grup, kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında, yem alımı (sırasıyla 20±0,3 g/24s ve 22±0.47 g/24s, p<0.05) , serum TK (sırasıyla 43±5 mg/dL ve 102±4 mg/dL, p<0.05) ve serum TG (sırasıyla ve 58±3 mg/dL ve 72±2 mg/dL, p<0.05) anlamlı bir azalma saptanırken, sıvı alımında (sırasıyla 47±4 mL/24s ve 28±1 mL/24s, p<0.05) ve HDL-K düzeyinde (sırasıyla 56±4 mg/dL ve 52±1 mg/dL, p<0.05) anlamlı bir artış gözlemlendi. Ayrıca, vücut ağırlığında (sırasıyla 392±21 g ve 336±9 g), kan glukoz (116±1 mg/dL ve 107±4 mg/dL), serum insülin (sırasıyla 2,08±0,09 mIU/mL ve 2,13±0,09 mIU/mL)

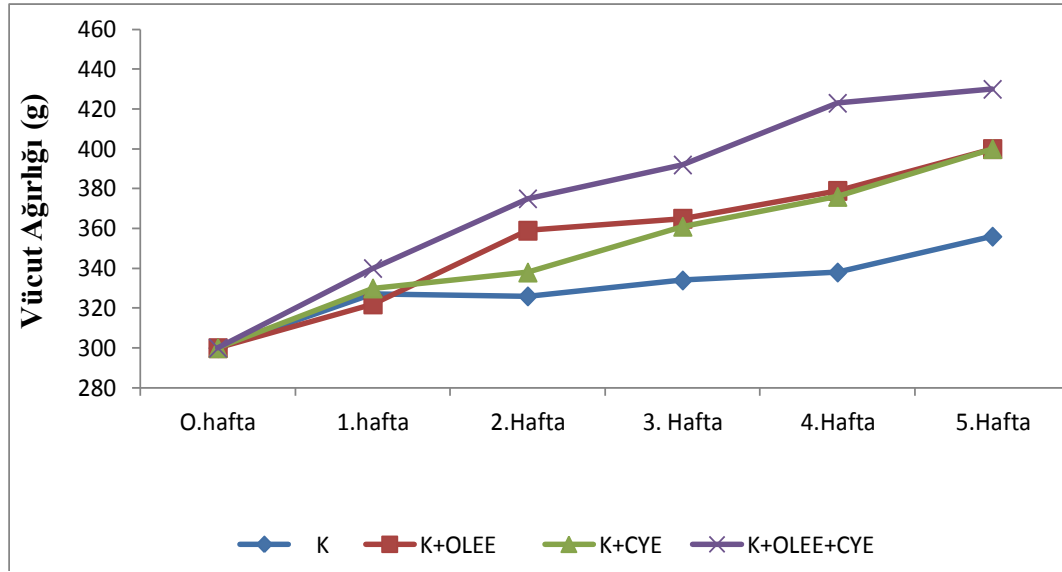
düzeylerinde anlamlı bir değişim bulunamadı. (Şekil 6.1, Şekil 6.2, Çizelge 6.1, Çizelge 6.2)

Diyabet (D) grubunda, kontrol (K) grubuna göre, yem alımı (sırasıyla 31±0,9 g/24s ve 22±0,47 g/24s), sıvı alımı (sırasıyla 184±2 mL/24s ve 28±0,8 mL/24s, p<0.05) , kan glukoz (sırasıyla 334±39 mg/dL ve 107±4 mg/dL, p<0.05), serum TK (sırasıyla 122±5 mg/dL ve 102±4 mg/dL, p<0.05) , serum TG (sırasıyla 290±24 mg/dL ve 72±2 mg/dL, p<0.05) düzeylerinde anlamlı bir artış saptanırken, vücut ağırlığında (sırasıyla 278±6 g ve 336±9 g, p<0.05), serum HDL-K (sırasıyla 32±3 mg/dL ve 52±1 mg/dL, p<0.05) ve serum insülin (sırasıyla 177±0,21 mIU/mL ve 2,13±0,09 mIU/mL, p<0.05) düzeylerinde anlamlı bir azalma saptandı.

Diyabet *Olea europea* (D+OLEE) grubunda diyabet (D) grubuna göre yem alımında (sırasıyla 32±1 g/24s ve 31±0,9 g/24s) ve serum HDL-K (45±3 mg/dL ve 32±3 mg/dL) düzeyinde ve vücut ağırlıklarında (sırasıyla 293±10g ve 278±6 g) artış gözlemlenmedi anlamlı bir fark bulunamadı. Ayrıca, sıvı alımında (sırasıyla 115±22 mL/24s ve 184±2 mL/24s, p<0.05), kan glukoz düzeylerinde (297±30 mg/dL ve 334±39 mg/dL, p<0.05), serum TK (sırasıyla 102±2 mg/dL ve 122±5 mg/dL, p<0.05) ve serum TG (sırasıyla 100±6 mg/dL ve 290±24 mg/dL, p<0.05) düzeylerinde anlamlı bir azalma saptandı. Bununla birlikte serum insülin (sırasıyla 1,93±0.12 mIU/mL ve 1,77±0.21 mIU/mL, p<0.01) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artma saptandı.

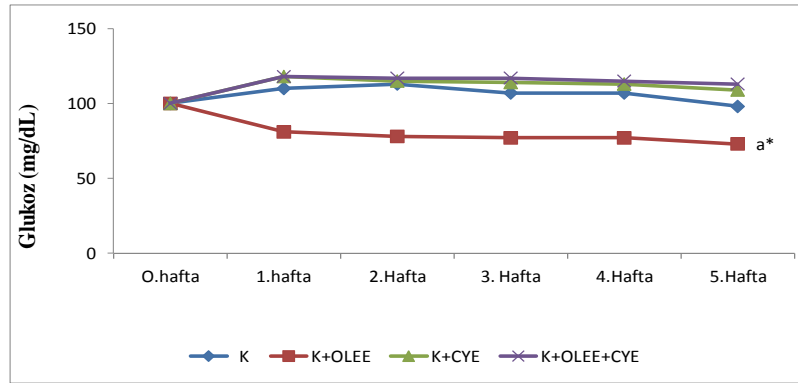
Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE) grubunda diyabet (D) grubuna göre; yem alımında (sırasıyla 37±3 g/24s, ve 31±09 g/24s) artış, ve serum HDL-K (30±5 mg/dL ve 32±3 mg/dL) düzeylerinde azalma gözlemlenmedi anlamlı bir değişim gözlenmedi. Aynı zaman sıvı alımında (sırasıyla 149±22 mL/24s ve 184±2 mL/24s, p<0.05) azalma gözlemlendi ve vücut ağırlıklarında (sırasıyla 310±23g ve 278±6 g) anlamlı bir artma gözlemlenmedi anlamlı bir fark bulunamadı. Ayrıca, kan glukoz (309±44 mg/dL ve 334±39 mg/dL, p<0,05), serum TK (sırasıyla 56±2 mg/dL ve 122±5 mg/dL, p<0.05) ve serum TG (sırasıyla 72±6 mg/dL ve 290±24 mg/dL, p<0.05) anlamlı bir azalma ve serum insülin (sırasıyla 1,82±0.01 mIU/mL ve 1,77±0,21 mIU/mL, p<0.01) düzeylerinde de anlamlı bir artma saptandı.

Diyabet *Olea europea* ve *Cynara scolymus* (D+OLEE+CYE) grubunda diyabet (D) grubuna göre; yem alımı (sırasıyla 28±2 g/24s ve 31±09 g/24s), vücut ağırlığı (sırasıyla 307±14g ve 278±6 g), düzeylerinde belirli bir azalma serum HDL-K düzeyinde (sırasıyla 37±5 mg/dL ve 32±3 mg/dL) ise belirli bir artış gözlenirse de anlamlı bir değişim saptanmadı. Bununla birlikte sıvı alımında (sırasıyla 93±16 mL/24s ve 184±2 mL, p<0.05), serum TK düzeyinde (sırasıyla 63±2 mg/dL ve 122±5 mg/dL, p<0.05), serum TG düzeyinde (sırasıyla 72±1 mg/dL ve 290±24 mg/dL, p<0.05), kan glukoz düzeyinde (sırasıyla 268±50 mg/dL ve 334±39 mg/dL, p<0,05) anlamlı bir azalma ve serum insülin (sırasıyla 1,93 ± 0,002 mIU/mL ve 1,77±0,21 mIU/mL, p<0.01) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma saptandı. (Şekil 6.3, Şekil 6.4, Çizelge6.1, Çizelge 6.2)

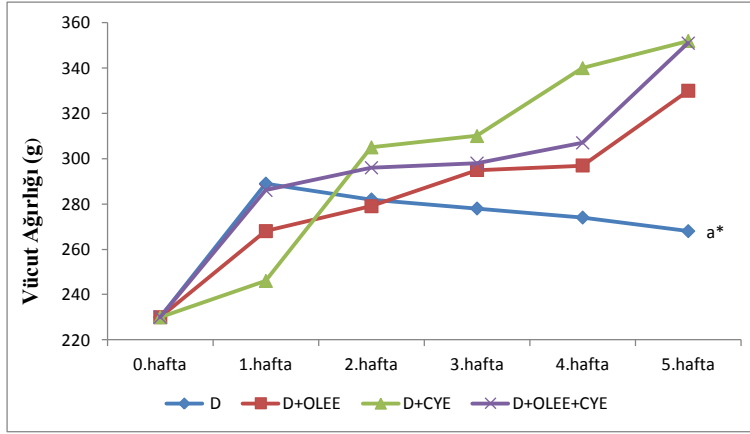


Şekil 6.1: Kontrol (K), Kontrol + *Oleu europea* ekstraktı (K+OLEE), Kontrol + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE), Kontrol + *Oleu europea* ekstraktı + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+OLEE+CYE) gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen vücut ağırlığı değişimi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırma. b: Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

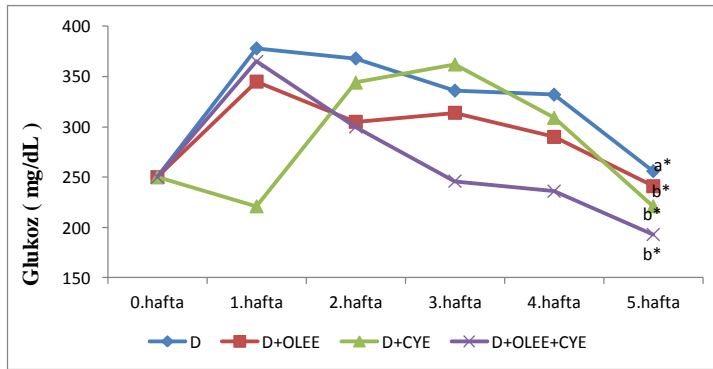


Şekil 6.2: Kontrol (K), Kontrol + *Oleu europea* (K+OLEE), Kontrol + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE), Kontrol + *Oleuropein* + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+OLEE+CYE) gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen kan glukoz değişimi.



