

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(DOKTORA TEZİ)

**DENEYSEL DİYABETİK NÖROPATİDE ROL OYNAYAN
OKSİDATİF HASARIN İŞİTSEL UYARILMIŞ
POTANSİYELLER İLE FENOLİK BİLEŞİKLERİN
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

AYCAN BAŞ

**DANIŞMAN
PROF. DR. İŞİL ALBENİZ**

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
BİYOFİZİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı Biyofizik Programında Doktora öğrencisi Aycan BAŞ tarafından Prof. Dr. Işıl ALBENİZ'in danışmanlığında hazırlanan “ DeneySEL Diyabetik Nöropatide Rol Oynayan Oksidatif Hasarın İşitsel Uyarılmış Potansiyeller İle Fenolik Bileşiklerin Etkisinin Değerlendirilmesi ” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 29 /11 /2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
Prof.Dr.Muhammet BEKTAŞ
İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Jüri-Danışman
Prof.Dr.Işıl ALBENİZ
İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Jüri
Prof.Dr.Hüsnüye BİRMAN
İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Jüri
Prof.Dr.Derviş ÖZÇELİK
İ.Ü.Cerrahpaşa-CTE Tıp Fak.
Biyofizik Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Jüri
Prof.Dr.Yunus KARAKOÇ
Sağlık Bilimleri Ün.Tıp Fak.
Biyofizik Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Aycan BAŞ



İTHAF

Babam Mithat BAŞ'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yürütülmesinde destek olan, deneysel ve teorik çalışmalarında beni yönlendiren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Işıl ALBENİZ'e teşekkürlerimi sunarım. Doktora eğitimim boyunca beni destekleyen başta İstanbul Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Muhammet BEKTAŞ'a ve diğer öğretim üyeleri ve yardımcılara teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel diyabet modeli çalışmalarında desteklerinden dolayı Prof. Dr. Ali Osman GÜROL'a ve arkadaşım Uzman Biyolog Pınar KASAPOĞLU'na, deney hayvanlarının bakımı süresince desteklerinden dolayı İÜ ASDETAE Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı öğretim üyeleri, öğretim elemanları ve personeline destek ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Ön çalışmamda klinik ABR ile sıçanlarda kayıt alma sürecinde cihaz desteği ile Duyumed İşitme Cihazları AŞ müdürü A. Çağatay TÜRE'ye, bilgileri ile Odyometrist Gökhan UZUN'a, Uzman Odyolog Ramazan Bayram KARAKAYA'ya ve Uzman Odyolog Muhammet ESEN'e teşekkür ederim. Tezimin deneysel çalışmasında İHS marka (deneysel hayvan modülü içeren) ABR cihazı desteği ile Erişçi Elektronik müdürü Hürol ERİŞÇİ'ye, bilgi ve teknik desteğiyle Uzman Odyolog Engin DANIŞMEN'e teşekkür ederim.

Deney sonunda ABR kayıtlarının alınmasında desteğiyle manevi kardeşim Odyoloji öğrencisi Ertuğrul GENÇTÜRK'e, hayvanların sakrifikasyonu, kan ve organ örneklerinin alınması ve sonraki araştırmalarımnda desteğiyle KBB Hastalıkları Uzmanı Dr. Cem DOĞAN'a teşekkür ederim.

İstatistiksel değerlendirmeleri için İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Dr. Sevda ÖZEL'e, İÜ TET Lab Yöneticisi Dr. Öğr. Üyesi Leyla TÜRKER ŞENER'e, Mikro BT tarama ve analizlerindeki titiz çalışması için Biyomedikal Mühendisi Göker KÜLÜŞLÜ'ye teşekkür ederim.

Ayrıca bana inanan ve beni yürekten destekleyen başta can dostum Zehra UZUN olmak üzere aileme, dostlarıma ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22448

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı Diyabet: IDDM).....	5
2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet: NIDDM)	6
2.1.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM).....	8
2.2. Diabetes Mellitusa Bağlı Komplikasyonlar	9
2.2.1. Diabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları ve Patobiyolojisi	11
2.2.1.1. Polyol Yolağı Akışında Artış	11
2.2.1.2. İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE) Oluşumu	13
2.2.1.3. Protein Kinaz C Aktivasyonu.....	13
2.2.1.4. Heksozamin Yolağı Akışında Artış	14
2.3. Glikozillenmiş Hemoglobin (GHb)	16
2.4. Deneysel Tip 2 Diyabet Modeli (STZ+NA)	17
2.5. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres.....	18
2.5.1. Oksidatif Stres ve Endotel Disfonksiyon	20
2.5.2. Organizmanın Antioksidan Savunma Mekanizması.....	22
2.6. Diabetes Mellitus ve Antioksidanlar.....	23
2.7. Fenolik Bileşikler (Polifenoller)	24
2.7.1. Fenolik Asitler ve Öjenol.....	25
2.7.2. Flavanoidler ve Kuersetin	27

2.8. Ses, İşitme ve Kulak	31
2.9. İşitsel Uyarılmış Potansiyeller	39
2.9.1. İşitsel Beyin Sapı Cevapları (ABR)	44
2.9.2. Deneysel Hayvan Modelleri ve İşitmenin Değerlendirilmesi	45
2.10. Diabetes Mellitus ve İşitme Kaybı	48
2.11. Diabetes Mellitus ve Kemik Yapısı	54
3. GEREÇ VE YÖNTEM	58
3.1. GEREÇLER	58
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	58
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	58
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Denekler	59
3.2. YÖNTEMLER	59
3.2.1. Deney Grupları	59
3.2.2. Deneysel Tip 2 Diyabet Modelinin Oluşturulması	60
3.2.3. Antioksidan Madde Uygulanması	60
3.2.4. İşitsel Beyin Sapı Cevapları (ABR) Testi	61
3.2.5. Serum Örneklerinin Alınması	63
3.2.6. Serum Örneklerinden ELISA Kitleri ile GHbA1c, MDA, SOD ve GSH Düzeylerinin Belirlenmesi	64
3.2.7. Femur Örneklerinin Alınması	66
3.2.8. Mikro Bilgisayarlı Tomografi ile Femurların Taranması ve Analizi	66
3.2.9. İstatistiksel Analiz	67
4. BULGULAR	68
4.1. Ağırlık Ölçümleri	68
4.2. Kan Şekeri Ölçümleri	71
4.3. GHbA1c, MDA, SOD ve GSH ELISA Test Sonuçları	73
4.4. İşitsel Fonksiyon Testi	78
4.5. Mikro Bilgisayarlı Tomografi ile Femurların Taranması ve Analizi	98
5. TARTIŞMA	103
6. KAYNAKLAR	115
ETİK KURUL KARARI	124
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	125
ÖZGEÇMİŞ	126

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Diyabet tanı kriterleri	4
Tablo 4-1: Zamana ve gruplara göre ağırlık değerlerinin tekrarlı ölçümlerde varyans analizi.....	68
Tablo 4-2: Zamana göre ağırlık değişimindeki farklılığın ikili karşılaştırılması.....	69
Tablo 4-3: Zamana ve gruplara göre kan şekeri değerlerinin tekrarlı ölçümlerde varyans analizi.....	71
Tablo 4-4: Zamana göre kan şekeri değişimindeki farklılığın ikili karşılaştırılması.....	72
Tablo 4-5: GHbA1c - MDA - SOD - GSH değerlerinin tek yönlü varyans analizi.	73
Tablo 4-6: GHbA1c değerlerinin kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması...	74
Tablo 4-7: MDA değerlerinin kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.....	75
Tablo 4-8: SOD değerlerinin kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.	76
Tablo 4-9: GSH değerlerinin kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.	77
Tablo 4-10: Kontrol ve deney gruplarının sağ ve sol kulak 8, 16, 24 ve 32 kHz uyarılarda eşik değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.....	84
Tablo 4-11: Kontrol ve deney gruplarının sağ ve sol kulak 80 dB SPL’de click, 8, 16, 24 ve 32 kHz uyarılarda II. dalga latans değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi. .	87
Tablo 4-12: Kontrol ve deney gruplarının sağ ve sol kulak eşik değerlerinin 8, 16, 24 ve 32 kHz uyarılarda grup içi frekansa özgü eşik değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.	91
Tablo 4-13: Kontrol ve deney gruplarının sağ ve sol kulak 80 dB SPL’de 8, 16, 24 ve 32 kHz uyarılarda grup içi frekansa özgü II. dalga latans değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.	95
Tablo 4-14: Kontrol ve deney gruplarının femur KMY, Tb.BV/Tb.TV, Tb.N, Tb.Th, Ct.Th, Tb.Sp ve SMI değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.	99
Tablo 4 15: Tb.BV / Tb.Tv kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.....	102

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Aldoz redüktaz ve polyol yolu.	12
Şekil 2-2: Glikolitik yolda geri besleme.	13
Şekil 2-3: Hipergliseminin PKC aktivasyonu ile sebep olduğu patojenik süreçler.....	14
Şekil 2-4: Heksozamin yolağı.....	15
Şekil 2-5: Diabetes mellitusta oksidatif stres yolları.	16
Şekil 2-6: Organizmanın antioksidan savunması.....	22
Şekil 2-7: Fenolik bileşiklerin farklı sınıflarının kimyasal yapıları.....	24
Şekil 2-8: İnsan kulağının dış, orta ve iç kısımlarının yapısı.....	32
Şekil 2-9: Kokleanın 3 skalasının görüldüğü kokleanın enine kesiti.....	34
Şekil 2-10: Kokleanın taban dönüşünde görülen biçimiyle korti organının yapısı.	34
Şekil 2-11: Baziler membranın tonotopik organizasyonu	36
Şekil 2-12: Baziler membranın ilerleyen dalga hareketi	36
Şekil 2-13: Santral işitsel yollar.....	37
Şekil 2-14: Normal elektrokokleogram..	39
Şekil 2-15: ABR, MLR ve LLR dalga morfolojileri.	40
Şekil 2-16: Wistar sıçanlarında 80 dB SPL'de iki farklı ABR kaydı örneği	47
Şekil 2-17: Kemik kortikal ve trabeküler kısmı	54
Şekil 3-1: Deney planı.	60
Şekil 3-2: ABR test düzeneği ve sıçan elektrot yerleşimi.	61
Şekil 3-3: ABR test ekranı ve kontrol grubuna ait sağ ve sol kulak 16 kHz uyaranda eşik değeri belirleme ve oluşan dalgaların morfolojisi.	62
Şekil 3-4: Kontrol grubuna ait sol kulak click uyarı 80 dB SPL'deki ABR test kaydının SmartEp version 5.20 yazılım programında analizi.....	63
Şekil 3-5: GHbA1c standart konsantrasyon eğrisi.....	64
Şekil 3-6: MDA standart konsantrasyon eğrisi.....	65
Şekil 3-7: SOD standart konsantrasyon eğrisi.	65
Şekil 3-8: GSH standart konsantrasyon eğrisi.	65
Şekil 3-9: Mikro BT analizi için femurdan kesit alınması.....	67
Şekil 4-1: Kontrol ve deney gruplarının ağırlık takipleri.	68
Şekil 4-2: Kontrol grubunun zamana göre ağırlık değişimi.	69
Şekil 4-3: Diyabet grubunun zamana göre ağırlık değişimi.	70

Şekil 4-4: Öjenol grubunun zamana göre ağırlık değişimi.	70
Şekil 4-5: Kontrol ve deney gruplarının kan şekeri takipleri.....	71
Şekil 4-6: Öjenol grubunun zamana göre kan şekeri değişimi.	72
Şekil 4-7: Kuersetin grubunun zamana göre kan şekeri değişimi.	73
Şekil 4-8: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının serum GHbA1c düzeyleri. 75	
Şekil 4-9: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının serum MDA düzeyleri.	76
Şekil 4-10: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının serum SOD düzeyleri.....	77
Şekil 4-11: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının serum GSH düzeyleri.....	78
Şekil 4-12: Kontrol grubuna ait bir sıçanın sağ ve sol kulak 80 dB SPL’de click ve tone burst (8, 16, 24 ve 32 kHz) uyaranlardaki dalga morfolojisi.....	79
Şekil 4-13: 8 kHz tone burst uyaran ile kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarında sağ kulak eşik değeri belirleme örnekleri.	80
Şekil 4-14: 16 kHz tone burst uyaran ile kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarında sol kulak eşik değeri belirleme örnekleri.	81
Şekil 4-15: 24 kHz tone burst uyaran ile kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarında sağ kulak eşik değeri belirleme örnekleri.....	82
Şekil 4-16: 32 kHz tone burst uyaran ile kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarında sol kulak eşik değeri belirleme örnekleri.	83
Şekil 4-17: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 8 kHz eşik değerleri.	85
Şekil 4-18: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 16 kHz eşik değerleri.	85
Şekil 4-19: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 24 kHz eşik değerleri.	86
Şekil 4-20: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 32 kHz eşik değerleri.	86
Şekil 4-21: Kontrol ve diyabet grubuna ait sağ kulak 80 dB SPL click ve tone burst (8, 16, 24 ve 32 kHz) uyaranlarda ABR testi dalga morfolojisi.	88
Şekil 4-22: Öjenol ve kuersetin grubuna ait sol kulak 80 dB SPL click ve tone burst (8, 16, 24 ve 32 kHz) uyaranlarda ABR testi dalga morfolojisi.	89
Şekil 4-23: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının click II. dalga latansları. 90	
Şekil 4-24: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 16 kHz II. dalga latansları.....	90
Şekil 4-25: Kontrol grubunun 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri.	92
Şekil 4-26: Diyabet grubunun 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri.....	92
Şekil 4-27: Öjenol grubunun 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri.	93
Şekil 4-28: Kuersetin grubunun 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri....	94