Şekil 6.3. Diyabet (D) , Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D+OLEE), Diyabet + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+CYE), Diyabet + *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+OLEE+CYE) gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen vücut ağırlığı değişimi.

a: Kontrol grubu ile karşılaştırma. b: Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$



Şekil 6.4. Diyabet (D) , Diyabet + *Olea europaea* ekstraktı (D+OLEE), Diyabet + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+CYE) , Diyabet + *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+OLEE+CYE) gruplarında 5 haftalık periyotta meydana gelen kan glukoz değişimi

Çizelge 6.1. Kontrol (K), Kontrol *Olea europaea* ekstraktı (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE) Kontrol *Olea europaea*+*Cynara scolymus* (K+OLEE+CYE), Diyabet (D), Diyabet *Olea europaea* ekstrakt (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* ekstrakt (D+CYE), Diyabet *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstrakt (D+OLEE+CYE) gruplarında yem, sıvı alımı, vücut ağırlığı, glukoz ve insülin değerleri (Ort ± SEM).

PARAMETRE	K	K+OLEE	K+CYE	K+OLEE+CYE	D	D+OLEE	D+CYE	D+OLEE+CYE
Yem alımı (g/24s)	22 ± 0,4	23±0,6 ^{a*}	21±1 ^{a*}	20±0,3 ^{a*}	31±0,9 ^{a*}	32±1	37±3	28±2
Sıvı alımı (mL/24s)	28±0,8	52±2 ^{a*}	48±2 ^{a*}	47±4 ^{a*}	184±2 ^{a*}	115±22 ^{b*}	149±22 ^{b*}	93±16 ^{b*}
Vücut Ağırlığı(g)	336±9	365±16	361±16	392±21	278±6 ^{a*}	293±10	310±23	307±14
Glukoz (mg/dL)	107±4	105±2	113±2	116±1	334±39 ^{a*}	297±30 ^{b*}	309±44 ^{b*}	288±50 ^{b*}
İnsülin (mİÜ/mL)	2,13±0,09	2,011±0,14	2,09±0,14	2,08±0,09	1,77±0,21 ^{a**}	1,93±0,12 ^{b**}	1,82±0,01 ^{b**}	1,93±0,002 ^{b*}

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

Çizelge 6.2. Kontrol (K), Kontrol *Olea europaea* ekstrakt (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstrakt (K+CYE), Kontrol *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstrakt (K+OLEE+CYE), Diyabet (D), Diyabet *Olea europaea* ekstrakt (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* ekstrakt (D+CYE), Diyabet *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstrakt (D+OLEE+CYE) gruplarında kolesterol, trigliserit ve HDL-Kolesterol seviyeleri (Ort ± SEM).

PARAMETRE	K	K+OLEE	K+CYE	K+OLEE+CYE	D	D+OLEE	D+CYE	D+OLEE+CYE
Total Kolesterol (mg/dL)	102±4	57±1 ^{a*}	54±5 ^{a*}	43±5 ^{a*}	122±5 ^{a*}	102±2 ^{b*}	56±2 ^{b*}	63±2 ^{b*}
Trigliserit (mg/dL)	72±2	46±4 ^{a*}	35±1 ^{a*}	58±3 ^{a*}	290±24 [*]	100±6 ^{b*}	72±6 ^{b*}	72±1 ^{b*}
HDL Kolesterol (mg/dL)	52±1	44±3	41±2 ^{a*}	56±4 ^{a*}	32±3 ^{a*}	45±3	30±5	35±5

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

Kontrol *Olea europaea* grubu (K+OLEE), kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında eritrosit SOD (sırasıyla 74±2 Ü/g Hb ve 59±1 Ü/g Hb, p<0.05) ve eritrosit GSH-Px (sırasıyla 16±1 Ü/mL ve 10±0,6 Ü/mL, p<0.05) seviyelerinde istatistiksel olarak artış gözlemlendi. Kontrol *Cynara scolymus* (K+CYE) grubunda kontrol (K) grubuna göre eritrosit SOD (sırasıyla 74±1 Ü/g Hb ve 59±1 Ü/g Hb, p<0.05) ve eritrosit GSH-Px (sırasıyla 18±1 Ü/mL ve 10±0,6 Ü/mL, p<0.05) ve kontrol *Olea europea* + *Cynara scolymus* (K+OLEE+CYE) grubunda kontrol (K) grubuna göre eritrosit SOD (sırasıyla 78±4 Ü/g Hb ve 59±1 Ü/g Hb, p<0.05), eritrosit GSH-Px (sırasıyla 20±2 Ü/mL ve 10 ±0,6 Ü/mL, p<0.05) seviyelerinde istatistiksel olarak artış gözlemlendi.

Diyabet (D) grubu, kontrol (K) ile karşılaştırıldığında eritrosit SOD (sırasıyla 116±1 Ü/g Hb ve 59±1 Ü/g Hb, p<0.05) ve eritrosit GSH-Px (sırasıyla 23±1 Ü/mL ve 10±0,6 Ü/mL, p<0.05) düzeylerinde istatistiksel olarak yüksek bulundu. Diyabet *Olea europaea* (D+OLEE) grubu, diyabet (D) grubu ile karşılaştırıldığında eritrosit SOD (sırasıyla 139±3 Ü/g Hb ve 116±1 Ü/g Hb, p<0.05) seviyesi istatistiksel olarak yüksek bulunsada eritrosit GSH-Px seviyesinde anlamlı bir fark saptanmadı. Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE) grubu ile diyabet (D) grubu karşılaştırıldığında eritrosit SOD (sırasıyla 140±4 Ü/g Hb ve 116±1 Ü/g Hb, p<0.05) ve eritrosit GSH-Px (sırasıyla 35±1 Ü/mL ve 23±1 Ü/mL, p<0.05) aktiviteleri istatistiksel olarak yüksek bulundu. Diyabet *Olea europaea* + *Cynara scolymus* (D+OLEE+CYE) grubu diyabet (D) grubuyla karşılaştırıldığında da eritrosit SOD (sırasıyla 155±2 Ü/g Hb ve 116±1 Ü/g Hb, p<0.05) ve eritrosit GSH-Px (sırasıyla 34±2 Ü/mL ve 23±1 Ü/mL, p<0.05) aktiviteleride istatistiksel olarak yüksek bulundu (Çizelge 6.3)

Kontrol *Olea europaea* (K+OLEE) grubunda kontrol (K) grubuna göre PON aktivitesinde (sırasıyla 132±2 Ü/L ve 124±1 Ü/L, p<0.05) ve arilesteraz aktivitesi (sırasıyla 171±5 Ü/L ve 139±9 Ü/L, p<0.05) anlamlı olarak azalma gözlemlendi. Kontrol *Cynara scolymus* (K+CYE) grubunda kontrol (K) grubuna göre, PON aktivitesinde anlamlı bir fark saptanmamasına rağmen arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla 173±7 Ü/L ve 139±9 Ü/L, p<0.05) anlamlı bir artış saptandı. Bununla birlikte, Kontrol *Olea europaea* + *Cynara scolymus* (K+OLEE+CYE) grubunda, kontrol (K) grubuna göre PON düzeylerinde (sırasıyla 139±1 Ü/L ve 124±1 Ü/L p<0.05) ve arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla 184±4 Ü/L ve 139±9 Ü/L p<0.05) anlamlı artış saptandı.

Diyabet (D) grubunda kontrol (K) grubuna göre, PON aktivitesinde (sırasıyla 56 ± 6 Ü/L ve 124 ± 1 Ü/L, $p<0.05$) ve arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla 73 ± 6 Ü/L ve 139 ± 9 Ü/L, $p<0.05$) anlamlı olarak azalma gözlemlendi. Diyabet *Olea europaea* (D+OLEE) grubunda diyabet (D) grubuna göre, PON aktivitesinde (sırasıyla 110 ± 2 Ü/L ve 56 ± 6 Ü/L, $p<0.05$) ve arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla 122 ± 2 Ü/L ve 73 ± 6 Ü/L, $p<0.05$) anlamlı bir artış saptandı. Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE) grubunda diyabet (D) grubuna göre, PON aktivitesinde (106 ± 3 Ü/L ve 56 ± 6 Ü/L, $p<0.05$) ve arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla 121 ± 3 Ü/L ve 73 ± 6 Ü/L, $p<0.05$) anlamlı bir artış saptandı. Diyabet *Olea europaea* + *Cynara scolymus* (D+OLEE+CYE) grubunda diyabet (D) grubuna göre, PON aktivitesinde (sırasıyla 112 ± 5 Ü/L ve 56 ± 6 Ü/L, $p<0.05$) ve arilesteraz aktivitesinde (sırasıyla 127 ± 3 Ü/L ve 73 ± 6 Ü/L, $p<0.05$) anlamlı bir artış saptandı (Çizelge 6.3).

Çizelge 6.3. Kontrol (K), Kontrol *Olea europaea* ekstrakt (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstrakt (K+CYE), Kontrol *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstrakt (K+OLEE+CYE), Diyabet (D), Diyabet *Olea europaea* ekstrakt (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* ekstrakt (D+CYE), Diyabet *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstrakt (D+OLEE+CYE) gruplarında Eritrosit GSHPx, Eritrosit SOD, serum PON ve Arilesteraz değişimleri (Ort ± SEM).

PARAMETRE	K	K+OLEE	K+CYE	K+OLEE+CYE	D	D+OLEE	D+CYE	D+OLEE+CYE
Eritrosit GSHPx (Ü/mL)	10 ± 0,6	16±1 ^{a*}	18±1 ^{a*}	20±2 ^{a*}	23±1 ^{a*}	30±3	35±1 ^{b*}	34±2 ^{b*}
Eritrosit SOD (Ü/g Hb)	59 ± 1	74±2 ^{a*}	74±1 ^{a*}	78±4 ^{a*}	116±1 ^{a*}	139±3 ^{b*}	140±4 ^{b*}	155±2 ^{b*}
PON (Ü/L)	124 ± 1	132 ± 2 ^{a*}	134±3	139±1 ^{a*}	56±6 ^{a*}	110±2 ^{b*}	106±3 ^{b*}	112±5 ^{b*}
Arilesteraz (Ü/L)	139 ± 9	171 ± 5 ^{a*}	173±6 ^{a*}	184±4 ^{a*}	73±6 ^{a*}	122±2 ^{b*}	121±3 ^{b*}	127±3 ^{b*}

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

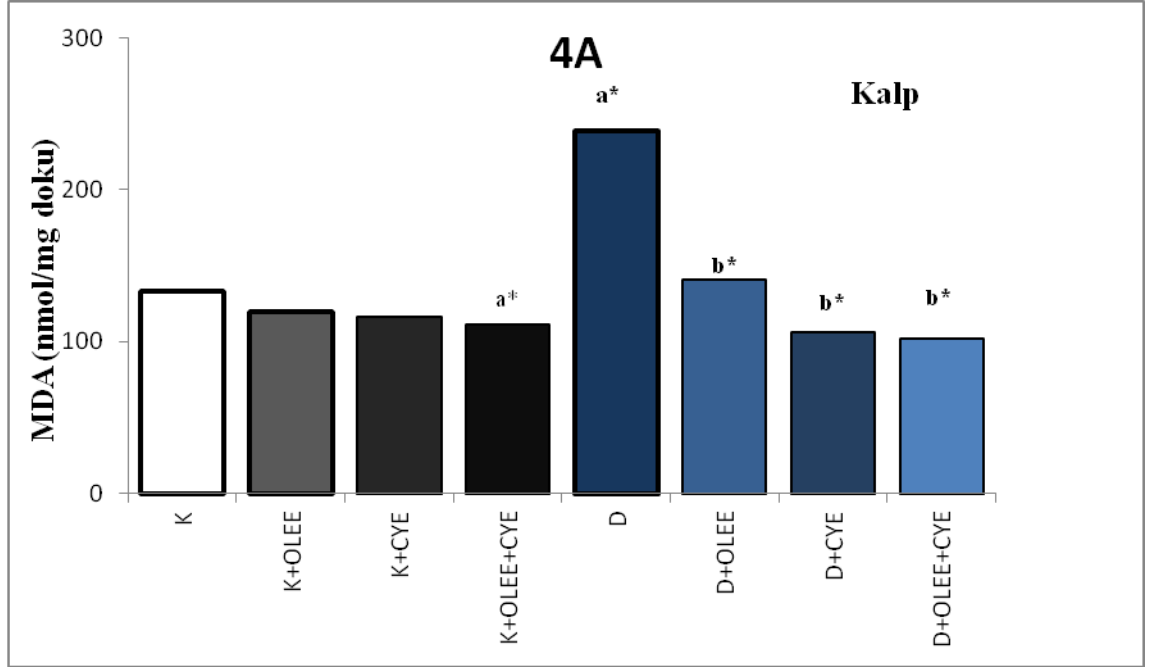
Kontrol *Olea europaea* (K+OLEE) grubunda kontrol (K) grubuna göre kalp ve kas dokusunda MDA düzeyinde azalma gözlemlensede anlamlı bir fark saptanmazken, karaciğer (sırasıyla 100±10 nmol/mg doku ve 201±4 nmol/mg doku, p<0.05) ve böbrek (sırasıyla 148±23 nmol/mg doku ve 302±3 nmol/mg doku, p<0.05) MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma saptandı. Kontrol *Cynara scolymus* (K+CYE) grubunda kontrol (K) grubuna göre, kalp dokusunda MDA düzeyinde azalma gözlesende anlamlı bir fark saptanmadı ancak kas dokusunda (sırasıyla 105±7 nmol/mg doku ve 139±2 nmol/mg doku, p<0.05), karaciğer dokusunda (sırasıyla 138±9 nmol/mg doku ve 201±4 nmol/mg doku, p<0.05) ve böbrek dokusunda (sırasıyla 152±42 nmol/mg doku ve 302±3 nmol/mg doku, p<0.05) MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma saptandı. Kontrol *Olea europaea* + *Cynara scolymus* (K+OLEE+CYE) grubunda kontrol (K) grubuna göre, kalp (sırasıyla 111±8 nmol/mg doku ve 133±3 nmol/mg doku, p<0.05), kas (sırasıyla 117±11 nmol/mg doku ve 139±2 nmol/mg doku, p<0.05), karaciğer (sırasıyla 120±13 nmol/mg doku ve 201±4 nmol/mg doku, p<0.05) ve böbrek dokusunda (sırasıyla 120±13 nmol/mg doku ve 302±3 nmol/mg doku, p<0.05) MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma saptandı.

Diyabet (D) grubunda kontrol (K) grubuna göre kalp dokusunda (sırasıyla 239±14 nmol/mg doku ve 133±3 nmol/mg doku, p<0.05) ve kas dokusunda (sırasıyla 184±3 nmol/mg doku ve 139±2 nmol/mg doku, p<0.05) MDA düzeylerinde anlamlı bir artış saptansada, karaciğer ve böbrek dokularında MDA düzeylerinde artış gözlemlensede istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Diyabet *Olea europaea* (D+OLEE) grubunda diyabet (D) grubuna göre, kalp dokusunda (sırasıyla 141±15 nmol/mg doku ve 239±14 nmol/mg doku, p<0.05), kas dokusunda (sırasıyla 117±6 nmol/mg doku ve 184±3 nmol/mg doku, p<0.05), karaciğer dokusunda (sırasıyla 146 ± 13 nmol/mg doku ve 270±39 nmol/mg doku, p<0.05) ve böbrek dokusunda (sırasıyla 141±10 nmol/mg doku ve 253±28 nmol/mg doku, p<0.01) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE) grubunda diyabet (D) grubuna göre, kalp dokusunda (sırasıyla 106±13 nmol/mg doku ve 239±14 nmol/mg doku, p<0.05), kas dokusunda (sırasıyla 110±6 nmol/mg doku ve 184±3 nmol/mg doku, p<0.05), karaciğer dokusunda (sırasıyla 149±11 nmol/mg doku ve 270±39 nmol/mg doku, p<0.05), böbrek dokusunda (sırasıyla 143±10 nmol/mg doku ve 253±28 nmol/mg

doku, $p<0.01$) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. Diyabet *Olea europaea* + *Cynara scolymus* (D+OLEE+CYE) grubunda diyabet (D) grubuna göre kalp dokusunda (sırasıyla 102 ± 7 nmol/mg doku ve 239 ± 14 nmol/mg doku, $p<0.05$), kas dokusunda (sırasıyla 106 ± 7 nmol/mg doku ve 184 ± 3 nmol/mg doku, $p<0.05$), karaciğer dokusunda (sırasıyla 136 ± 15 nmol/mg doku ve 270 ± 39 nmol/mg doku, $p<0.05$), böbrek dokusunda sırasıyla 128 ± 6 nmol/mg doku ve 253 ± 28 nmol/mg doku, $p<0.01$) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı (Şekil 6.5, Şekil 6.6, Şekil 6.7, Şekil 6.8, Çizelge 6.4)