Şekil 4-29: Kontrol grubunun click ve tone burst uyaranlardaki II. dalga latansları.....	96
Şekil 4-30: Diyabet grubunun click ve tone burst uyaranlardaki II. dalga latansları. ...	96
Şekil 4-31: Öjenol grubunun click ve tone burst uyaranlardaki II. dalga latansları.	97
Şekil 4-32: Kuersetin grubunun click ve tone burst uyaranlardaki II. dalga latansları. .	97
Şekil 4-33: Kontrol ve deney gruplarında sıçan femurunun 4,85 mm 'lik kesit alınan bölgesinin Mikro BT görüntüleri (A). Kontrol ve deney gruplarında sıçan femur başının Mikro BT görüntüleri (B).	98
Şekil 4-34: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının femur Tb.Th düzeyleri.	100
Şekil 4 35: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının femur SMI düzeyleri. ...	101
Şekil 4-36: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının Tb.Bv/Tb.Tv düzeyleri.	102



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABR İşitsel Beyin Sapı Cevapları (Auditory Brainstem Response)
AGE İleri Glikasyon Son Ürünleri
Ct.Th Kortikal Kalınlık
DM Diabetes Mellitus
eNOS Endotel Kaynaklı Nitrik Oksit Sentaz
GLUT Glikoz Taşıyıcı Protein
GSH İndirgenmiş Glutasyon
HbA1c Glikozillenmiş Hemoglobin
HFD Yüksek Yağlı Diyet
IDDM İnsülin Bağımlı Diabetes Mellitus
IFG Bozulmuş Açlık Glikoz
iNOS Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
KMY Kemik Mineral Yoğunluğu
MDA Malondialdehit
NA Nikotinamid
NADPH Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NIDDM İnsülin Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
NO Nitrik Oksit
ROS Reaktif Oksijen Türleri
SF Serum Fizyolojik
SMI Yapı Modeli İndeksi
SOD Süperoksit Dismutaz
STZ Streptozocin
Tb.BV/Tb.TV Trabeküler Kemik Hacmi /Trabeküler Doku Hacmi
Tb.N Trabeküler Sayı
Tb.Sp Trabeküler Ayrılma
Tb.Th Trabeküler Kalınlık

ÖZET

BAŞ, A. (2018). Deneyisel Diyabetik Nöropatide Rol Oynayan Oksidatif Hasarın İşitsel Uyarılmış Potansiyeller İle Fenolik Bileşiklerin Etkisinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik AD. Doktora Tezi. İstanbul.

Diyabet, dokuları ve fizyolojik fonksiyonlarını moleküler ve biyokimyasal düzeylerde etkileyebilen sistemik bir hastalıktır. Birçok klinik araştırma diyabetin işitme kaybı ve kemik yapısındaki etkileri üzerine bir ilişki bulmasına rağmen, bu etkinin fizyopatolojik mekanizmaları tartışmalıdır. STZ+NA T2 DM modelindeki sıçanların kan şekeri ve ağırlık ölçümü ile GHbA1c düzeylerine bakılarak diyabetik nöropatisi değerlendirilmiştir. Diyabet sonucu işitme fonksiyonu ABR testi ile değerlendirilmiştir. Diyabetin kemik yapısına etkisi Mikro BT aracılığıyla analiz edilmiştir. Diyabet sonucu kandaki oksidatif stres düzeyinde, öjenolün ve kuersetinin antioksidan etkisi MDA, SOD ve GSH ELISA kitleri aracılığıyla belirlenmiştir. ABR’de tone burst uyarılar (8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında) kullanılarak kontrol ve deney gruplarına ait işitme eşikleri tüm frekanslarda birlikte değerlendirildiğinde, diyabetik grupta kontrol grubuna göre eşikler artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Öjenol ve kuersetin gruplarında yüksek frekans uyarılarla (24 ve 32 kHz) elde edilen eşik değerlerinde diyabet grubuna göre anlamlı bir düşüş mevcuttur ($p<0,05$). Femur Tb.Th, Tb.BV/Tb.Tv ve SMI değerlerine bakıldığında ise kontrol, kuersetin ve öjenol grupları diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermiştir ($p<0,05$). Deney sonunda serum GHbA1c, MDA, GSH ve SOD düzeylerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre değişmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Öjenol ve kuersetin uygulanan grupların MDA, SOD ve GSH düzeylerinde diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur ($p<0,05$). Bulgularımız; deneyel STZ+NA T2 DM modelinde diyabetin oksidatif strese bağlı komplikasyonu sonucu, öjenol ve kuersetinin işitme kaybı ve kemik yapısının değişimi üzerine antioksidan ve antidiyabetik etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, oksidatif stres, antioksidan, işitme kaybı, kemik

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22448.

ABSTRACT

BAŞ, A. (2018). Evaluation of the Effect of Phenolic Compounds on Auditory Evoked Potentials with Oxidative Damage in Experimental Diabetic Neuropathy. İstanbul University, Institute of Health Sciences, Biophysics. Doctoral thesis. İstanbul.

Diabetes is a systemic disease that can affect tissues and physiological functions at the molecular and biochemical levels. Although many clinical trials have found an association between diabetes and its effects on hearing loss and bone structure, the pathophysiological mechanisms of this effect are controversial. Diabetic neuropathy was evaluated by looking at GHbA1c levels and blood glucose and weight measurement of the STZ+NA T2 DM rats. Function of the hearing related of diabetes was assessed by ABR test. The effect of diabetes on bone structure was analyzed by means of Micro CT. At the level of oxidative stress in blood, the antioxidant effect of eugenol and quercetin was determined by MDA, SOD and GSH ELISA kits. In the ABR, when the tone burst stimulus (at 8, 16, 24 and 32 kHz frequencies) were evaluated together with the hearing thresholds of the control and experimental groups in all frequencies, the thresholds increased in the diabetic group compared to the control group and this increase was statistically significant ($p < 0.001$). In the eugenol and quercetin groups, there was a significant decrease in the threshold values obtained with high frequency stimulus (24 and 32 kHz) compared to the diabetic group ($p < 0.05$). When the femur Tb.Th, Tb.BV/Tb.Tv and SMI values were compared, the control, quercetin and eugenol groups showed a statistically significant difference compared to the diabetic group ($p < 0.05$). Serum GHbA1c, MDA, GSH and SOD levels were significantly different from the control group ($p < 0.05$). MDA, SOD and GSH levels of eugenol and quercetin groups were statistically significant compared to diabetic groups ($p < 0.05$). In our study, the experimental STZ+NA T2 DM model showed that eugenol and quercetin had antioxidant and antidiabetic effects on the loss of hearing and bone structure due to oxidative stress related complications of diabetes.

Key Words: Diabetes, oxidative stress, antioxidant, hearing loss, bone

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 22448.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM); insülinin mutlak veya rölatif olarak yetersiz sekresyonu, etkisizliği ya da molekülündeki yapısal bozukluklar sonucu gelişen hiperglisemi ve glukagon yüksekliği ile karakterize; karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarının bozukluğu ile seyreden, akut metabolik ve kronik dejeneratif komplikasyonlara neden olan bir sendromdur. DM sonuçta enerji metabolizmasının bir bozukluğu olup; mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve vücut dokularında glikolize ürünlerin birikimine doğru uzanan metabolik işleyişteki bozuklukları kapsamaktadır (1, 2, 15).

DM'ye bağlı hiperglisemi, endotel disfonksiyonu ve periferik nöropati dahil olmak üzere vasküler komplikasyonlara katkıda bulunan oksidatif stres ve proenflamatuvar değişikliklere neden olmaktadır.

Hem deneysel hem de klinik çalışmalarda artan kanıtlar, oksidatif stresin diyabetik doku hasarının patogenezinde ve progresyonunda rol oynadığını göstermektedir. Hiperglisemi sonucu oksidatif stresin antioksidanlar tarafından inhibisyonu, diyabet komplikasyonlarının tam olarak ortaya konulmasından sonra tamamen tersine çevrilemese de, doku hasarının gelişmesinden önce ilerlemeyi yavaşlatıcı veya önleyici tedavi ile komplikasyonların başlamasını önlediği kanıtlanmıştır.

Öjenol, birçok farmakolojik aktiviteye sahip bir fenilpropanoid olup antihiperglisemik aktivitesi henüz tam olarak araştırılmamıştır. Obeziteye bağlı diyabetik hayvanlarda yapılan bir çalışmada öjenolün glikoz homeostazında rolü olduğu öne sürülmüştür (95). Diyabetik sıçanlarda öjenolün besin takviyesiyle tedavisine yönelik yapılan bir başka araştırma sonucuna göre, antioksidan ve antienflamatuvar özelliklerine bağlı olarak sinir ve vasküler endotel fonksiyonunda yararlı etki gösterdiği bulunmuştur (24). Kuersetin, güçlü antienflamatuvar kapasite ile antifibrotik, antikoagulatif, antiaterojenik, antihipertansif ve antidiyabetik özelliklere sahiptir (40).

Birçok klinik araştırma diyabetin işitme kaybı ile diyabetin kemik yapısındaki etkileri üzerine bir ilişki bulmasına rağmen, bu etkinin fizyopatolojik mekanizmaları tartışmalıdır. Diyabetik komplikasyonların, diyabete bağlı oksidatif stres ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde diyabetik hastalarda ki işitme ve kemik kaybının da oksidatif stres ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

STZ+NA ile indüklenmiş deneysel T2 DM modeli oluşturulmuş sıçanlarda, diyabetik nöropati oluştuktan sonra fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinden faydalanarak diyabet komplikasyonu olarak oluşabilecek işitme kaybının ve femoral kemik yapısındaki değişimin araştırılması amaçlanmıştır.

Kontrol ve deney gruplarında diyabetik nöropati, kan şekeri ölçümü, ağırlık ölçümü ve GHbA1c düzeylerinin belirlenmesi ile değerlendirilmiştir. Diyabet sonucu işitme fonksiyonu İşitsel Beyin Sapı Cevapları (ABR) testi ile saptanmıştır. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro BT) aracılığıyla femurların analizinde ise diyabetin kemik yapısı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Diyabet sonucu oluşan oksidatif stresin etkileri, malondialdehit (MDA) ile öjenolün ve kuersetinin antioksidan etkisi süperoksit dismutaz (SOD) ve redükte glutatyon (GSH) seviyeleri ile kontrol ve deney gruplarında değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) daha basit şekilde diyabet olarak adlandırılmakta ve kanda glikoz yani şeker düzeylerinin yükselmesiyle ortaya çıkan kronik bir durumdur. Vücut insülin hormonunu ya hiç ya da yeterince üretemez veya insülini etkili bir şekilde kullanamaz. İnsülin, pankreas bezinde üretilen temel bir hormondur ve glikozu kan dolaşımıyla vücut hücrelerine taşır. İnsülin eksikliği veya hücrelerin insüline cevap verememesi, diyabetin belirleyici özelliği olan yüksek kan glikoz düzeylerine yani hiperglisemiye yol açar. Hiperglisemi uzun süre kontrolsüz seyrederse çeşitli organlarda hasara neden olur. Kardiyovasküler hastalıklar, nöropati, nefropati ve retinopati gibi komplikasyonların gelişmesine yol açabilir. Eğer diyabet kontrol altında ise bu ciddi komplikasyonlar gecikebilir veya önlenabilir (1, 2).

Diyabetin sınıflandırılması ve teşhisi karmaşık olup uzun yıllar boyunca pek çok konsültasyon, tartışma ve revizyona konu olmuştur, ancak şu anda yaygın olarak üç ana tip diyabet olduğu ve bunların Tip 1 Diabetes Mellitus (T1 DM), Tip 2 Diabetes Mellitus (T2 DM) ve Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) olduğu kabul edilmektedir. Monogenik diyabet ve ikincil diyabet içeren daha az yaygın olan bazı diyabet türleri de vardır. Monogenik diyabet, T1 DM ve T2 DM’de görülen çoklu genlerin ve çevresel faktörlerin etkisinden farklı olup, otozomal dominant bir gende tek bir genetik mutasyonun sonucudur. Yenidoğan Diabetes Mellitus (NDM) ve gençlerde erişkin başlangıçlı diyabet şeklinde seyreden (MODY) monogenik diyabet türlerindendir. Tüm diyabet vakalarının yaklaşık % 1-5’ i monogenik diyabetlerden kaynaklanmaktadır. İkincil diyabet, hormon bozukluklarından (örneğin Cushing hastalığı veya akromegali), pankreas hastalıklarından (örneğin pankreatit) veya ilaçların (örneğin kortikosteroidler) etkilerinden yani başka hastalıkların bir komplikasyonu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu komplikasyonlar erken ölüm ve uzun süreli diyabetin sosyal ve ekonomik yükünün çoğunu oluşturmaktadır (1, 2).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) ’nun yayınladığı Diyabet Atlası’na göre 2017 yılı itibariyle 20-79 yaş arası dünya genelinde toplam 425 milyon kişinin diyabetli olduğunu 2045 yılında ise bu rakamın % 48 artarak 629 milyona ulaşacağını bildirmektedir. 20-64 yaş arasında diyabet tanısı alan 326,5 milyon, 65-99 yaş arasında

ise 122,8 milyon kişinin olduğu 2045 yılında ise çalışma çağındaki diyabetli (20-64 yaş) insan sayısının 438,2 milyona çıkması ve 65-99 yaş arası diyabetli kişilerin sayısının 253,4 milyona çıkması beklenmektedir. Türkiye’de ise 2017 yılı itibarıyla 20-79 yaş arası nüfusun % 12,8’i diyabet, % 7,4’ü bozulmuş glikoz toleransı (IGT) tanılı olup, 2045 yılında bu oranların % 16,5 diyabet, % 8 IGT şeklinde artacağı öngörülmektedir (3).

Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması I-II (TURDEP I ve II) çalışmalarına göre; 1998 yılında Türkiye’de diyabet prevalansı % 7,2 iken 2010 yılında % 13,7’ye yükselmiştir (4).

Diyabet teşhisi için tanı ölçütleri tartışılmış ve güncellenmiştir. Ancak Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) mevcut kriterleri, diyabetin kandaki glikoz düzeylerinin yükselmesiyle teşhis edildiğini belirtmektedir (Tablo 2-1).

Tablo 2-1: Diyabet tanı kriterleri (5, 6)

Aşağıdaki kriterlerin bir veya daha fazlası sağlandığında <u>diyabet tanısı</u> konulmalı	Aşağıdaki kriterlerin her ikisi de sağlandığında <u>bozulmuş glikoz toleransı (IGT) tanısı</u> konulmalı	Aşağıdaki kriterlerin her ikisi de sağlandığında <u>bozulmuş açlık glikoz (IFG) tanısı</u> konulmalı
Açlık plazma glikoz $\geq 7,0$ mmol/L (126 mg/dL)	Açlık plazma glikoz $< 7,0$ mmol/L (126 mg/dL)	Açlık plazma glikoz 6,1-6,9 mmol/L (110-125 mg/dL)
veya	ve	ve
75g oral glikoz yüklemesini takiben iki saatlik plazma glikoz $\geq 11,1$ mmol/L (200 mg/dL)	75g oral glikoz yüklemesini takiben iki saatlik plazma glikoz $\geq 7,8 < 11,1$ mmol/L ($\geq 140 < 200$ mg/dL)	75g oral glikoz yüklemesini takiben iki saatlik plazma glikoz $< 7,8$ mmol/L (140 mg/dL)
veya		
Rastgele ölçülen glikoz $> 11,1$ mmol/L (200 mg/dL) veya HbA1c ≥ 48 mmol/mol (% 6,5)		

2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı Diyabet: IDDM)

Tip 1 Diabetes Mellitus (T1 DM) pankreas bezindeki adacıklarda insülin üreten beta hücrelerine, vücudun bağışıklık sisteminin saldırdığı bir otoimmün reaksiyondan kaynaklanır. İnsülinin göreceli veya mutlak bir eksikliğine sebep olduğundan vücut çok az bile insülin üretemez. Bu yıkıcı sürecin nedenleri tam olarak anlaşılamasada genetik yatkınlık ve çevresel tetikleyiciler olarak viral enfeksiyonlar, toksinler veya bazı beslenme faktörlerinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Genetik olarak diyabet gelişme yatkınlığı olanların beta hücre kitlesi doğumda normaldir, yıllar içinde gelişen otoimmün yıkıma paralel olarak azalmaya başlar, insülin salgısı giderek düşer ama bu evrede glikoz toleransı henüz bozulmamıştır. Beta hücrelerinin yaklaşık % 80'i kayboluncaya kadar diyabetin klinik belirtileri ortaya çıkmamaktadır (1, 2).

T1 DM her yaşta gelişebilir ancak en sık çocuklarda ve adolesanlarda ortaya çıkar. T1 DM'li bireyler kan glikoz düzeylerini korumak için günde belirli aralıklarla insülin enjeksiyonlarına ihtiyaç duyarlar ve insülin olmadan hayatta kalamazlar. T1 DM'li bireyler düzenli kan glikozu takibi sonucunda, insülin tedavisini günlük uygun dozlarda uyguladıklarında ve sağlıklı beslendiklerinde diyabet ile ilişkili komplikasyonların çoğunu önleyerek veya geciktirerek sağlıklı bir hayat yaşayabilirler. T1 DM yüksek kan glikoz düzeyi ile birlikte anormal susama ve ağız kuruluğu, sık idrara çıkma, enerji eksikliği, yorgunluk, sürekli açlık, ani kilo kaybı, yatak ıslatma ve bulanık görüş gibi semptomlarla teşhis edilir. T1 DM'nin başlangıcı aniden ve şiddetli olur. Bununla birlikte diyabet tipinin teşhis edilmesi bazen zordur. T1 DM veya T2 DM ya da diğer diyabet biçimleri arasında ayırım yapmak için ek testler gerekebilir. T1 DM insidansı dünya çapında artmaktadır ancak ülkelere göre büyük farklılıklar göstermektedir. Bunun nedenleri belirsizdir, genetik ve çevresel faktörler arasında bir etkileşim olduğundan şüphelenilmektedir (1, 2).

İnsülin, glikozun hücre içine girişini sağlar, glikojen depolanmasını artırır ve hepatik glikoz çıkışını baskılar, ayrıca protein ve yağ dokularının yıkımını inhibe eder (7). Tip 1 DM'li tüm hastalar insülin tedavisi gerektirmektedir. Tip 1 diyabette 24 saat boyunca insülin gereksiniminin karşılanması zordur. Çoklu doz insülin tedavisi ve glikoz sensörü ile birlikte uygulanan insülin pompası uygulaması en etkili insülin tedavi rejimleridir (1, 2, 7).

2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet: NIDDM)

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2 DM) toplam vakaların yaklaşık % 90'ını temsil eden diyabetin en sık görülen tipidir. T2 DM'de görülen hiperglisemi, yetersiz insülin üretiminin ve insülin direnci olarak tanımlanan vücudun insüline tam yanıt verememesinin sonucudur. İnsülin direnci durumunda, insülin etkisizleşir dolayısıyla hücrelere glikoz ulaşamaz ve kandaki glikoz düzeyleri artar. Bu nedenle başlangıçta insülin üretiminde bir artış olmasına karşın, zaman içinde nispeten yetersiz bir insülin üretimi durumu gelişebilir ve T2 DM'ye neden olabilir (1).

T2 DM'nin belirgin bir özelliği olan insülin direnci, periferik hedef dokularda (özellikle kas ve karaciğer) insülinin etkisinin azalmasıdır. İnsülin etkisine direnç olması insüline duyarlı dokularda glikoz kullanımını azaltır ve karaciğerde glikoz yapımını arttırır, her iki durumda da diyabetin tipik özelliği olan hiperglisemiye katkıda bulunur. İnsülin salgısı ve insülin direnci birbiriyle yakın ilişkilidir. T2 DM'de başlangıçta insülin direncini yenerek normal glikoz toleransını devam ettirebilmek için insülin salgısı artar. Önceleri insülin salgısındaki bozukluk minimal düzeydedir ve selektif olarak glikoz aracılı insülin salgısını ilgilendirir arginin gibi diğer glikoz dışı uyaranlara insülin cevabı henüz devam etmektedir. Zamanla insülin salgısındaki azalma ilerler ve belirgin bir yetersizlik görülür (2). Kronik insülin direnci hiperglisemiye yol açar. Beta hücreleri insülin direncinin neden olduğu metabolik talebe cevap olarak yeterli insülini salgılayamazsa T2 DM oluşur. Beta hücresindeki bu başarısızlık, edinilmiş sekretuar disfonksiyona ve/veya beta hücre kitlesindeki azalmaya bağlı olabilir. Tüm T2 DM'li hastalarda beta hücrelerinin insülin üretme veya salgılama yeteneği vardır.

T2 DM genetik ve çevresel etkenlere cevap olarak gelişen heterojen bir hastalıktır. T2 DM'nin temelinde insülin direnci ve insülin salgısının anormalliği bulunmaktadır. Primer defekt konusunda tartışmalar devam etmekle birlikte, çoğu çalışmaya göre T2 DM'de insülin direnci insülin salgısı defektinden önce ortaya çıkmaktadır. T2 DM'de güçlü bir genetik etken söz konusudur. Bu duruma neden olan majör genler henüz tespit edilmemiş olmakla birlikte, hastalığın poligenik ve multifaktöryel olduğu açıktır. Güçlü bir genetik bileşen tanınmasına rağmen, genotip sadece bireyin çevresel etkilere ve yaşam tarzı faktörlerine daha fazla veya daha az yatkın hale gelmesi için gerekli koşulları ortaya koymaktadır. T2 DM'de 3 tür

fizyopatolojik anormallik söz konusudur; 1- insülin salgısında azalma, 2- periferik insülin direnci, 3-karaciğerde aşırı glikoz yapımı (2).

T2 DM çoğunlukla yaşlı erişkinlerde görülür ancak artan obezite, fiziksel hareketsizlik ve kötü beslenme nedeniyle çocuklarda, ergenlerde ve genç erişkinlerde giderek daha fazla görülmektedir. Aşırı susama ve ağız kuruluğu, sık ve bol idrara çıkma, enerji eksikliği, aşırı yorgunluk, ellerde ve ayaklarda karıncalanma veya uyuşma, ciltte tekrarlayan mantar enfeksiyonları, yavaş iyileşen yaralar ve bulanık görüş T2 DM'nin semptomlarıdır. Bu semptomlar T1 DM ile de benzerdir. T2 DM'nin başlangıcı genellikle yavaştır ve başlangıç zamanının belirlenmesi T1 DM'ye göre zordur. Genellikle uzun tanı süresi vardır ve popülasyondaki T2 DM vakalarının üçte bir ila bir buçuk kadarı yıllarca herhangi bir semptom göstermediklerinden teşhis edilemeyebilir. Uzun süre tanı konulup tedaviye geçilmezse, kronik hipergliseminin komplikasyonları gelişebilir. T2 DM'li bazı hastalarda ilk olarak ayak ülseri, görme bozukluğu, böbrek yetmezliği ve enfeksiyon gibi hiperglisemiye bağlı komplikasyonlar ortaya çıktığında ancak tanısı konulabilmektedir. Hastalar başlangıçta ve hayat boyu yaşamak için sıklıkla insülin tedavisine gereksinim duymazlar. Bu tip diyabete özgü etyoloji bilinmese de beta hücrelerinin otoimmün yıkımı yoktur.

T2 DM'nin nedenleri de tam olarak anlaşılamamıştır ancak aşırı kilo ve obezite ile yaş, etnik köken ve aile öyküsünün etkisinin olduğu bilinmektedir. Bazı önemli değiştirilebilir risk faktörleri ise şunlardır: Aşırı yağlanma (obezite), kötü beslenme, fiziksel hareketsizlik ve sigara kullanımı prediyabet veya bozulmuş glikoz toleransı (IGT) ve hamilelik sırasında doğmamış çocuğun yüksek kan şekere maruz kalması (GDM) (1,2). Ayrıca şekerle tatlandırılmış içeceklerin yüksek tüketimi ile T2 DM riski arasında bir ilişki olduğu da yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (8, 9).

IGT'de, glikoz seviyesi normalden yüksektir ancak diyabet tanısı için yeterince yüksek değildir. Bozulmuş açlık glikoz (IFG) tanısında ise açlık glikoz seviyesi normalden yüksektir ancak diyabet tanısı için yeterince yüksek değildir. IGT veya IFG tanısı olanlara prediyabetli kişiler denir ve T2 DM geliştirme riski yüksektir. Prediyabet, ayrıca insülin duyarlılığının azalması veya insülin direncinin artması ile karakterizedir. Prediyabetteki risk faktörleri T2 DM ile aynıdır: Aşırı kilo, ileri yaş, kötü beslenme veya yetersiz beslenme, fiziksel aktivite eksikliği, sigara ve aile öyküsü. Etkenlerin ortadan kalkması ile diyabette iyileşme görülmektedir.

Beslenme ile ilgili diğer risk faktörleri arasında meyve ve sebzelerin, kepekli tahıllar ve lifli gıdaların yetersiz alımı ve doymuş yağ tüketiminin artması yer almaktadır. Yapılan son araştırmalara göre Akdeniz tipi diyet düzeni ile besin maddelerinden yeterli ve dengeli ölçüde almanın önemli olduğu vurgulanmaktadır. T2 DM'nin tedavisi sağlıklı bir diyetin benimsenmesini, fiziksel aktivitenin artmasını, sigara bırakmayı ve vücut kitle indeksinin olması gerektiği şekilde korunmasını içeren sağlıklı bir yaşam tarzı ile mümkündür.

Yaşam tarzını değiştirmeye yönelik girişimler kan glikoz seviyelerini kontrol etmek için yeterli değilse, genellikle tercih edilen metformin oral tedavisi ile hiperglisemi kontrol altına alınır. Tek bir antidiyabetik ilaçla tedavi yeterli değilse, bir dizi kombinasyon dahil olmak üzere terapi seçenekleri mevcuttur: Sulfonilüreler, tiyazolidinedionlar, DPP-4 inhibitörleri, SGLT2 inhibitörleri, GLP-1 analogları ve akarboz. Oral hipoglisemik ilaçlar hiperglisemiyi kontrol edemediğinde, insülin enjeksiyonlarına geçilir (7).

Artan glikoz düzeylerinin kontrolünün yanı sıra kan basıncının düzenli takibi de hayati önem taşır; nefropati (böbrek hastalığı), retinopati (göz hastalığı) ve ayak ülserine yol açabilecek diyabetik komplikasyonların oluşma riskini azaltır veya geciktirir. Düzenli kontroller ile yaşam tarzı değişikliği ve gerektiğinde ilaç kullanımıyla T2 DM'li kişilerin uzun ve sağlıklı yaşam sürdürebilmeleri mümkündür. Küresel düzeyde T2 DM prevalansı yüksektir ve yükselmeye devam etmektedir. Bu artışa yaşlanan nüfus, ekonomik gelişme ve artan şehirleşme ile daha hareketsiz yaşam tarzlarına ve obeziteye neden olan sağlıklı yiyeceklerin daha fazla tüketilmesi yol açıyor olabilir.

2.1.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)

Gebelik sırasında glikoz intoleransı oluşabilir veya var olan bozukluk ilk defa gebelikte kendini gösterebilir. Gebeliğin geç döneminde oluşan metabolik değişiklikler insülin direnci yaptığından insülin ihtiyacı artabilir hiperglisemi veya glikoz tolerans bozukluğu meydana gelebilir (2).

Gebelik sırasında görülen yüksek kan şekeri vakalarının çoğunun (% 75-90) GDM olduğu tahmin edilmektedir. Hiperglisemili hamile kadınlar, sonraki hamileliklerinde GDM geliştirmede daha yüksek risk altındadır. GDM öyküsü olan

kadınların yaklaşık yarısında doğumdan sonraki beş veya on yıl içinde T2 DM gelişmektedir. GDM'li annelerden doğan bebeklerde ayrıca yaşam boyu obezite ve T2 DM riski gelişebilmektedir. Hamilelik sırasında hiperglisemili olan kadınlar sağlıklı bir diyet, hafif egzersiz ve kan şekeri takibi yoluyla kan glikoz seviyelerini kontrol edebilirler. Bazı durumlarda insülin veya oral ilaç da reçete edilebilir (10, 11).

2.2. Diabetes Mellitusa Bağlı Komplikasyonlar

DM iyi yönetilmediğinde vücudun birçok yerinde komplikasyonlara yol açarak sık hastaneye yatış ve erken ölümle sonuçlanabilir. Diyabetli kişiler tıbbi bakım maliyetlerini arttıran, yaşam kalitesini düşüren ve yaşamı tehdit eden ciddi sağlık problemleri geliştirme riskini artırmaktadır. Kalıcı yüksek kan glikoz seviyeleri kalbi, gözleri, böbrekleri ve sinirleri etkileyerek genel vasküler hasara neden olur. DM kardiyovasküler hastalık, körlük, böbrek yetmezliği ve alt ekstremitte amputasyonunun önde gelen nedenlerinden biridir.

Diyabet komplikasyonları akut ve kronik komplikasyonlara ayrılmaktadır. Akut komplikasyonlar arasında hipoglisemi, diyabetik ketoasidoz, hiperglisemik hiperosmolar durum, hiperglisemik diyabetik koma, nöbetler veya bilinç kaybı ile enfeksiyonlar yer alır. Kronik mikrovasküler komplikasyonlar nefropati, nöropati ve retinopatidir. Kronik makrovasküler komplikasyonlar anjina (göğüs ağrısı) veya miyokard infarktüsüne yol açan koroner arter hastalığıdır, felce de yol açan periferik arter hastalığı, diyabetik ensefalopati ve diyabetik ayaktır. Diyabetik hastalarda sıklıkla görülen mikrovasküler ve hatta makrovasküler alanlarda endotel disfonksiyonu, mikrovasküler dolaşımın bozulması sonucunda periferik vasküler yetmezlik oluşmaktadır.

DM körlüğe neden olan ilk üç hastalıktan biridir. En az 15 yıllık diyabetik olguların % 2'sinde körlük ve % 10'unda ciddi görme kaybı geliştiği bilinmektedir. Diyabetik bir olguda görme kaybı ile sonuçlanabilecek en önemli göz bulguları diyabetik retinopati ve diyabetik makula ödemidir. Bunların dışında refraksiyon değişiklikleri, blefarit, keratopati, katarakt, neovasküler glokom, diyabetik papillopati, nonarteritik iskemik optik nöropati, ekstraoküler adale felçleri görülebilmektedir. DM

glokom, santral retinal ven tıkanıklığı, oküler iskemik sendrom ve santral retinal arter tıkanıklığı için de risk faktörüdür (12).

Diyabetik nefropati glomerüler bazal membran kalınlığına, mikroanevrizma oluşumuna ve mezangial nodül oluşumuna neden olur, bunların hepsi proteinüriye ve sonuçta renal yetmezliğe yansır. Yaralanma mekanizmaları ayrıca artmış polyol yolunu ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumunu içerir. Reseptörlerine bağlanan AGE'nin böbrek hasarı, fibrozis ve diyabetik nefropatiyle ilişkili inflamasyonda da rol oynadığı kanıtlanmıştır. AGE'nin bu etkileri, renin-anjiyotensin sistem aktivasyonu ile sinerjize olurken, böbrek yetmezliğine neden olan bir kısır döngüye yol açan oksidatif stresi de güçlendirir. DM'li hastalar ve özellikle nefropatisi olanlar antioksidan savunmasını azaltmışlardır. Ayrıca, AGE reseptörleri de önemli ölçüde artmıştır (13).

Hiperglisemi vücuttaki sinirlere zarar vermektedir. Nöropati, diyabetin sık karşılaşılan bir komplikasyonudur. Sinir hasarı oldukça önemli olabilir ve yaralanmaların fark edilmemesine bağlı ülserasyona, ciddi enfeksiyonlara ve bazı durumlarda amputasyona neden olabilir. Diyabetik nöropati vücuttaki sinirlerin normal aktivitelerinin bozulmasıyla otonom, motor ve duyu fonksiyonları değiştirebilir. Periferik nöropati, ekstremitelerin distal sinirlerini özellikle ayakları etkileyen en yaygın diyabetik nöropatidir. Nöropati sindirim ve idrar sorunlarının yanı sıra erektil disfonksiyona ve kardiyak otonomik disfonksiyon gibi diğer bazı problemlere de yol açabilir.

Diyabetik periferik nöropati, diyabetli hastalarda en sık karşılaşılan nöropati türüdür. Öncelikle duyu aksonların hasarına bağlı distal duyu kaybı ile karakterize, daha ciddi formlarında ise motor aksonların hasarına bağlı motor güç kaybı ile karakterizedir. En önemli risk faktörleri hipergliseminin şiddeti ve süresidir. Ayak deformitelerine, ülserlere ve amputasyona yol açtığı için önemli bir morbidite nedenidir. Diyabetik periferik nöropati T2 DM'de tanı anında, T1 DM'de tanıdan 5 yıl sonra taranmalı ve yıllık taramalarla takip edilmesi gereklidir. Periferik nöropatiden korunmada iyi glikemik kontrol ve kardiyovasküler risk faktörlerinin tedavisi önemlidir. Tedavide ise iyi glikemik kontrol, ayak bakımı ve ağrının kontrolü önemlidir (14).

2.2.1. Diabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları ve Patobiyolojisi

DM’li hastalarda hiperglisemi endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz (eNOS) üretimini ve aktivasyonunu engellemektedir. Böylece reaktif oksijen ürünleri ve süperoksit artmaktadır. Süperoksitin ürünleri vasküler fonksiyonları bozmakta, inflamasyona, trombosit agregasyonuna ve ateroskleroza neden olmaktadır. Ayrıca glikozun proteinlerle ve amino gruplar ile reaksiyonu AGE oluşmasına ve sonrasında diyabetik komplikasyonların gelişmesine neden olmaktadır.

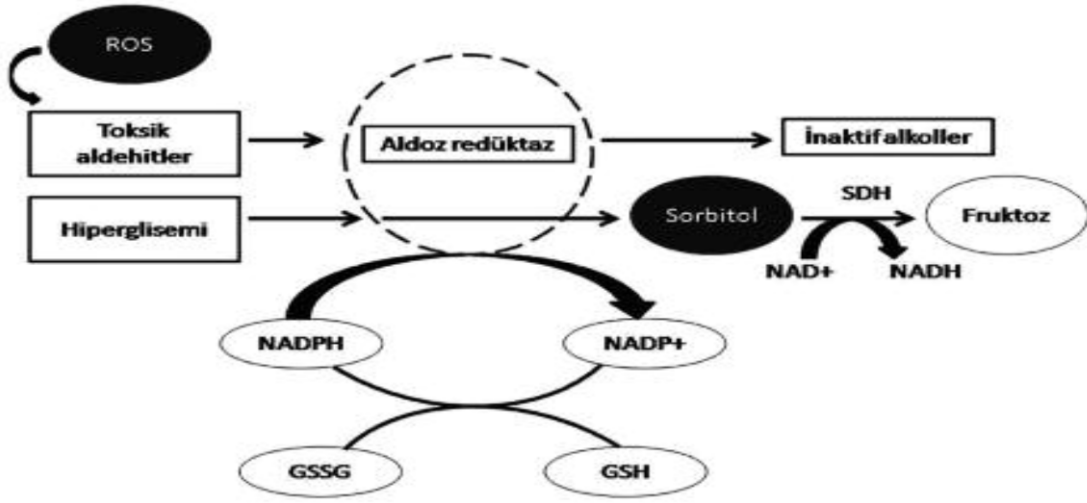
Diyabet patogenezi kadar kronik komplikasyonlarının patobiyolojisi de oldukça karmaşık ve iç içe geçmiş durumdadır. Bir yolağın işlevliği başka bir yolağı hem aynı yönde hem de ters yönde beslemektedir.

Hipergliseminin yol açtığı hasarlanma bilinen 4 temel mekanizma ile açıklanmaktadır:

1. Polyol yolağı akışında artış
2. İleri glikasyon son ürünleri (Advanced Glycation End Products - AGE) hücre içi oluşumunun artması
3. Protein kinaz C (PKC) aktivasyonu
4. Heksozamin yolağı akışında artış

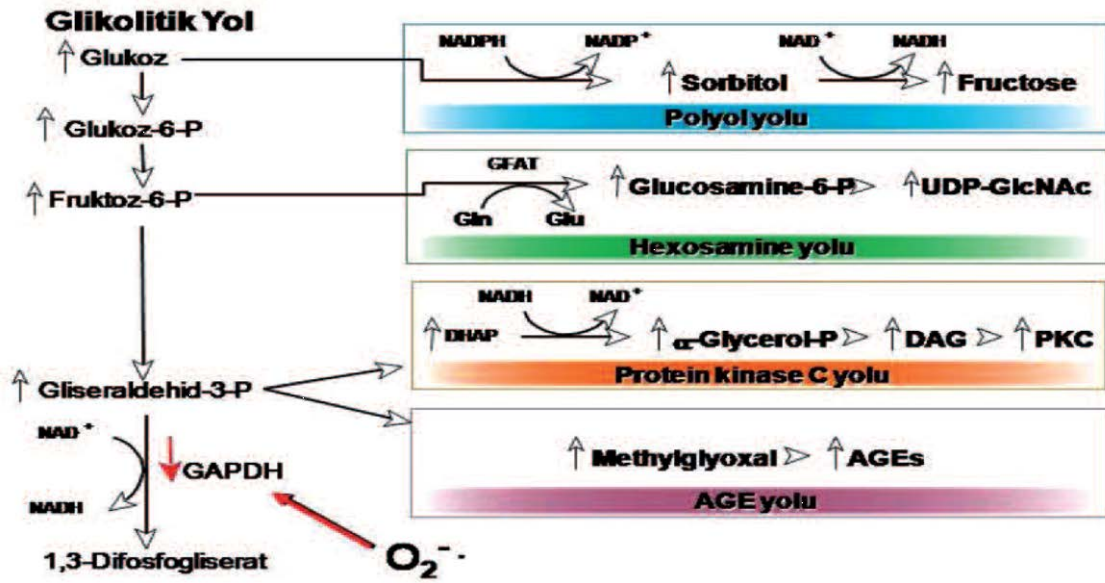
2.2.1.1. Polyol Yolağı Akışında Artış

Aldoz redüktaz, polyol yolağında sitozolik monomerik oksidoredüktaz etkili ilk enzimidir. Glikozu da içeren çeşitli karbon bileşiklerinin Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) bağımlı katalizini sağlar. Glikoz metabolizmasında, total glikoz kullanımının çok düşük yüzdesi bu yolağı kullanır. Ancak hiperglisemik ortamda, hücre içi glikoz artışı sonucu enzim sistemi harekete geçer ve NADPH’nin kofaktörlüğü sayesinde glikoz enzimatik konversiyon ile polyalkol sorbitole dönüşür. Bundan sonra ki basamak ise sorbitolden, NAD⁺’ın NADH’e indirgenmesi ve sorbitol dehidrogenaz enzimi aracılığıyla fruktoz oluşumudur (Şekil 2-1) (15).