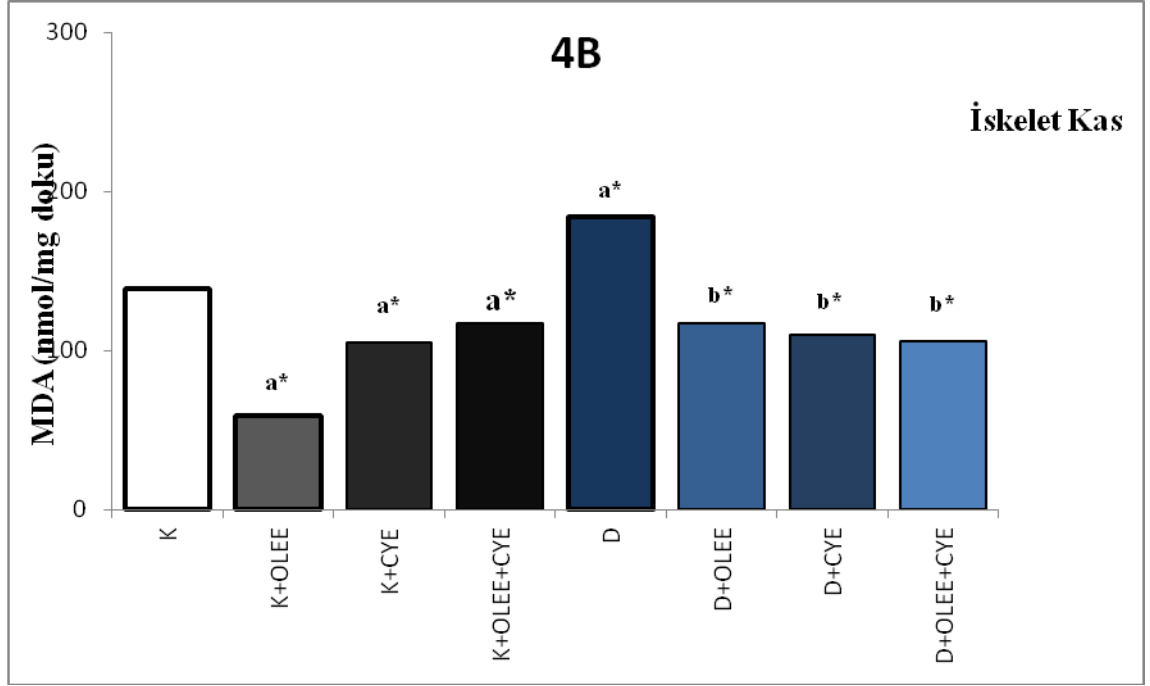
Kontrol *Olea europaea* ekstratı (K+OLEE) grubu, kontrol *Cynara scolymus* (K+CYE) grubu ve kontrol *Olea europaea* ekstratı + kontrol *Cynara scolymus* (K+OLEE+CYE) gruplarının plazma MDA değerlerin kontrol (K) grubu ile karşılaştırıldığında azalma gözlemlendi fakat anlamlı bir fark bulunamadı.

Diyabet (D) grubu, kontrol (K) ile karşılaştırıldığında plazma MDA (sırasıyla $11,3\pm0,07$ nmol/mL ve $8,4\pm0,09$ nmol/mL, $p<0,05$) anlamlı artış saptanırken, diyabet *Olea europaea* ekstratı (D+OLEE) grubu diyabet (D) grubu ile karşılaştırıldığında (sırasıyla $8,3\pm0,005$ nmol/mL ve $11,3\pm0,07$ nmol/mL, $p<0,05$) anlamlı bir azalma saptandı. Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE) grubu diyabet grubu ile karşılaştırıldığında azalma gözlemlendi fakat anlamlı bir fark bulunamasa da diyabet *Olea europaea* (D+OLEE) + diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE) grubu diyabet grubu ile karşılaştırıldığında ise (sırasıyla $8,0 \pm 0,07$ nmol/mL ve $11,3\pm0,07$ nmol/mL, $p<0,05$) anlamlı bir azalma saptandı. (Şekil 6.9, Çizelge 6.4)



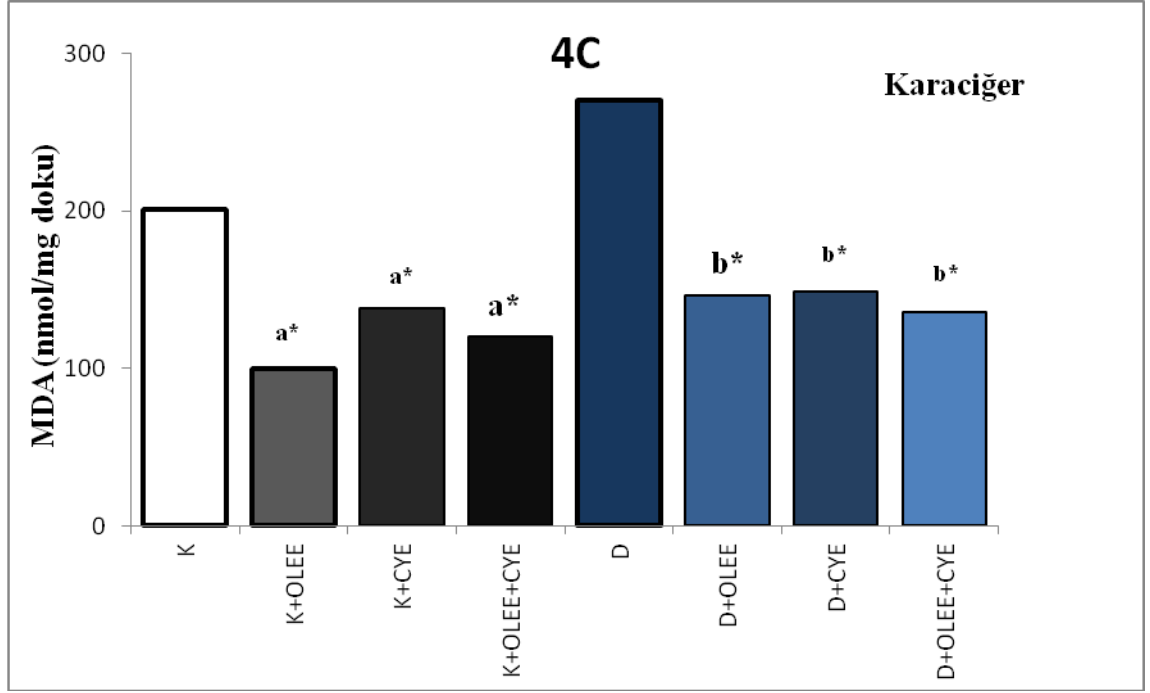
Şekil 6.5. Kontrol (K) , Kontrol *Olea europaea* ekstraktı (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE), Kontrol *Olea europea* + *Cynara scolymus* (K+OLEE+CYE) ekstraktı, Diyabet (D), Diyabet *Olea europaea* ekstraktı (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* ekstraktı (D+CYE), Diyabet *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+OLEE+CYE), Kalp MDA Düzeyleri

a: Kontrol grubu ile karşılaştırma b: Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$



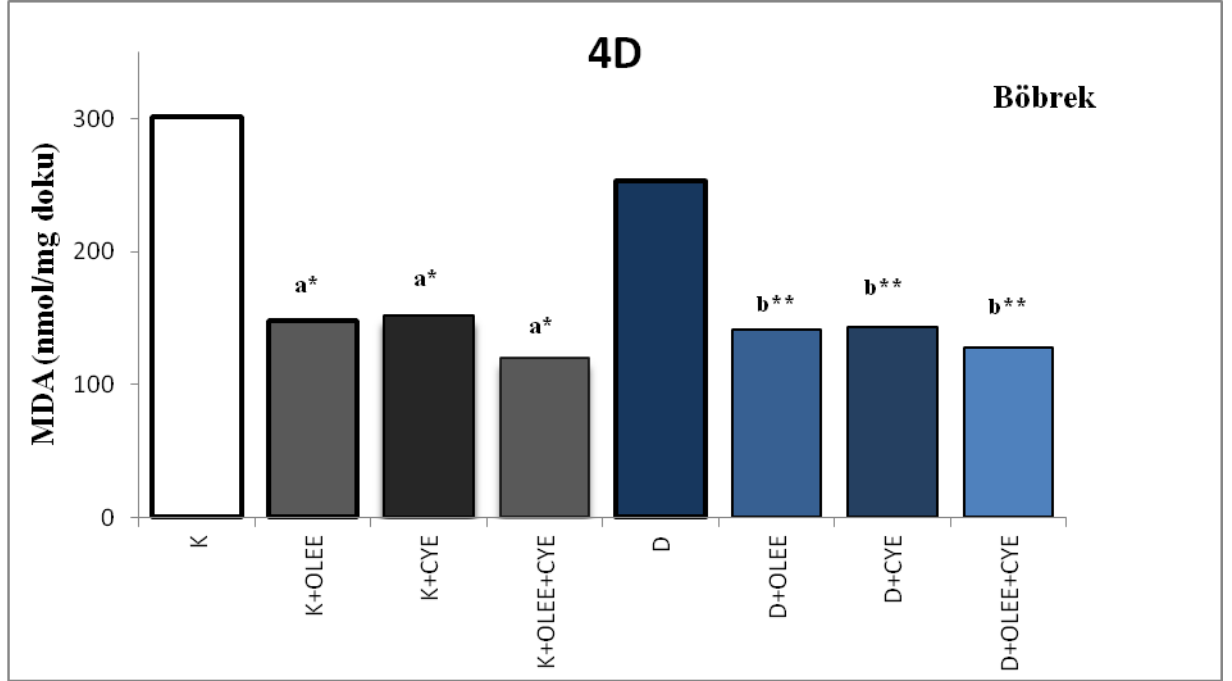
Şekil 6.6. Kontrol (K), Kontrol *Olea europaea* ekstraktı (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE), Kontrol *Olea europaea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+OLEE+CYE), Diyabet (D), Diyabet *Olea europaea* ekstraktı (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE), Diyabet *Olea europea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+OLEE+CYE), Kas MDA Düzeyleri

a: Kontrol grubu ile karşılaştırma b: Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$



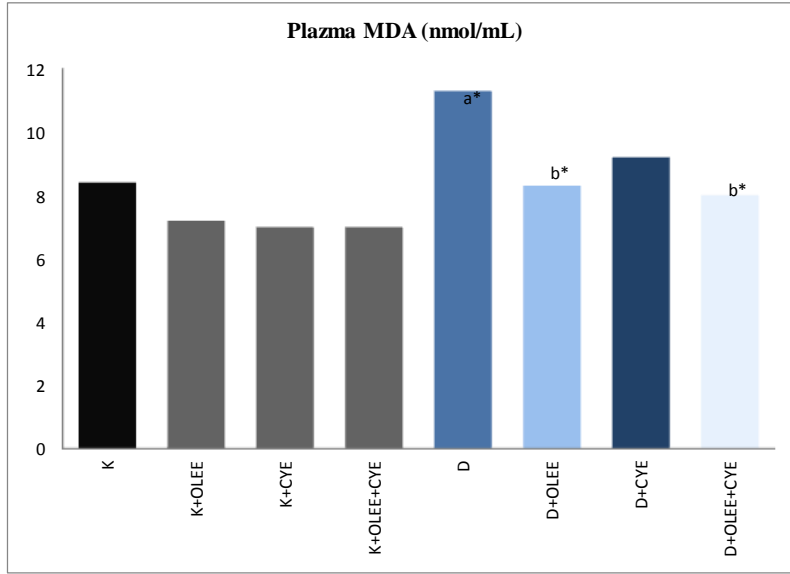
Şekil 6.7. Kontrol (K), Kontrol *Olea europae* ekstraktı (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE), Kontrol *Olea europae* + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+OLEE+CYE), Diyabet (D), Diyabet *Olea europae* ekstraktı (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE), Diyabet *Olea europea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+OLEE+CYE), Karaciğer MDA Düzeyler

a: Kontrol grubu ile karşılaştırma b: Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$



Şekil 6.8. Kontrol (K), Kontrol *Olea europae* ekstraktı (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE), Kontrol *Olea europae* + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+OLEE+CYE), Diyabet (D), Diyabet *Olea europae* ekstraktı (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE), Diyabet *Olea europea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+OLEE+CYE), Böbrek MDA Düzeyleri

a: Kontrol grubu ile karşılaştırma b: Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$



Şekil 6.9. Kontrol (K), Kontrol *Olea europae* ekstraktı (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE), Kontrol *Olea europae* + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+OLEE+CYE), Diyabet (D), Diyabet *Olea europae* ekstraktı (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE), Diyabet *Olea europea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+OLEE+CYE), Plazma MDA Düzeyleri

a: Kontrol grubu ile karşılaştırma b: Diyabet grubu ile karşılaştırma. İstatistiksel anlamlılık düzeyi: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Çizelge 6.4. Kontrol (K), Kontrol *Olea europae* ekstraktı (K+OLEE), Kontrol *Cynara scolymus* ekstraktı (K+CYE), Kontrol *Olea europae* + *Cynara scolymus* ekstraktı (K+OLEE+CYE), Diyabet (D), Diyabet *Olea europae* ekstraktı (D+OLEE), Diyabet *Cynara scolymus* (D+CYE), Diyabet *Olea europea* + *Cynara scolymus* ekstraktı (D+OLEE+CYE), Kalp, Kas, Karaciğer ve Böbrek Doku MDA ve Plazma MDA Düzeyleri (Ort ± SEM).

PARAMETRE	K	K+ OLEE	K+CYE	K+OLEE+CYE	D	D+OLEE	D+CYE	D+OLEE+CYE
Kalp MDA (nmol/mg)doku	133±3	120±14	116±23	111±8 ^{a*}	239±14 ^{a*}	141±15 ^{b*}	106±13 ^{b*}	102±7 ^{b*}
Kas MDA (nmol/mg) doku	139±2	59±4	105±7 ^{a*}	117±11 ^{a*}	184±3 ^{a*}	117±6 ^{b*}	110±6 ^{b*}	106±7 ^{b*}
Karaciğer MDA (nmol/mg) doku	201±4	100±10 ^{a*}	138±9 ^{a*}	120±13 ^{a*}	270±39	146±13 ^{b*}	149±11 ^{b*}	136±15 ^{b*}
Böbrek MDA (nmol/mg) doku	153±3	148±23 ^{a*}	152±42 ^{a*}	120±13 ^{a*}	253±28 ^{a*}	141±10 ^{b**}	143±10 ^{b**}	128±6 ^{b**}
Plazma MDA (nmol/mL)	8,4±0,09	7,2±0,11	7,0±0,04	7,0±0,09	11,3±0,07 ^{a*}	8,3±0,05 ^{b*}	9,2±0,08	8,0±0,07 ^{b*}

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

7. TARTIŞMA

Bu çalışmada STZ ile tip 1 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yem, sıvı alımında, kan glukoz ve serum TG, TK düzeylerindeki artış, vücut ağırlığı ve insülin düzeylerinde görülen azalma diyabet tablosunun oluştuğunu yansıtan bulgular olarak yorumlandı. Son dönemlerde diyabet gibi oksidatif strese neden olan çeşitli hastalıkları önlemede antioksidan özelliği olan yiyeceklerin ya da bileşiklerin kullanıldığı görülmektedir (Tas ve ark. 2011). Bunun nedeni ise bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin yüksek ve düşük toksik özelliklere sahip olmalarından kaynaklanmaktadır (Tas ve ark. 2005). Diyabet tedavisinde kan glukozunu düşürücü birçok bitki ekstreleri ya da bu ekstrelerden elde edilen tabletler kullanılmaktadır. Bu bitki ekstrelerinden olan ve son dönemlerde üzerinde yoğun çalışmalar yapılan zeytin yaprağı ekstresi olup bir diğeri ise enginar yaprağı ekstresidir. (Büyükbacı ve ark. 2008, Gibhardt 1997). *In vitro* ve *in vivo* insan ve hayvan çalışmalarında zeytin yaprağı ekstresinin ve enginar yaprağı ekstresinin kan glukozunu düşürücü etkilerinden bahsedilmektedir (Gonzalez ve ark. 1993, Wang ve ark. 2003). Özellikle zeytin yaprağı ve enginar yaprağı fenolik içerik açısından zengin bitkilerdir ve kan glikozunun düşmesine bu zengin fenolik içeriğin sebep olduğu belirtilmiştir (Pereira ve ark. 2007, Sonnante ve ark. 2011). Zeytin yaprağının içinde bulunan oleuropeinin ve gerekse hidrokstirozolün kan glukozunu düşüren etken madde olduğu belirtilirken, enginar yaprağında ise bu etken maddelerin sinarin, koloregenik asit ve dicafocynelik asit olduğu belirtilmiştir (Jemai ve ark. 2009). Ancak yapılan taramalarda diyabette enginar yaprağı ekstresi ile ilgili az çalışmaya rastlanmıştır. Bunun yanı sıra farklı çalışmalarda zeytin yaprağında bulunan oleuropein ve hidrokstirozolün diyabette oluşan serbest radikallere karşı savunucu rol oynadıkları ve kuvvetli antioksidan özellik gösterdikleri belirtilmiştir (Chimi ve ark. 1991). Yine farklı çalışmalarda diyabette oleuropein ilavesinin aynı zamanda azalmış insülin sekresyonunda da artışa sebep olduğu bildirilmiştir (Cumaoğlu ve ark. 2011).

Bu çalışmada D+OLEE (Diyabet + *Olea europaea*) grubu diyabet (D) grubu ile karşılaştırıldığında D+OLEE grubunda serum insülin düzeylerinde anlamlı artış saptanırken buna bağlı olarak da kan glukoz düzeylerinde anlamlı azalma olduğu görüldü. D+OLEE grubunda kan glikoz seviyesinde görülen azalmanın, oleuropeinin

nişasta sindirim ve emilimini azaltmasından kaynaklanabileceği gibi oleuropeinin insülin serbestlenmesini potansiyelize etmesinden ya da glukozun periferik alımının artırmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Wainsten ve ark. 2012).

Rondanelli ve ark. (2013) *Cynara scolymus* L. ekstraktlarının kan glukozunu düşürücü etkilerinin multifaktöryel olabileceğini ve bunlar arasında sinarin, karaciğer enzim düzeylerini etkileyerek kan glukozunu düşürebileceğini belirtmişlerdir. Yine sinarin için olası bir mekanizmanın da diyet karbonhidratların katabolizmasını ve ayrıca alfa glikozidazların aktivitesini düzenleme yoluyla glisemik kontrolü sağladığı belirtilmiştir. Kolorojenikasinin ise glikoz 6 fosfatın translokasyonunu inhibe ederek kan glikozunu düşürdüğü ayrıca diğer bir etkisinin de ince bağırsaklardan glukozun absorpsiyonunu inhibe ederek kan glukozunu düşürebileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada D+CYEE (Diyabet + *Cynara scolymus*) grubunda kan glukoz düzeyinde gözlenen azalma ve insülin düzeyinde görülen artışın nedeni bu ekstrenin karaciğerde glukoz metabolizmasını etkilemesinden kaynaklanabilir. Ayrıca D+OLEE+CYE (Diyabet *Olea europaea* + *Cynara scolymus*) grubunda kan glukozunda, her iki ekstrenin birlikte verilmesi ekstrelerin ayrı ayrı uygulandığı gruplara göre daha ciddi azalmaya neden olurken insülin düzeyinde de anlamlı artışa neden olmuştur. Aslında bu iki ekstrenin etken maddeleri farklıdır fakat sonuçta her ikisinin de kan glukozunu düşürme mekanizmasına bakıldığında karaciğer metabolizması üzerinden etki gösterdiğini düşündürmektedir. Ayrıca oleuropeinin pankreası rejenere etmesi sonucu insülin düzeyinde görülen artış kan glukozunu düşüren diğer bir etken olarak da kabul edilebilir.