Şekil 2-1: Aldoz redüktaz ve polyol yolu (15).

Diyabetin komplikasyon gelişiminde bu yolaktaki akımın artışı türe ve dokuya özgün olmaktadır. Aslında hiperglisemiye bağlı bu yolağın akışındaki artış sonucu ortaya çıkan sorbitolün oluşumu, sitozolik NADH/NAD oranının artışı, NADPH azalışı birçok zararlı etkileri tetiklemektedir. Bu durum öncelikle gliseraldehit- 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) enzimini inhibe ederek, trioz fosfat konsantrasyonunun da artışa yol açmaktadır. Trioz fosfat artışı hem AGEs ve diaçilgliserol ön maddesi olan metilglioksal formasyonunu hem de PKC aktivasyonunu arttırmaktadır. Endotelde hiperglisemi ile başlayan NAD^+ azalışı; DNA kırıklarının düzeltilmesinden sorumlu poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) aktivasyonu ile kendini göstermekte ve reaktif oksijen türevlerinin bu ortamda üretimindeki artışla sonuçlanmaktadır. ROS, GAPDH aktivitesini daha da azaltarak, yolakta geriye doğru trioz fosfatların artarak PKC ve AGEs yolunu beslemesine neden olmaktadır. Hipergliseminin indüklediği mitokondrial süperoksidler GAPDH aktivitesini % 66 azaltmaktadır. Ayrıca aldoz redüktazın kofaktör olarak NADPH kullanması; aynı kofaktörü kullanan glutatyon redüktaz yolağı için glutatyon azalmasına yol açmaktadır. Hiperglisemiye bağlı mitokondrial süperoksidlerin aşırı üretimi GAPDH enzim aktivitesini azaltarak, glikolitik yolda geri beslemeye bağlı komplikasyon yaratıcı bir çok yolağın aktivasyonuna neden olmaktadır (Şekil 2-2) (15).



Şekil 2-2: Glikolitik yolda geri besleme (15).

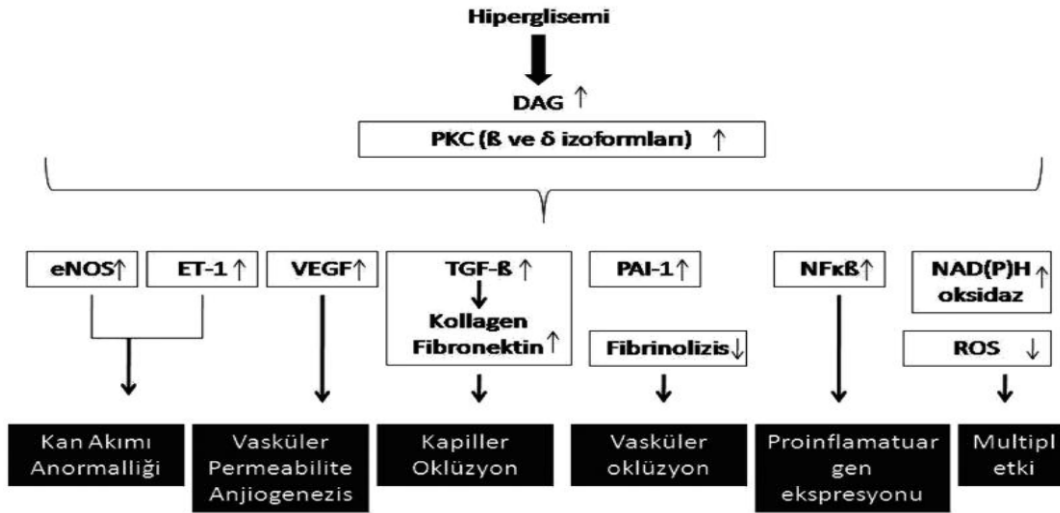
2.2.1.2. İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE) Oluşumu

AGE'ler protein, lipoprotein ve nükleik asitlerde bulunan azotlu grupların, indirgeyici şekerlerin karbonil grupları ile non-enzimatik glikasyonu sonucu oluşan heterojen bileşiklerdir. Diyabette artmış olan oksidatif strese bağlı olarak şeker veya lipidlerin oksidasyonu sonucunda, ara ürün olarak reaktivitesi yüksek 3-deoksiglikozun, glioksal ve metilglioksal gibi düşük molekül ağırlıklı dikarbonil bileşikler oluşur. Dikarbonil bileşikler genel olarak glikoliz ara ürünlerinden, glikasyona uğramış proteinlerin degradasyonundan ve lipidlerin peroksidasyonundan oluşabilmektedir. Dikarbonil bileşikler yüksek kimyasal aktiviteye sahiptir ve çok küçük konsantrasyonlarda bile direkt olarak proteinlerin terminal aminoasit rezidüsüyle reaksiyona girerek AGE oluşumuna yol açabilmektedir (15).

2.2.1.3. Protein Kinaz C Aktivasyonu

Protein kinaz C (PKC), ekstrasellüler matriks ve sitokinlerin yapımında artışa sebep olmaktadır. Hiperglisemide artan ROS aynı zamanda dolaylı yoldan hem AGE reseptörleri hem de polyol yolağıyla PKC aktivasyonu yaratmaktadır. PKC aktivasyonu ile, nitrik oksit üretimi baskılanıp; endotelin 1 aktivitesi artmaktadır. Mezanşial hücreler de endotelin-1 aracılı, MAP kinaz aktivitesindeki artış; diğer yandan vasküler endotel

büyüme faktörü (VEGF) ve transforme edici büyüme faktörü (TGF) β 1, fibronektin ve tip 4 kollagen artışının yarattığı vasküler permeabilite de artış ve kapiller oklüzyon ile sonlanmaktadır (Şekil 2-3). Hipergliseminin indüklediği PKC, aynı zamanda fibrinolitik inhibitör rol oynayan plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), proenflamatuvar NF- κ B (nükleer faktör kappa b) ve NAD(P)H bağımlı oksidazların aşırı ekspresyonuna neden olur (15).

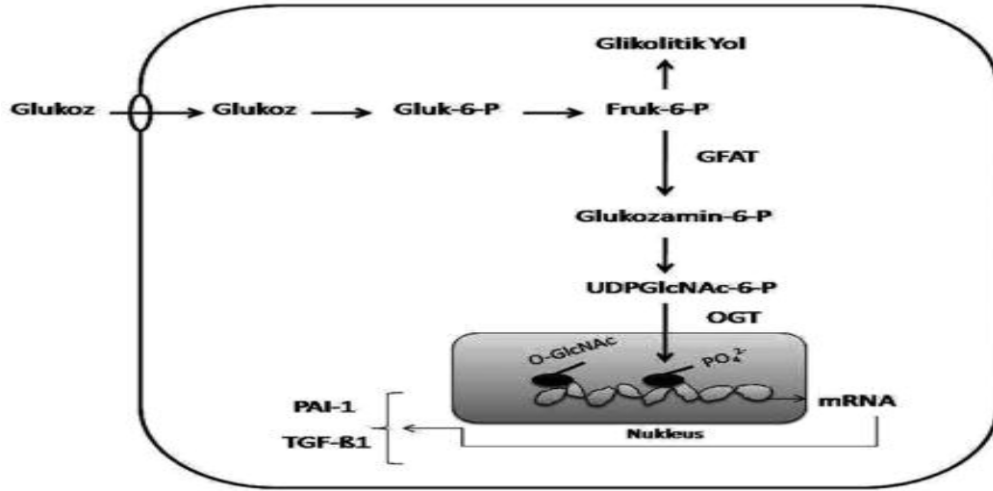


Şekil 2-3: Hipergliseminin PKC aktivasyonu ile sebep olduğu patojenik süreçler (15).

eNOS: Endotelial nitric oksit sentaz, ET-1: endotelin-1, VEGF: Vasküler endotel büyüme faktörü, TGF- β : Transforme edici büyüme faktör- β , PAI-1: Plazminojen aktivatör inhibitör-1, NF κ B: nükleer faktör κ B.

2.2.1.4. Heksozamin Yolağı Akışında Artış

Hücre içi fazla glüköz birikimi; Şekil 2-4'te görüldüğü gibi tüm yolları geri besleyerek heksozamin yolağına doğru bir döngü oluşmasına yol açar. Bu yolda fruktoz-6- fosfat, glikolizden ziyade glukozamin-6-fosfat amidotransferaz (GFAT) enzimi ile glukozamin-6-fosfata yönlendirilir. GFAT, burada hız sınırlayıcı enzim rolündedir. Bu durum proteoglikan ve oksijen bağılı glikoproteinler için substrat görevi yapan UDP-N-asetilglukozamin (UDPGlcNAc) oluşumuna ilerler. Hücre içi glikozilasyona UDPGlcNAc eklenmesi; serin ve threonin'i katalizleyen O-GlcNAc transferaz (OGT) aktivasyonuna neden olur. O-GlcNAc artışı, sıklıkla serin fosforilasyonuna ve vasküler düz kas hücrelerinde transkripsiyon faktörü Sp1 etkisiyle PAI-1, TGF- β 1 gibi faktörlerin artışına yol açar. Hiperglisemi durumunda yağ dokusunda gelişen insülin direncinde de bu yolak önemli rol oynar (Şekil 2-4) (15).

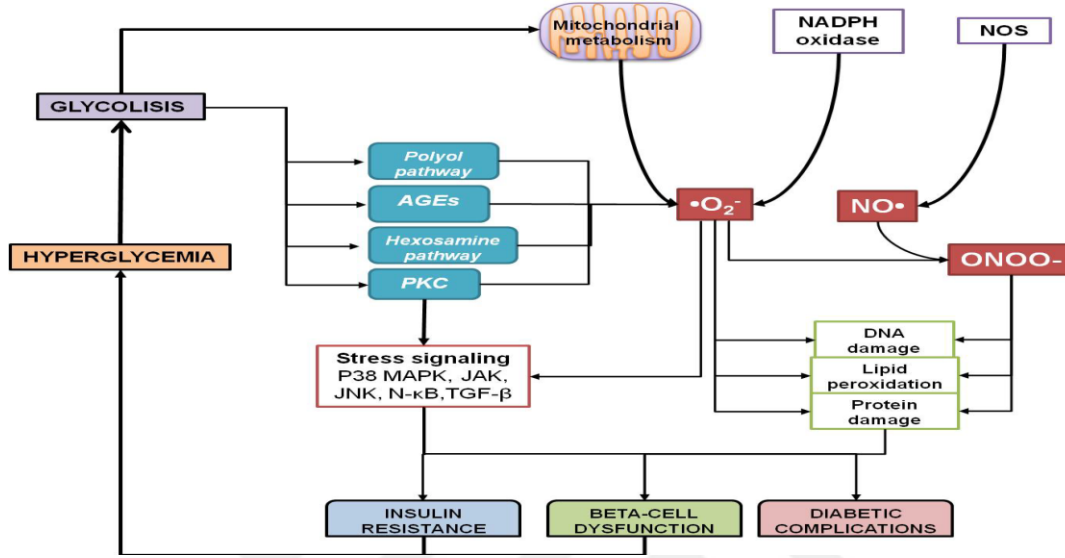


Şekil 2-4: Heksozamin yolağı (15).

Hiperglisemi, heksozamin yolunu aktive ederek ROS aşırı üretimine neden olur. Beta hücresindeki oksidatif stresin düzeyi, glukolipotoksisite sırasında açığa çıkan ROS ve diğer serbest radikallerin temizlenme düzeyiyle doğru orantılıdır. Hiperglisemik ortamlarda NADPH düzeyi arttıkça ROS düzeyi de azalır. Hiperglisemik durumlarda NADPH'ye bağlı bir antioksidan sistem beta hücrelerini etkin bir şekilde korur. Diyabette oksidatif stresin artmasının nedeni yalnızca hiperglisemi değildir. İnsülin direnci, endoplazmik retikulum stresi, inflamasyon ve dislipidemi de oksidatif stresi artırır (16).

Artmış süperoksit üretiminin, endotelial doku hasarının merkezi ve majör mediyatörü olduğu, iki antiaterosklerotik enzimin, endotelial nitrik oksit sentaz ve prostasiklin sentazın doğrudan inaktivasyonuna neden olduğu ve oksidatif stres yollarının aktivasyonunun, komplikasyonların patogeneğinde rol oynadığı öne sürülmüştür. Endotelial hücreler ayrıca yüksek miktarlarda aldo-keto reduktaz içerirler ve bu nedenle artmış polyol yolağı aktivasyonuna eğilimlidirler. Hiperglisemi veya diyabetin, vasküler diasilgliserol birikimine ve ardından PKC aktivasyonuna neden olduğu ve çeşitli kardiyovasküler defektlere yol açtığı bilinmektedir. PKC aktivasyonu geçirgenlik, kontraktile, hücre dışı matriks sentezi, hücre büyümesi ve apoptoz, anjiyogenez, lökosit adezyonu ve sitokin aktivasyonu ve inhibisyonu gibi vasküler değişiklikler ile ilişkili bulunmuştur (Şekil 2-5). Diyabette söz konusu olan yüksek glikoz seviyelerinin, reaktif oksijen türlerinin üretimi ve ortadan kaldırılması arasındaki dengeyi bozduğu bildirilmektedir. Hiperglisemik koşullarda glikozun herhangi bir

enzimin aracılığına gereksinim duymaksızın kendiliğinden ortamdaki proteinlere bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olduğu ve AGE ürünlerinin oluştuğu bilinmektedir. Glikasyona uğrayan protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olmaktadır.



Şekil 2-5: Diabetes mellitusta oksidatif stres yolları (19).

2.3. Glikozillenmiş Hemoglobin (GHb)

Hemoglobin molekülünün beta zincirlerinin amino ucundaki aminoasitlerle glikozun etkileşmesi sonucu glikozillenmiş hemoglobin oluşur. GHb'nin majör formu HbA1c'dir ve total hemoglobinin % 4-6'sını oluşturur. HbA1c dışındaki glikolize hemoglobinler fosforillenmiş glikoz veya früktoz olup HbA1a ve HbA1b olarak adlandırılır. Bunlar ise total hemoglobinin % 4-6'sını oluşturur. Kronik hiperglisemide HbA1c kesimi anormal düzeyde artar. HbA1c ölçümü biraz zordur, bu yüzden bazı laboratuvarlar glikolize hemoglobin düzeyini ölçerler ve GHbA1c ya da GHb olarak rapor ederler (2).

HbA1c glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak miktarı değişen bir bileşiktir. DM'li bireylerde glikoz kontrolünü uzun vadeli takip etmek için HbA1c ölçümü gereklidir. HbA1c retrospektif olarak plazmadaki total glikoz değeri hakkında bilgi verir ama tek başına HbA1c diyabet tanısı koymak için yeterli değildir. Glikolize hemoglobin düzeyi önceki 6-8 haftalık kan glikoz düzeyini temsil eder.

2.4. Deneysel Tip 2 Diyabet Modeli (STZ+NA)

İnsan araştırmalarındaki zorluklardan dolayı hayvan modelleri diyabetin moleküler temelini, komplikasyonların patogenezi ve diyabette terapötik ajanların kullanımını anlamak için yararlı ve gerekli araştırma araçlarını oluşturmaktadır. T2 DM için kemirgen modelleri, insan diyabet hastalığı ile birçok benzerliği paylaştığı için tercih edilmektedir. Kemirgen diyabet modellerinin iki ana kategorisinden biri genetik (kendiliğinden) ikincisi ise deneysel olarak indüklenen (spontan olmayan) modeller olup; ikincisi daha basit, daha ucuz ve daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Deneysel olarak indüklenen diyabet modelleri kimyasal maddeler, diyet manipölasyonu veya ameliyatla yaratılabilir.

Hem streptozotosin (STZ) hem de nikotinamidin (NA) birlikte verilmesiyle obeziteye bağlı olmayan deneysel tip 2 diyabet modeli elde edilmektedir. Bu modelin hem biyokimyasal hem de diyabetin seyri üzerine, doğal bileşiklerin potansiyel antidiyabetik etkilerinin test edildiği, farmakolojik araştırmalar için daha uygun olduğu rapor edilmiştir. STZ'nin uygun dozda nikotinamid ile yetişkin sıçanlara kombine uygulanmasının, ılımlı ve stabil hiperglisemi ve azalmış pankreas insülin depoları (normalin yaklaşık % 40'ı) ile karakterize yeni bir diyabetik sendromun gelişmesine yol aćtığı gösterilmiştir (17).

STZ'nin pankreatik beta hücre hasarına neden olduğu iyi bilinirken, NA insülin salgılayan hücreleri STZ'ye karşı kısmen korumak için sıçanlara uygulanır. STZ, glikoz taşıyıcı GLUT2 vasıtasıyla beta hücrelerine taşınır ve DNA hasarına neden olur. DNA'yı onarmak için poli (ADP-riboz) polimerazın (PARP-1) aktivitesinin artmasına yol aćar. Bu enzimin aşırı aktivitesi, hücre içi NAD⁺ ve ATP'nin tükenmesine neden olur ve insülin salgılayan hücreler nekroza uğrar. NA'nın koruyucu etkisi PARP-1 aktivitesinin inhibisyonundan kaynaklanmaktadır. NA bu enzimi inhibe ederek STZ'ye maruz kalan hücrelerde NAD⁺ ve ATP'nin tükenmesini engeller (18).

Deney sıçanlarında diyabet hastalığının şiddeti, bu hayvanlara verilen STZ ve NA dozlarına bağlıdır. Bu nedenle diyabetik sıçanlarda kan glikozu kontrol hayvanlara kıyasla hafif bir hiperglisemiden önemli hiperglisemi ile geniş bir aralıkta değişebilir. Benzer bir şekilde kan insülini hafifçe azalabilir veya önemli hipoinsülinemi indüklenabilir. İn vitro çalışmalar, kontrol hayvanlara kıyasla STZ+NA ile indüklenen diyabetik sıçanlarda, glikoza karşı insülin salgılama tepkisinin zayıflatıldığını ortaya

koymuştur. Bunun nedeni beta hücre kitlesinin azalması ve insülin salgılayan hücrelerdeki metabolik kusurlardan kaynaklanmaktadır. Bu diyabet modelinin diyabetin farklı yönlerini içeren çalışmalar için yararlı olduğu pek çok araştırma sonuçlarında göstermiştir (17, 18).

2.5. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

T2 DM'nin başlamasına zemin hazırlayan etken insülin direncidir ama hipergliseminin ortaya çıkmasını belirleyen ana faktör beta hücre yetersizliğidir. Ancak beta hücre kitlesindeki azalma hiperglisemiyi belirleyen tek değil ama en önemli faktördür. Diyabetik hastalarda beta hücre yetersizliğinin gelişiminde, toplam beta hücre kitlesinde azalma yanında fonksiyonel yetersizliğin gelişimine neden olan etkenler birlikte rol oynarlar. Yaşlanma, glukotoksisite, lipotoksisite ve oksidatif stres gibi etkenler beta hücrelerinde fonksiyonel yetersizliğe neden olmaktadır.

Hiperglisemi ve serbest yağ asidi oksidatif strese neden olmaktadır. Bu durum ROS oluşumunu arttırıp, antioksidan enzim seviyelerini azaltarak antioksidan savunma mekanizmasını etkiler bu da oksidatif stresin daha da artmasına neden olmaktadır. Oksidatif stres diyabetik komplikasyonların patofizyolojisinde önemli bir etkidir. Oksidatif stresin insülin direnci ve insülin salgı mekanizmasını etkisiyle de diyabet başlangıcı ve gelişiminde rolü vardır.

Bir hücrenin iç ortamı enfeksiyonlar, hastalıklar, toksinler veya beslenmeye bağlı dengesizlikler tarafından bozulduğunda, mitokondri elektron akışını kendi kendisinden uzaklaştırarak ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) oluşturarak oksijen tüketimini azaltır. Bu oksidatif kalkan hücrenin, çevreden gelen toksik patojenlerin veya kimyasalların alımını azaltmasında ya da apoptozise uğrayarak komşu hücrelere yayılmasının önlenmesinde bir savunma mekanizması olarak görev yapar. Bu nedenle ROS oluşumu strese karşı fizyolojik bir yanıttır.

Oksidatif stres terimi, ROS ve RNS'nin aşırı üretim veya yetersiz atılımı sonucu aşırı seviyelere ulaştığı duruma denir. Yüksek reaktif moleküller olan ROS ve RNS fazlalığının patolojik sonucu proteinlere, lipidlere ve DNA'ya zarar verir. Oksidatif stres diyabet, kanser ve organizmanın yaşlanması gibi patolojik sonuçlara yol açabilir.

ROS ve RNS oldukça reaktif moleküller olup süperoksit (O_2^-), hidroksil ($\text{OH}^\cdot$), peroksil ($\text{RO}_2^\cdot$), hidroperoksil ($\text{HRO}_2^\cdot$), nitrik oksit ($\text{NO}^\cdot$) ve azot dioksit ($\text{NO}_2^\cdot$) gibi serbest radikalleri veya hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit (HOCl), peroksinitrit (ONOO^-), nitroz oksit (HNO_2) ve alkil peroksinitratlar (RONOO) gibi radikal olmayanları içerirler. Diyabet ve komplikasyonları ile ilgili çalışmaların çoğunda süperoksit (O_2^-), nitrik oksit ($\text{NO}^\cdot$) ve peroksinitrit (ONOO^-) rolü ele alınmıştır. Temel olarak süperoksit üretimi için iki yol vardır: Nitrik oksit sentaz yolağı tarafından $\text{NO}^\cdot$ ve ONOO^- üretimi sırasında NADPH oksidazlar ve mitokondriyal fonksiyonlar. NADPH oksidazları patojenlerin transferinin önlenmesinde süperoksit ve/veya hidrojen peroksit üreten tek enzimdir (19).

Elektron transportu sırasında moleküler oksijen nihai elektron alıcısı olup ve daha sonra H_2O 'ya indirgenir. Bununla birlikte tüketilen tüm oksijenin % 0,4 - 4'ü süperoksit anyonuna dönüştürülür. Bu nedenle bu transferin son ürünü süperoksittir. Mitokondri, NADPH oksidaz aktivitesini sınırlayarak hücrel redoks durumunun korunmasında önemli bir rol oynar. Ancak proton potansiyel eşiğı aşıldığında, mitokondri de NADPH oksidazlarını daha fazla uyararak önemli bir ROS kaynağı haline gelir.

Nitrik oksit ($\text{NO}^\cdot$), üç izoformu olan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından üretilir. $\text{NO}^\cdot$, vazodilasyon, makrofaj aktivasyonu, gen ekspresyonu ve apoptoz gibi çeşitli fizyolojik olaylara aracılık eder. Genelde $\text{NO}^\cdot$, vasküloprotektif bir molekül olarak kabul edilir. Ancak tiyol gruplarında protein nitrozilasyonu ve $\text{NO}^\cdot$, O_2^- ile kolayca reaksiyona girdiği için peroksinitrit (ONOO^-) gibi RNS oluşumu gibi çoklu etkileri vardır. Bu nedenle O_2^- miktarı $\text{NO}^\cdot$ 'nun koruyucu veya zararlı bir molekül olarak işlev görüp görmediğini belirler (19).

ROS ve RNS proteinler, karbohidratlar, lipidler, DNA ve RNA dahil olmak üzere hemen hemen tüm biyomoleküller ile kolayca reaksiyona girmektedir. ROS ve RNS ile oksidasyonun önemli bir hedefi, örneğin hücre zarında bulunan çoklu doymamış yağ asitleridir.

Lipit üzerinde eşlenmemiş bir elektron oluşması ile lipit radikali meydana gelir daha sonra hızla oksijen ile reaksiyona girerek bir peroksil radikali oluşturur. Ardından eşlenmemiş elektronu bir molekülden diğerine sürekli olarak geçirerek lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan zincir reaksiyonu gerçekleştirir.

Lipit peroksidasyonu sırasında oluşan ürünler arasında 4-hidroksi-2-alkenler ve üç karbonlu bileşik malondialdehit (MDA) bulunmaktadır. DNA bazlarıyla reaksiyona girerek MDA, çeşitli hastalıkların patolojisinde rol oynayabilecek mutajenik lezyonlara neden olabilmektedir (19).

2.5.1. Oksidatif Stres ve Endotel Disfonksiyon

Endotelial disfonksiyon vasküler endoteliumda, vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon bozukluğu, bozulmuş veya aşırı anjiyogenez, azalmış bariyer fonksiyonu ve artmış inflamatuvar aktivasyon gibi kardiyovasküler hastalık ile ilişkili olan bir dizi fonksiyonel değişiklik içerir. T1 DM'de, endotelial disfonksiyon baskın olarak hiperglisemiye bağlı metabolik değişiklikler tarafından tetiklenir. Yaşla birlikte T1 DM hastalarında birtakım mikrovasküler komplikasyonlar gelişir, özellikle retinopati, nefropati ve bozulmuş yara iyileşmesi. T2 DM'de endotel disfonksiyonu ile diyabet arasındaki ilişki daha karmaşıktır çünkü endotel disfonksiyonu diyabetin başlangıcından çok önce başlar. Dislipidemi ve adipoz dokunun inflamasyonu gibi faktörler endotel disfonksiyonunun ve T2 DM'de hipergliseminin gelişimine neden olabilir (49).

DM'de damarlarda artan oksidatif stres endotelial disfonksiyonun önemli bir mekanizmasıdır. Arteriyel dokunun artmış glikoz veya serbest yağ asidi konsantrasyonlarına maruz kalması, süperoksit üretimine neden olur ve vasküler duvarda NO biyoyararlanımını bozar, antioksidan tedavi ise endotel fonksiyonunu iyileştirir. Diyabetik vasküler, NADPH oksidaz gibi, enzimatik süperoksit kaynağı tespit edilmiştir. DM'de NADPH oksidaz aktivitesi ve süperoksit üretimi artmaktadır. NADPH oksidaz ekspresyonu da anjiyotensin II ile düzenlenmiştir ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri diyabette vasküler etkilere sahiptir. Aldoz redüktaz sistemi ile süperoksit anyon üretiminin artması ve mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bileşenleri hiperglisemi ile ilişkilendirilmiştir. İnsanlarda yapılan çalışmalar DM ve insülin direncinde artan oksidatif stresin, endotelial disfonksiyon mekanizmasındaki önemini desteklemektedir. Klinik çalışmalar antioksidan tedavi ile artmış endotel fonksiyonunu bildirmektedir. Diyabet ve insülin direnci mitokondriyal disfonksiyona neden olur. Artan glikoz konsantrasyonları mitokondriyal membran potansiyelini ve radikal üretimini artırır. Mitokondriyal türevli ROS, mitokondriyal

biyogenezi bozar, mitokondriyal kitlenin azalmasına, parçalanmış ve işlevsiz mitokondriye neden olur. Klinik ve deneysel çalışmalar diyabetli hastalarda bozulmuş mitokondriyal fonksiyonu göstermiş ve mitokondriyal disfonksiyonun endotel disfonksiyonuna katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir (50).