Diyabette lipit düzeylerinde gözlenen artışlar ateroskleroz riskini artıran önemli faktörlerden biridir (Jemai ve ark. 2009). Bu çalışmada diyabet grubunda kontrol grubuna göre serum TK ve serum TG düzeylerinde anlamlı artış saptandı. Diyabette gözlenen serum TK ve serum TG düzeylerindeki artışın sebebi insülinin, hormona duyarlı lipaz enzimini inhibe etmesinden kaynaklanabileceği gibi periferik depolardan serbest yağ asitlerinin mobilizasyonundaki artışından da kaynaklanabilir. Jemai ve ark. (2009) alloxan ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda zeytin yaprağındaki oleuropeinin ve hidroksitirozolün lipit düzeylerini düşürdüğü belirtmişlerdir. Aynı zamanda Rondelli ve

ark. (2013) yaptığı çalışmada ise *Cynara scolymus*' un serum TK düzeyinde artış ve serum HDL-K düzeyinde ise azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada, K+OLEE, K+CYE ve K+OLEE+CYE gruplarında TK ve TG düzeylerinde anlamlı azalma saptandı ve bu ekstrelerin etki düzeylerine bakıldığında K+OLEE+CYE grubunda TK ve TG düzeylerinde görülen azalma K+OLEE ve K+CYE gruplarında görülen azalmadan daha fazladır. OLEE ve CYE' nin aynı anda verilmesiyle TK ve TG düzeylerinde daha fazla azalma bulunmuştur. Diyabet grubunda da hem CYE hem de OLEE, TK ve TG düzeylerinde anlamlı azalmaya sebep olmuştur. Kontrol grubunda olduğu gibi OLEE ve CYE ' nin diyabet grubuna aynı anda verilmesi serum TK ve TG düzeylerinde daha fazla azalma gösterirken, CYE' nin verildiği gruptaki TK ve TG düzeylerindeki azalma OLEE grubuna göre daha fazladır.

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde gerek zeytin yaprağı ekstresinin gerekse enginar yaprağı ekstresinin antihiperlipidemik özelliğe sahip olduğu saptanmıştır.

Diyabette oksidatif stresin en önemli göstergelerinden biri de plazma ve doku MDA düzeylerinde görülen artışlardır çünkü MDA lipit peroksidasyonunun bir ürünüdür ve bu çalışmada gerek plazma ve gerekse doku MDA (kalp, kas, karaciğer ve böbrek) düzeylerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış saptanmıştır. D+OLEE grubunda kas, karaciğer ve böbrek doku MDA düzeylerini OLEE'nin CYE' ye göre daha fazla düşürdüğü bulundu. Ancak OLEE ve CYE' nin birlikte verildiği diyabet grubunda doku ve plazma MDA düzeylerindeki azalma OLEE' nin verildiği gruba göre daha fazla etki gösterirken, OLEE' nin verildiği grupta görülen MDA düzeylerindeki azalmada CYE' nin verildiği gruba göre daha fazla olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra diyabet grubunun kalp, kas doku MDA düzeylerinde CYE' nin daha etkili olduğu karaciğer ve böbrekte ise OLEE ve CYE' nin hemen hemen aynı etki düzeyine sahip olduğu saptanmıştır. Gerek kontrol gerekse diyabet grubunda doku MDA düzeylerinde saptanan azalmalar zeytin yaprağı ve enginar yaprağının antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceği gibi bu ekstrelerin yaptığımız çalışmada da gösterildiği üzere antihiperlipidemik özelliğinden de kaynaklanabilir, çünkü lipitler lipit peroksidasyonunun temel kaynağıdır.

Diyabette hipergliseminin sebep olduğu oksidatif stres ve buna bağlı olarak antioksidan enzim seviyesindeki değişimler pek çok çalışmada bildirilmiştir (Bouaziz ve ark. 2008).

Diyabetik koşulda antioksidan enzim düzeylerinin arttığı, azaldığı ya da değişmediği konusunda farklı çalışmalar bulunmaktadır (Yamagishi ve ark. 2001). Bu çalışmada diyabet grubunda eritrosit GSH-Px ve SOD aktivitesinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış saptanması diyabette antioksidan enzim seviyelerinde artış saptayan çalışmalarla uyum göstermektedir (Jemai ve ark. 2009, Aliciguzel ve ark. 2003 ve Huang ve ark. 1999). Bu çalışmada K+OLEE, K+CYE, K+OLEE+CYE grubunda eritrosit GSH-Px ve SOD aktivitesinde anlamlı artış saptanmıştır. K+OLEE+CYE grubundaki GSH-Px değerindeki artış K+CYE' nin grubuna göre daha fazla olurken K+CYE grubunda GSH-Px değerindeki artış K+OLEE grubuna göre daha fazla olduğu görülmektedir. Bununla birlikte K+OLEE+CYE grubunda SOD değerlerinde görülen artış K+CYE ve K+OLEE gruplarındaki SOD değerlerine göre daha fazla iken K+CYE ve K+OLEE gruplarındaki SOD değerlerinin hemen hemen birbirine yakın olduğu görülmektedir. Benzer durum diyabet grubunda da görülmektedir. Ancak diyabet grubunda GSH-Px değerlerinde D+OLEE+CYE ile D+CYE grubundaki etki birbirine yakın olarak görülmektedir. GSH-Px ve SOD enzim aktivitesindeki artışın nedeni bu ekstrelerin transkripsiyonel düzeyde SOD ve GSH-Px enzimlerinin ekspresyonunu artırmasından kaynaklanabilir. Enzim aktivitelerinde saptanan bu artış diyabetik koşulda oluşan lipid peroksidasyonuna karşı oluşturulmuş bir yanıt olarak düşünülebilir.

Diyabette etkilenen diğer bir antioksidan enzimde PON 1' dir. PON, HDL-K bileşeni olup, HDL' nin aterosklerotik aktivitesine yardımcı olur aynı zamanda lipoprotein peroksidasyonunu önler (Aviram ve ark. 2013, Tas ve ark 2006). Bununla birlikte hidrojen peroksitte dahil olmak üzere diğer serbest radikalleri nötralize ettiği de belirtilmektedir ve bu sebeple LDL peroksidasyonunu koruyucu etki sağladığı için antioksidan özelliği olduğu ifade edilmektedir (Uysal ve ark. 2011). Bu çalışmada diyabet grubu sıçanlarında serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinde gözlenen azalma daha önce diyabetik insan ve hayvanlar ile yapılan çalışmalarla uyum göstermektedir (Amine ve ark. 2011, Tas v ark. 2006). PON 1 aktivitesindeki azalma HDL aktivitesindeki azalmadan kaynaklanabilir. Çünkü PON HDL' yi oksidasyondan korur. PON/arilesteraz aktivitesinde azalma diyabet, hiperlipidemi ve koroner arter hastalığı gibi pek çok durumda görülebilmektedir ki bu durumların çoğu da oksidatif

stresi yansıtmaktadır (Aviram ve ark. 1998). Bu çalışmada diyabetik sıçanlarda azalmış serum PON 1 aktivitesi hiperglisemi ve/veya oksidatif streten kaynaklanabilir çünkü hiperglisemik koşulda HDL'nin glikooksidasyonu ve glikasyonu sonucu enzim aktivitesinde azalma gözlenir (Wegner ve ark. 2011). Dahası, arilesteraz enzim kütlesini göstermektedir; nükleik materyal ya da transkripsiyon faktörlerinin oksidatif modifikasyonu ya da glikasyonu arilesteraz enzim aktivitesinde azalmaya sebep olabilir. Diyabet grubunda kontrol grubuna göre azalma gösteren paraoksanaz aktivitesi OLEE, CYE, OLEE+CYE ilave edilmesi sonucu arttığı saptanmıştır. Aynı durum arilesteraz aktivitesi için de bulunmuştur. Diyabetli gruplarda oksidatif stres sonucu oluşan lipid peroksidasyonu PON ve arilesteraz aktivitesini düşürebilir. Gerek kontrol gerekse diyabet grubuna OLEE ve CYE ilavesi yapıldığında hem PON hem de arilesteraz aktivitesinde artış gözlenmiştir. Bizim yaptığımız literatür taramalarında OLEE ve CYE ekstrelerinin diyabette PON üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla gerek OLEE gerekse CYE ekstreleri verildikten sonra bu enzim düzeylerindeki artış oldukça dikkat çekicidir. Çünkü PON gerek HDL'nin aterosklerozdan koruyucu etkisine katkıda bulunarak gerekse lipoprotein oksidasyonunu önleyerek aterosklerotik süreçte koruyucu rol oynamaktadır. Gerek diyabetik gerekse kontrol grubunda bu enzim düzeylerinde görülen artış bu bitki ekstrelerinin enzim sentezini artırmasından dolayı olabilir. Kontrol grubunda PON ve arilesteraz üzerindeki etkinin K+OLEE+CYE grubunda, K+CYE grubuna ve K+OLEE grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte diyabet grubunda ise D+CYE+OLEE grubunda PON ve arilesteraz üzerindeki etki D+OLEE' ye grubuna göre daha fazla iken D+OLEE grubundaki artışta D+CYE grubuna göre daha fazla olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışmada, *Olea europaea* ekstresi, *Cynara scolymus* ekstresi ve *Olea europaea* ekstresi + *Cynara scolymus* ekstresi bileşimi verilen sıçanlarda diyabetin oluşturduğu oksidatif hasara karşı antioksidan etki gösterdiği ve bununla birlikte oksidatif stres oluşumuna neden olan lipid peroksidasyonunu azaltıcı etki gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgular doğrultusunda *Olea europaea* ve *Cynara scolymus* ekstrelerinin Tip 1 diyabette tedavi destekleyicisi olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abacı, A., Böber, E., Büyükgebiz, A. 2007.** Tip 1 Diyabet. *Güncel Pediatri*. (5): 1-10.
- Adzet T., Puigmacia M. 1985.** High-performance liquid chromatography of caffeoylquinic acid derivatives of *Cynara scolymus* L. leaves. *J. Chromatogr.* 348, 447-452.
- Akkuş, İ. 1995.** Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Kuzucular ofset, Konya.
- Altan, N., Serpici, Dinçel., A, Koca C. 2006.** Diyabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem]*. 31 (2); 51-56.
- Al-Azzawie, H.F., Alhamdani, M.S. 2006.** Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci.* 78(12): 1371-7.
- Aliciguzel, Y., Ozen, I., Aslan, M. et al. 2003.** Activities of xanthine oxidoreductase and antioxidant enzymes in different tissues of diabetic rats. *J Lab Clin Med.* 142(3): 172-177.
- Amine, K., Atouk, A., Moussamih, S., et al. 2011.** Paraoxonase-1 (PON1) activity in patients with coronary artery diseases and in diabetic patients. *Ann Biol Clin.* 69(6): 671-677.
- Andreadou, I., Iliodromitis, E.K., Mikros, E., Constantinou, Maria., Agalias, A., Magiatis, P., Skaltsounis, A.L., Kamber, E., Tsantili-Kakoulidou, A., and Th Kremastinos, D. 2006.** The Olive Constituent Oleuropein Exhibits Anti-Ischemic, Antioxidative, and Hypolipidemic Effects in Anesthetized Rabbits. *The Journal of Nutrition* , (136) : 2213-2219.
- Arantes-Rodrigues, R., Henriques, A., Pires, M.J., Colaco, B., Colaco, A.M., Rema, P., et al. 2011.** High doses of olive leaf extract induce liver changes in mice. *Food Chem Toxicol.* 49(9): 1989-97.
- Aviram, M., Vaya, J. 2013.** Paraoxonase 1 activities, regulation, and interactions with atherosclerotic lesion. *Curr Opin Lipidol.* 24(4): 339-344.
- Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, C.L, et al.1998** Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest.* 101(8): 1581-1590
- Babior, M.N. 2000.** Phagocytes and oxidative stress. *The American Journal of Medicine* (191) : 33-44.
- Baynes, J.W., Thorpe, S.R. 1999.** Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes.* (48): 1- 9.