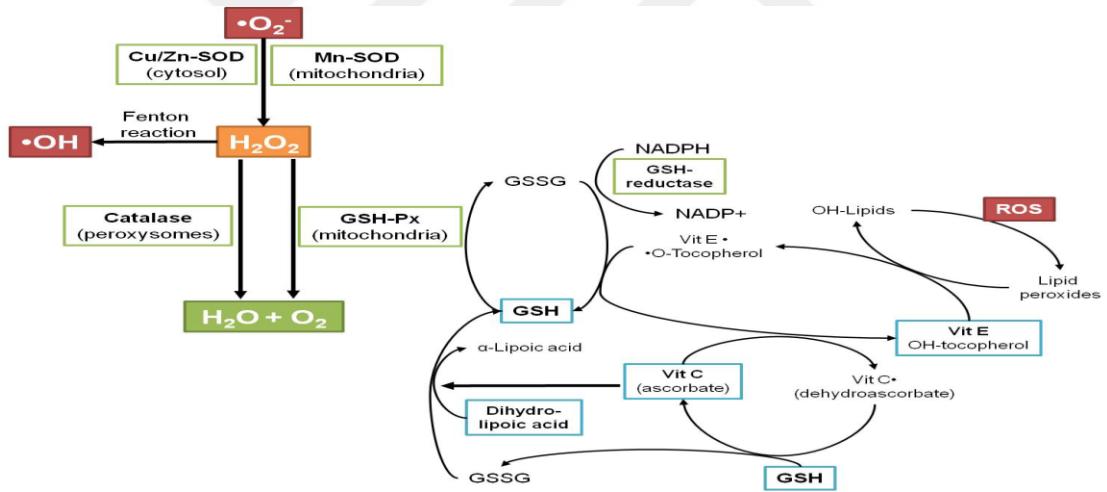
Hem T1 DM hem de T2 DM'deki klinik çalışmalar, hipergliseminin mikrovasküler komplikasyonların patogeneğinde büyük rol oynadığını ve endotel disfonksiyon ve endotel hücre apoptozisinin gelişiminde önemli bir nedensel faktör olduğunu göstermiştir. Endotel disfonksiyonda, mikrovasküler endotelyum insülinle uygun şekilde reaksiyona giremediği için insülin direncine neden olabileceği düşünülmektedir. Polyol yolunun endotel hücre apoptozisine neden olabileceği de bildirilmiştir. PKC aktivasyonunun patojenik sonuçları düz kas hücrelerinde VEGF indüklenmesi yoluyla vasküler permeabilitenin disregülasyonunu, endotelial NOS aktivitesini azaltmasını ve kan akışının düzensizliğini içermektedir. AGE oluşumu, endotel fonksiyonunu çeşitli yollarla etkileyebilir, oksitleyiciler olarak hareket edebilir ve ROS oluşumuna neden olabilir. AGE'ler arteriyel elastikiyeti azaltabilir ve AGE modifiye tip I ve IV kollajen normal matriks oluşumunu ve çapraz bağlanmayı önleyebilir. Aort endotel hücrelerinde, hipergliseminin mitokondriyal süperoksit üretimini artırdığı ve eNOS aktivitesini ve ekspresyonunu önlediği bildirilmiştir (51).

Oksidatif stres endotel disfonksiyonunda önemli bir olaydır. Çünkü hipergliseminin neden olduğu inhibisyon; ROS üretimi, aldoz redüktaz, heksozamin yolakları, PKC aktivasyonu ve AGE oluşumunun aktivasyonunu engeller. ROS, membran lipidlerinin peroksidasyonu, NF- κ B'nin aktivasyonu ve NO'nun kullanılabilirliğinin azaltılması gibi çeşitli mekanizmalarla endotel fonksiyonunu değiştirebilir. Bu sonuçlar HbA1c ile açıklanamayan diyabetik komplikasyonların riskindeki varyasyonun daha iyi anlaşılması için moleküler bir temel sağlar. Sağlıklı bireylere kıyasla diyabetli hastalarda yaşlanmanın daha hızlı görüldüğüne dair kanıtlar da vardır. Yaşlanma damarlarda vasküler inflamasyonu ve trombozu geliştirir, kardiyovasküler olayların gelişimini destekler (50, 51).

2.5.2. Organizmanın Antioksidan Savunma Mekanizması

Aerobik süreçler için tüketilen az miktarda oksijen süperoksit anyonuna dönüştürülür bu anyon ya uzaklaştırılır ya da daha az reaktif (ve zararlı) moleküller haline dönüştürülür. Bu işlemi düzenleyen ana enzimler ise süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalazdır. Kronik hiperglisemi meydana geldiğinde bu enzimlerin aktivitesi yetersiz kalır, daha fazla ROS ve RNS oluşumuna ve oksidatif stres yollarının aktivasyonuna yol açar.

SOD, ROS'a karşı ilk savunma olarak kabul edilir. Bu enzim neredeyse tüm hücrelerde bulunur ve $\cdot\text{O}_2^-$ yi H_2O_2 'ye dönüştürür. Sitosolik SOD, Cu ve Zn içeren bir dimer iken, mitokondriyal ve bakteriyel SOD Mn içerir. H_2O_2 diğer ROS'larla reaksiyona girebileceğinden diğer iki antioksidan enzimden biri olan GSH-Px veya katalaz tarafından yıkımı gerekir. GSH-Px, mitokondride bulunur. İki glutatyon (GSH) molekülünün glutatyon disülfite (GSSG) oksitlendiği yerde H_2O_2 'nin indirgenme ile yıkımını katalize eder (Şekil 2-6).



Şekil 2-6: Organizmanın antioksidan savunması (19).

GSH-redüktaz tarafından GSH'ın yeniden üretiminde, NADP^+ 'ya oksitlenen NADPH 'a gerek duyulmaktadır. Peroksizomlarda bulunan katalaz ise mitokondriden sitozole yayılan H_2O_2 'yi suya ve moleküler oksijene dönüştürerek detoksifiye eder. GSSG'nin tekrar GSH'ye dönüşmesine yardımcı olan nonenzimatik antioksidan mekanizmalar da vardır. Bu mekanizmalar arasında A, C, E ve alfa-lipoik asit gibi antioksidan vitaminler bulunur. Bütün bu antioksidan savunmalar, H_2O_2 'yi (ve dolayısıyla süperoksiti) hücreden arıtmak için birlikte çalışsa da, oldukça reaktif bir ROS olan Fenton reaksiyonu ile indirgenmiş geçiş metallerinin (Cu, Fe) varlığında H_2O_2 $\cdot\text{OH}$ 'ye dönüşebilir (19).

2.6. Diabetes Mellitus ve Antioksidanlar

DM dahil kronik hastalıkların çoğu yaşlanma süreciyle bağlantılı olup aerobik organizmalarda sürekli meydana gelen oksidatif hasarla ilişkilendirilmiştir. Oksidatif hasar teorisi; mitokondride ATP'nin fosforlu zincirindeki ürünler tarafından ROS veya serbest radikaller ürettiğini öne sürmektedir. Serbest radikaller, fagositlerdeki NADPH oksidaz gibi enzimatik reaksiyonlarla, istilacı mikropları veya ürik asit formasyonu için ksantin oksidazı yok etmek için de üretilirler. Ayrıca hava kirliliği, sigara dumanı ve güneş ışığı gibi dış kaynaklar da serbest radikallerin üretimine neden olmaktadır. Serbest radikaller diğer moleküllere karşı oldukça reaktiftir, stabil hallerine geri dönmek için elektron alırlar. Orijinal serbest radikalın elektronu aldığı molekül bir başka serbest radikal haline gelir ve bu da kendi kendini besleyen bir süreçle sonuçlanır. Aşırı serbest radikal üretimi lipitlere, proteinlere, karbonhidratlara ve DNA'ya zarar verir. Serbest radikallere maruz kalan hücre membranları besin maddelerini düzgün bir şekilde taşıma yeteneklerini yitirirler ve lipoproteinler oksitlenmiş formlara dönüştürülür. Bu nedenle oksidatif sürecin hızını yavaşlatan antioksidan moleküller normal vücut metabolizmasının homeostazında çok önemli rol alırlar.

Diyet ve beslenme kronik hastalıklara bağlı morbidite ve mortalite açısından hayati öneme sahiptir. Belirli gıdalar veya bunların yan ürünleri birer biyoilaç olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda hastalıkların fizyopatolojisinde oksidatif hasarın rolü bilinmektedir. Antioksidan beslenme ajanları büyük ilgi çekmekte ve hastalıklar üzerinde muhtemel yararlı rolleri dikkatle araştırılmış ve araştırılmaya da devam edilmektedir. Antioksidan ajanlara olan ilginin temel nedenlerinden biri, neredeyse hiç zararlı yan etkilerinin olmamasıdır. Hastalık önleyici faaliyetler için teşvik edilen kimyasal ilaçlara karşı bu durum bir tezat teşkil etmektedir (20).

Kardiyovasküler hastalıklar, kanser, T2 DM ve obezite gibi kronik hastalıkların prevalansını azaltmaya yönelik olarak fitokimyasallar yani bitkilerden elde edilen gıdaların kimyasal bileşenleri kullanılır. Yaşam için zaruri olmayıp sağlığa olumlu katkıları olan antioksidan özellikli fitokimyasallar, gıda dışı besinler olarak adlandırılır.

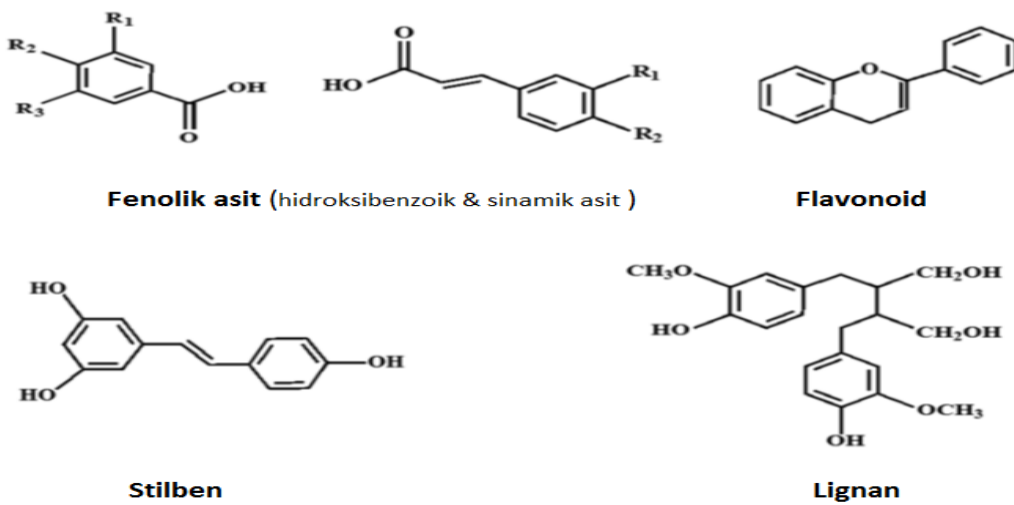
Antioksidanlar, serbest radikallerin üretimini uyaran metallere bağlanarak, serbest radikallerin oluşumunun engellenmesi gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla onların aktivitesini inhibe edebilir. Enzimatik (SOD, katalaz, GSH-Px, glutatyon S transferaz-GST ve glutatyon redüktaz-GR) ve enzimatik olmayan antioksidanlar (indirgenmiş

glutasyon-GSH, fenolik asitler, C vitamini ve E vitamini) oksidatif stres ve komplikasyonlarına karşı ideal ajanlar olarak kabul edilmiştir (21).

2.7. Fenolik Bileşikler (Polifenoller)

Doğal kaynaklardan fenolik bileşikler, hipoglisemik olan fitokimyasal bileşenleri içermektedir. Fenolik bileşikler bitkilerin sekonder metabolitleri olup genellikle morötesi radyasyona veya patojenlere karşı savunmaya dahil olurlar. Son on yılda fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri nedeniyle sağlık üzerindeki potansiyel yararları konusunda çok fazla ilgi olmuştur. Epidemiyolojik çalışmalar ve ilgili meta-analizler, fenolik bileşikler açısından zengin diyetlerin uzun süreli tüketilmesinin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, osteoporoz ve nörodejeneratif hastalıkların gelişimine karşı koruma sağladığını güçlü bir şekilde göstermektedir.

Çeşitli bitki türlerinde 8.000'den fazla fenolik bileşik tanımlanmıştır. Polifenoller, içerdikleri fenol halkalarının sayısının bir fonksiyonu olarak ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal elemanlar temelinde farklı gruplara ayrılır. Ana sınıfında fenolik asitleri, flavonoidleri, stilbenleri ve lignanları içerir. Şekil 2-7 farklı fenolik bileşik gruplarını ve bunların kimyasal yapılarını göstermektedir.