- Benavente-Garcia, J., Castillo, J., Lorente, A., Ortuno, A., Del Rio, JA. 2000.** Antioxidant activity of phenolics extracted from (*Olea europaea*) L. leaves. *Food Chem.* 68(4): 457-62.
- Bukan, N., Sancak, B., Bilgihan, A., Kosova, F., Buğdaycı, G., Altan, N. 2004.** The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology.* 26(7) : 519-22.
- Bouallagui, Z., Han, J., Isoda, H., Sayadi, S. 2011.** Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 49(1): 179-184.
- Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., Sayadi S.2008.** Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chem.* 108(1): 253-62.
- Brown J, E., Rice-Evans, C. A. 1998.** Luteolin-rich artichoke extract protects low density lipoprotein from oxidation in vitro. *Free Radical Res.* 29 : 247-255.
- Buyukbalci, A., El, S.N. 2008.** Determination of *in vitro* antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas. *Plant Foods Hum Nutr.* 63(1): 27-33.
- Cameron, N.E., Cotter, M.A. 1997.** Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes.* 46(Supplement 2), 31-37.
- Cameron, N.E., Cotter, M.A. 1995.** Neurovascular dysfunction in diabetic rats: potential contribution of autooxidation and free radicals examined using transition metal chelating agents. *Journal of Clinical Investigation.* 96(2),1159-1163.
- Ceriello A., 2000.** Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism.* (49) : 27- 29.
- Chimi, H., Cillard, J., Cillard, P., Rahmani, M. 1991.** Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *J Am Oil Chem Soc.* 68(5): 307-12
- Coni, E., Benedetto, R., Pasquale, M., Masella, R., Modesti, D., Mattei, R., Carline, E.A. 2000.** Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids.* (35): 45–54. doi:10.1007/s11745-000-0493-2
- Cumaoğlu, A., Rackova, L., Stefek M., Kartal, M., Maechler, P., Karasu, Çimen. 2011.** Effects of olive leaf polyphenols against H₂O₂ toxicity in insulin secreting β-cells. *Acta Biochimica Polonica (ABP).* (58) : 45-50.

De la Puerta, R., Ruiz Gutierrez, V., Houlst, J.R. 1999. Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem Pharmacol.* 57(4): 445-9.

Gordon, M. H., Paiva-Martins, F., Almeida, M. 2001. Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *J Agric Food Chem.* 49(5): 2480-5.

Dikici, İ. 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. *Uzmanlık Tezi*, Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

Donath, M.Y., Gross, D.J., Cesari, E., Kaiser, N. 1999. Hyperglycemia- induced β cell apoptosis in pancreatic islets of Psammoys obesus during development of diabetes. *Diabetes.* 48(4):738-40.

Dominguez, C., Gussinye, M., Ruiz, E. and Carrascosa, A. 1998. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care*, Vol. 21(10), pp. 1736-1742.

Dranik L. I., Dolganenko L. G., Slapke J. 1996. Thoma, N. Chemical composition and medical usage of *Cynara scolymus* L. *Rastit Resur.* 32, 98-104.

Dünder, Y., Aslan, R.2000. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Uyum Ajans, Ankara, 4-10.

El, S.N., Karakaya, S.2009. Olive tree (*Olea europea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutr Rev.* 67(11): 632-8.

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

Fırat, S. 1997. Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon ,glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. *Uzmanlık Tezi*, Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Ankara.

Gibhardt, R. 1997. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 144, 279-286.

Granados-Principal, S., Quiles, J.L., Ramirez-Tortosa, C.L., Sanchez-Rovira, P., Ramirez-Tortosa, M.C. 2010. Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials. *Nutr Rev.* 68(4): 191-206.

Greene, D.A., Sima, A.A.F., Alberts, J.W., Pfeifer, M.A. 1990. Diabetic neuropathy. In Diabetes Mellitus Theory and Practice (4th ed) Rifkin H, Porte D (Eds), Elsevier, New York, NY.

Greene, D.A., Lattimer, S.A., Sima, A.A.F. 1987. Sorbitol, phosphoinositides and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *The New England Journal of Medicine.* 316(10),599-606.

Godin, D.V., Wohaiieb, S.A., Garnett, M.E., Goumeniouk, A.D.1988. Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes. *Mol Cell Biochem.* (4) :223-31.

Gonzalez, M., Zarzuelo, A., Gamez, M.J., Utrilla, M.P., Jimenez, J., Osuna, I. 1992. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med.*58(6): 513-5.

Gutteridge, J.M. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem. Dec,* 41(12 Pt 2):1819-28.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed., Oxford University Press, Oxford, UK.

Hori, O., Yan, S.D., Ogawa, S., Kuwabara, K., Matsumoto, M., Stern, D., Schmidt, A.M. 1996. The receptor for advanced glycation end- products has a central role in mediating the effects of advanced glycation – end- products on the development of vascular disease in diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant.* 11: 23-29

Hollman, P.C., De Vries, J.H., Van Leeuwen, S.D., Mengelers, M.J., Katan, M.B.1995. Absorption of dietary guercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr.*62(6): 1276-82.

Huang, W.C., Juang, S.W., Liu, I.M., et al. 1999. Changes of superoxide dismutase gene expression and activity in the brainof streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett.* 275(1): 25-28.

Hunt JW., Dean RT., Wolff SP., 1988. Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem J.* (256) : 205-12

Ihara, Y., Toyokuni, S., Uchida, K., Odaka, H., Tanaka, T., Ikeda, H., Hiani, H., Seino, Y., Yamada, Y.1999. Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic β cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes* 48(4): 927-932.

Jain, S. K. ve R, MC VIE. 1994. Effect of glycemic control race (white vs. black) and duration of diabetes on reduced glutathione content in erythrocytes of diabetic patients. *Metabolism.*(43) : 306-309.

Janero, D.R. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.*9: 515-40.

Jemai, H., El Feki A., Sayadi S., 2009. Antidiabetic and Antioxidant Effects of Hydroxytyrosol and Oleuropein from Olive Leaves in Alloxan-Diabetic Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 8798-8804

Karasu, C. 1999. Increased activity of H₂O₂ in aorta isolated from chronically streptozotocin-diabetic rats: Effects of antioxidant enzymes and enzyme inhibitors. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 27, pp. 16-27.

Kehrer, J.P., Smith, C.V. 1994. Free radicals in biology : Sources, reactivities and role in the aetiology of human disease. Feri B. (ed) *Natural antioxidants in human health and disease. Academic Press. San Diago*. 25-62.

Kraft, K. 1997. Artichoke leaf extract. Recent findings reflecting effects on lipid metabolism, liver and gastrointestinal tracts. *Phytomedicine*. 4: 369-378.

Kutlu, M., Naziroglu, M., Simsek, H., Yilmaz, T., Kukner, S. A. 2005. Moderate exercise combined with dietary vitamins C and E counteracts oxidative stress in the kidney and lens of streptozotocin-induced diabetic-rat. *Int J Vitam Nutr Res*. (1):71-80.

Kuyvenhoven, J.P., Meinders, A.E. 1999. Oxidative stress and diabetes mellitus. Pathogenesis of long term complications. *Eur J Inter Med*. (10) : 9-19.

Lasserre, B., Kaiser, R., Chanh, P.H., Ifansyah, N., Gleye, J., Moulis, C. 1983. Effects on rats of aqueous extracts of plants used in folk medicine as antihypertensive agents. *Naturwissenschaften*. 70(2): 95-6.

Lee, O.H., Lee, B.Y. 2010. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresour Technol*. 101(10): 3751-4.

Leopold, J.A., Cap, A., Scribner, A. W., Stanton, R. C. ve Loscalzo, J. 2001. Glucose-6- phosphate dehydrogenase deficiency promotes endothelial oxidant stress and decreases endothelial nitric oxide bioavailability. *FASEB J*. (15): 1771-3.

Mariangela Rondanelli, Annalisa Opizzi, Milena Faliva, Patrizio Sala, Simone Perna, Antonella Riva, Paolo Morazzoni, Ezio Bombardelli and Attilio Giacosa. 2013. Metabolic Management in Overweight Subjects with Naive Impaired Fasting Glycaemia by Means of a Highly Standardized Extract From *Cynara scolymus*: A Double-blind, Placebocontrolled, Randomized Clinical Trial. *Phytotherapy Research*. DOI: 10.1002/ptr.4950.

Martino, V., Caffini, N., Phillipson, J. D., Lappa A., Tchernitchin A., Ferraro G., Debenedetti S., Schilcher H., Acevedo C. 1999. Identification and characterization of antimicrobial components in leaf extracts of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Acta Horti*. 501, 111-114.

Meriele, A., Zan Alexandre, B., Ferraz, Marc, F., Richter, Jaqueline N., Picada, Heloisa H., R, de Andrade., Mauricio, Lehmann, Rafael R, Dihl, Emilene, Nunes.,

Juliane, Semedo., and Juliana Da Silva. 2013. *In Vivo* Genotoxicity Evaluation of an Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Aqueous Extract. *Institute of Food Technologists*. DOI: 10.1111/1750-3841.12034.

McCord, J.M., Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 244, pp. 6049-6055.

Mcdougall, B., King P. J., Wu, B. W., Hostomsky, Z., Manfred, G., Robinsaon, W. E. Jr. 1998. Dicafeoylquinic acid and dicafeoyltartaric acid are selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42, 140-146.

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

Mullarkey, C.J., Edelstein, D., Brownlee, M., 1990. Free radical generation by early glycation products: A mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 173(3): 932- 939.

Nazni, P., Poongodi, Vijayakumar, T., Alagianambi, P., Amirthaveni, M. 2006. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of *Cynara scolymus* among selected Type 2 diabetic individuals. *Pak J Nutr.* 5: 147–151.

Noyan A. (1995). Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Meteksan A.S, Ankara.

Omar, S.H. 2010. Oleuropein in Olive its Pharmacological Effects. *Scientia Pharmaceutica*, 78: 133-154.

Pereira, J.A., Pereira, A.P., Ferreira, I.C., Valentao, P., Andrade, P.B., Seabra, R., et al. 2006. Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential and antimicrobial activity. *J Agric Food Chem.*54(22): 8425-31

Rice-evans, C.A., Diplock, A.T., Symons, M.C.R. 1991. Techniques in free radicals research. *Elsevier*, Amsterdam, vol 22.

Sabarı, D., Y. Dnesh, N. Rajiv ve D. Nibhiti. 2002. Interrelationship between lipid peroxidation, ascorbic acid and superoxide dismutase in coronary artery disease. *Curr Sci.* 83 (4): 1-4.

Sato, H., Genet, C., Strehle, A., Thomas, C., Lobstein, A., Wagner, A., et al. 2007. Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Commun.* 362(4):793-8.

Sies, H. 1997. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Experimental Physiology*. Vol. 82, pp. 291-295.

Somova, L.I., Shode, F.O., Ramnanan, P., Nadar, A. 2003. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *Africana* leaves. *J Ethnopharmacol.* 84(2-3): 299-305.

Sonnante G., D'Amore R., Blanco E., Pierri C L., Palma M.D., Luo L., Tucci M., Martin C., 2010. Novel Hydroxycinnamoyl-Coenzyme A Quinate Transferase Genes from Artichoke Are Involved in the Synthesis of Chlorogenic Acid. *Plant Physiology* Vol. 153, pp. 1224–1238.

Sorg, O. 2004. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes Rendus Biologies*, Vol. 327, pp. 649-662.

Southorn, P.A., Powis, G.1988. Free radicals in medicine. *Chemical nature and biologic reaction, Mayo Clin Proc.* (63): 381 –9.

Susalit, E., Agus, N., Effendi, I., Tjandrawinata, R.R., Nofiarny, D., Perrinjaquet-Moccetti, T., et al. 2011. Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: Comparison with Captopril. *Phytomedicine.* 18(4): 251-8

Szaleczky E., Prechl J., Feher J., Somogyi A.,1999. Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus-a rational approach. *Postgrad Med J.* 75:13-17.

Tan, H.W., Tuck, K.L., Stupans, I., Hayball, P.J. 2003. Simultaneous determination of oleuropein and hydroxytyrosol in rat plasma using liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 785(1): 187-91.

Tas S, Celikler S, Ziyank-Ayvalik S, et al. 2011. *Ulva rigida* improves carbohydrate metabolism, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct.* 29(2):108-113.

Tas, S., Sarandol, E., Ziyank-Ayvalik, S., et al. 2006. Vanadyl sulfate treatment improves oxidative stress and increases serum paraoxonase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Res.* 26: 670-676.

Tas S, Sarandol E, Ziyank S, et al. 2005 Effects of green tea on serum paraoxonase/arylesterase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Res.* 25: 1061-1074.

Tian, W. N., Braunstein, L. D., Apse, K., Pang, K., Rose, M., Tian, X., ve Stanton, R. C. 1999. Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in cell death. *Am J Physiol.* 276 (5): 1121-31

Tiedge, M., Lortz, S., Drinkgern, J., Lenzen, S.1997. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes* ;46: 1733-1740.

- Toyokuni, S., Okamoto, K., Yodoi, J. and Hiai, H. 1995.** Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Letters*, Vol. 358, pp. 1-3.
- Visioli, F., Galli, C., Galli, G., Caruso, D. 2002.** Biological activities and metabolic fate of olive oil phenols. *Eur J Lipid Sci Technol.* (104) : 677–684.
- Vinik, A.I., Jenkins, D.J. 1998.** Dietary fiber in management of diabetes. *Diab Care.* 11: 160–173.
- Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P. and Feldman, E.L. 2004.** Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine Reviews.* Vol. 25, pp. 612-628.
- Uysal, S., Akyol, S., Hasgöl, R., Armutçu, F., Yiğitoğlu, M.R. 2011.** Çok Yönlü Bir Enzim: Paraoksonaz. *Yeni Tıp Dergisi.*, 28 (3) : 136-141.
- Yanbeyi, S. 1999.** Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. *Doktora Tezi*, Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Yamagishi S.I., Edelstein, D., Du XL, et al. 2001.** Hyperglycemia potentiates collagen-induced platelet activation through mitochondrial superoxide overproduction. *Diabetes.* 50(6):1491-1494.
- Yenigün, M., Altuntaş, Y. 2001.** Her yönüyle diabetes mellitus. Nobel kitap evleri ltd.şti, İstanbul, 52-57-936.
- Yu, B. P. 1994.** Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* (74) :139-162.
- Young, I. S., Trimble, E. R. 1991.** Measurement of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *Ann Clin Biochem.* 28: 504-508.
- Wagenbreth D., 1996.** Evaluation of artichoke cultivars for growing and pharmaceutical use. *Beitr. Zuchtungsforsch.* 2, 400-403.
- Wang, M., Simon, E.J., Aviles I.F., He, K., Zheng, Q., Tadmor, Y. 2003.** Analysis of Antioxidative Phenolic Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.). *J. Agric. Food Chem.* 51: 601-608 601
- Wegner, M., Pioruńska-Stolzmann, M., Araszkiwicz, A., et al. 2011.** Evaluation of paraoxonase 1 arylesterase activity and lipid peroxide levels in patients with type 1 diabetes. *Pol Arch Med Wewn.* 121(12): 448-454.

West, I.C. 2000. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.* (17):171-80.

Wolff, S.P., Dean, R.T., 1987. Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of autoxidative glycosylation in diabetes. *Biochem J.* (245):243-50.

Wainstein, J., Ganz, T., Boaz, M., Bar Dayan, Y., Dolev, E., Kerem, Z., Madar, Z. 2012. Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *J Med Food.* (7):605 -10.

Winyard, P., Lunec, J., Brailsford, S., Blake, D. 1984. Action of free radicalgenerating systems upon the biological and immunological properties of Caeruloplasmin. *Int.J.Bioche.* 46,1273-1278.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Rüveyde KÖKTENTÜRK
Doęum Yeri ve Tarihi : Kınık/İZMİR 16.03.1987
Yabancı Dili : İNGİLİZCE
Eęitim Durumu (Kurum ve Yıl)
Lise : Soma Linyit Lisesi (MANİSA) 2001-2004
Lisans : Gazi Osman PaŐa Üniversitesi
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi
ÇalıŐtıęı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Özel Algan Fenbilimleri Dershanesi 2013-2014
İletiŐim (e-posta) : ruveyde.koktenturk@gmail.com

Yayınlar : Rüveyde KÖKTENTÜRK, Murat YALÇIN,
Kardiyovasküler Düzenlemede Nükleus Traktus Solitarius'un Rolü, Uludag Univ. J.
Fac. Vet. Med., 30 , 1: 53-58, 2011.