Şekil 2-7: Fenolik bileşiklerin farklı sınıflarının kimyasal yapıları (22).

Fenolik bileşikler, içerdikleri fenol halkalarının sayısına ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal elemanlara göre fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve lignanlar olarak dört sınıfa ayrılır. Fenolik asitler ayrıca hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asitlere ayrılır. Fenolik asitler, diyetle alınan fenolik bileşiklerin yaklaşık üçte birini oluşturur ve tüm bitki materyallerinde bulunur, ancak asidik tatlandırıcı meyvelerde özellikle bol miktarda bulunur. Kafeik asit, gallik asit, ferulik asit bazı yaygın fenolik asitlerdendir. Flavonoidler insan diyetinde en bol bulunan fenolik bileşiklerdir. Stilbenler, iki karbon metilen köprüsü ile bağlı iki fenil parçasını içerir. İnsan diyetindeki stilbenlerin yeri oldukça düşüktür. Bitkilerde çoğu stilben, sadece enfeksiyona veya yaralanmaya yanıt olarak sentezlenen bileşikler olan antifungal fitoaleksinler olarak davranır. En yaygın olarak incelenen stilben, resveratrol'dür. Lignanlar, iki sinamik asit tortusunun dimerizasyonu ile oluşturulan 2,3-dibenzilbütan yapısını içeren difenolik bileşiklerdir (22).

2.7.1. Fenolik Asitler ve Öjenol

Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin önemli bir üyesi olan fenolik asitler yüksek antioksidan kabiliyetine ve serbest radikal temizleme kapasitesine sahip oldukları için ROS üretiminden sorumlu enzimleri inhibe ederler. Birçok çalışma oksidatif stresin diyabet komplikasyonlarının ilerlemesini artırdığını gösterirken, antioksidan açısından zengin besin kaynaklarının ise diyabet riskinin azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir.

Fenolik asitler yenilebilir sebze ve meyvelerde mevcuttur ve bu bileşenlerin beslenmede günde 1-2 gr tüketildiği tahmin edilmektedir. Metabolik sendromda fenolik asitlerin yararlı rolü hala tartışmalı olsa da, araştırma verileri yüksek polifenol alımının diyabet gelişimi için daha düşük risk ile ilişkili olduğunu göstermektedir. İnsan veya kemirgenler üzerindeki epidemiyolojik, randomize ve kontrollü diyet çalışmaları; fenolik asit tüketiminin glikoliz, glikojenez ve glukoneojenez dahil olmak üzere karbonhidrat metabolizmasının ve hepatik glikoz homeostazını düzenleyerek diyabet riskini azaltıcı çok fazla kanıt sunmaktadır.

Öjenol (eugenol) adı karanfillerin bilimsel isminden kaynaklanmaktadır: *Eugenia aromaticum* veya *Eugenia caryophyllata*. Karanfillerden elde edilen uçucu yağlar yaklaşık % 72-90 oranında öjenol içerir. Ayrıca tarçın, küçük hindistan cevizi, defne yaprağı, melisa otu ve fesleğen gibi aromatik bitkiler de öjenol içermektedir. Öjenol genellikle organik çözücülerde iyi çözünür ve suda çok az çözünür. Parfümeri, tatlandırıcılar, esansiyel yağlar ve tıpta lokal antiseptik ve anestezik gibi geniş bir uygulama alanına sahiptir. Aynı zamanda diş hekimliğinde dolgu materyali olarak da kullanılmaktadır. Öjenol (4-allil-1-hidroksi-2-metoksibenzen) *Syzigium Aromaticum*'un (karanfil) biyolojik olarak aktif bir fenolik asit bileşenidir. Asya ülkelerinde geleneksel tıp uygulamalarında antiseptik, analjezik ve antibakteriyel ajan olarak kullanılmaktadır.

Öjenolün antiviral, antioksidan, antienflamatuvar gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Düşük konsantrasyonlarda genellikle bir antioksidan ve antienflamatuvar ajan olarak etki gösterirken, daha yüksek konsantrasyonda dokuya zarar veren serbest radikallerin artmasına neden olan bir pro-oksidan olarak hareket etmektedir. Dolayısıyla antijenotoksik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Gıda ve Tarım Örgütü ile Dünya Sağlık Örgütü öjenolü insanlar için 2,5 mg/kg vücut ağırlığına göre kabul edilebilir günlük alım miktarı olarak bildirmişlerdir. Ayrıca ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) de kanserojen ve mutajenik olmadığından öjenolü güvenli olarak ilan etmiştir. Çeşitli kanser hücre soylarında ve hayvan modellerinde öjenolün antikanser aktivitesinin olduğu da gösterilmiştir (23).

DM'de hiperglisemi, endotel disfonksiyonu ve periferik nöropati dahil olmak üzere vasküler komplikasyonlara katkıda bulunan oksidatif stres ve proinflamatuvar değişikliklere neden olmaktadır. Diyabetik sıçanlarda öjenolün besin takviyesi tedavisine yönelik yapılan bir araştırma sonucuna göre antioksidan ve antienflamatuvar özelliklerine bağlı olarak sinir ve vasküler endotel fonksiyonunda yararlı etki gösterdiği bulunmuştur (24).

Srinivasan ve arkadaşları öjenolü diyabetli farelere 30 gün boyunca 2.5, 5 ve 10 mg / kg 'de intragastrik olarak uygulamış ve 10mg / kg dozunun, kan glikozu ile HbA1c seviyelerini ve artmış plazma insülin seviyesini önemli ölçüde düşürdüğünü bildirmişlerdir. Öjenol; heksokinaz, piruvat kinaz ve glikoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitelerini arttırmış, G6Pase, fruktoz-1,6-bisfosfat ve karaciğer enzimlerinin aktivitelerini ise bastırdığını tespit etmişlerdir (25).

Mnafgui ve arkadaşlarının in vitro ve in vivo yaptıkları bir çalışmada, öjenolün pankreas a-amilazını, lipazı ve anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Öjenolün (30 gün boyunca 80 mg/kg) serum, pankreas ve bağırsaktaki amilaz aktivitesini ve düşük seviyelerde glikoz ve karaciğer enzimleri (aspartat aminotransferaz, alanin transaminaz ve alkalın fosfataz) ile kreatin fosfokinaz gibi enzimleri ve böbrek fonksiyon (toplam bilirubin, kreatinin, üre ve ürik asit oranları) belirteçlerini önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir. Bu bulgular sonucunda öjenolün yeni bir antidiyabetik ajan olabileceğini öne sürmüşlerdir (26).

Karanfil ekstreleri ile db/db fareler beslendiğinde kan şekeri ve HbA1c seviyelerini açıkça düşürdüğü bulunmuştur (27). C57BL/6J farelerinde yüksek yağlı diyet (HFD) ile hiperglisemi indüklenmiş ve öjenolün oral yolla 15 hafta boyunca 20 ve 40 mg/kg olarak ayrı ayrı uygulandığı bir çalışmada E40 grubunun plazma glikozu ve insülin seviyeleri, HFD kontrolü ile karşılaştırıldığında, sırasıyla % 31 ve % 63 oranında azalmıştır. Piruvat tolerans testlerinde, piruvatın indüklediği glikoz düzeyleri azalmış, bu da öjenolün antihiperglisemik aktivitesinin esas olarak hepatik glukoneojenezin bastırılmasından kaynaklandığını göstermektedir. Öjenol, CAMKK-AMPK-CREB sinyal yolağının modüle edilmesiyle hepatik glukoneojenezin inhibisyonu yoluyla hiperglisemiye etkili bir şekilde iyileştirmektedir. Glikoz üretiminin öjenol tarafından bastırılmasının T2 DM için önemli bir terapötik öneme sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (28).

2.7.2. Flavanoidler ve Kuersetin

Flavonoidlerin jenerik yapısı, oksijenli bir heterosiklik C halkası ile bağlanan iki A ve B aromatik halkadan oluşur. C halkasının yapısına, oksidasyon durumuna ve fonksiyonel gruplarına dayanarak flavonoidler; flavonoller, flavonlar, flavanoller (kateşinler), flavanonlar, antosiyanidinler ve izoflavonoidler olarak sınıflandırılır. Flavonoidlerin başlıca kaynakları; turuncgiller, kayısı, kiraz, üzüm, siyah kuş üzümü, yaban mersini ve elma gibi meyveler iken sebzeler arasında soğan, brokoli, domates, ıspanak, pancar, soya fasulyesi ve aromatik otlar yer almaktadır. Aromatik otlar ve baharatlar sebzelerden birkaç kat daha yüksek flavonoid konsantrasyona sahiptir.

Meyveler, sebzeler ve tahıllarda bulunan antioksidanların insanlara çeşitli faydaları vardır. Fenolik bileşikler, özellikle flavonoidler hücre döngüsü proteinlerine müdahale ederek veya apoptozisi indükleyerek tümör hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edebilen etkili antiproliferatif ajanlardır. Flavonoidlerin, endotel kaynaklı nitrik oksit biyoaktivitesini artırarak vasküler endotelyal disfonksiyonu tersine çevirdiği de gösterilmiştir (20).

Kuersetinin (quercetin) antidiyabetik etkisi üzerine ilk rapor 1958 yılında yayınlanmıştır. Elma, greyfurt, soğan, ahududu, yaban mersini, kiraz, siyah çay, brokoli ve lifli yeşillikler iyi birer kuersetin kaynağıdır. Kuersetinin lipid peroksidasyonunu, trombosit agregasyonunu, kılcal damar geçirgenliğini inhibe ettiği ve lipid metabolizmasını hızlandırıp, oksidatif stresi azaltarak veya proinflamatuvar sitokinleri modüle ederek diyabetik komplikasyonlara karşı iyileştirici rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir (41).

T2 DM hayvan modelinde kuersetinin hipoglisemik, hipolipidemik ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Kuersetin grubunda daha düşük plazma glikoz seviyeleri ile insülin direncinin (HOMA-IR) homeostazis modeli değerlendirmesi dikkate alınarak diyabetik kontrol grubuna göre daha düşük değerler bulunmuştur. Kuersetinin tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) düzeylerini düşürerek SOD, katalaz ve GSH-Px detoksifikasyon işlemlerine dahil olan spesifik karaciğer enzimlerinin aktivitesini artırdığı görülmüştür. T2 DM'de kuersetinin antioksidan rolünün etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür (29). Ayrıca hipoglisemiye azaltmada önemli rol oynayan aldoz redüktaz inhibitörü ve PPAR- γ agonisti olduğu da bildirilmiştir (30).

Diyabetik nöropati, nöronların normal boyutunda ve yoğunluğunda değişime neden olarak nöronların işlevlerini bozmaktadır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada kuersetinin nöron ve glia hücrelerinin yoğunluğunu ve kütlelerini koruduğu bulunmuştur (31). Ayrıca diyabetik sıçanlarda hafıza disfonksiyonunu azalttığı da bildirilmiştir (32).

Diyabetik farede kuersetinin antioksidan etkisiyle osteopeniye karşı kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir (33).

Diyabetik nefropati diyabetin diğer önemli bir komplikasyonudur. Elbe ve arkadaşları diyabetik sıçanlarda kuersetinin oksidatif stres ve böbrek fonksiyon bozukluklarını iyileştirerek nefron koruyucu etki sağladığını göstermişlerdir (34).

Birçok çalışma TGF- β 1 ve bağ dokusu büyüme faktörünün (CTGF) her ikisinin de diyabetik nefropati patofizyolojik mekanizmalarında yer aldığına işaret etmiştir. STZ ile indüklenmiş Sprague-Dawley diyabetik sıçanların renal dokularında TGF- β 1 ve CTGF'nin aşırı ekspresyonu, kuersetin uygulamasını takiben azalmıştır. Kuersetinin böbrekte TGF- β 1 ve CTGF'nin aşırı ekspresyonlarını inhibe ederek, diyabetik nefropati oluşmuş sıçanlarda böbrek fonksiyonunu iyileştirdiği bildirilmiştir (43).

Diyabetiklerde hiperglisemi ile indüklenen oksidatif stres, NF- κ B dahil olmak üzere çeşitli sinyal yollarını aktive eder, bu da indüklenabilir nitrik oksit sentezinin ekspresyonunu artırarak lipid peroksidasyonunu, protein nitrasyonunu ve LDL oksidasyonunu artırır. DM'de oksidatif stres, endotel disfonksiyonunun gelişiminde de önemli bir rol oynar. Kuersetinin endotelial nitrik oksidin biyoyararlanımını artırarak kan damarlarındaki vasküler reaktivite ve endotel fonksiyonunu iyileştirdiği bulunmuştur (35). Kuersetinin güçlü vazodilatatör, serbest radikal süpürücü ve antioksidan etkilere sahip olduğu gösterildiği bir başka çalışmada nitrik oksit üzerinde koruyucu etki gösterdiği ve diyabetik sıçan modellerinde yapılan hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda endotel fonksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (39).

Adenozin monofosfat (AMP) ile aktive olan protein kinaz (AMPK), diyabet dahil olmak üzere metabolik bozukluk için iyi bilinen bir hedeftir. AMPK'nın aktivasyonu, hücrelerin artan substrat alım kapasitesine ve enerji homeostazisinin restorasyonuna yol açar ve bu da metabolik strese yararlı etki sağlar. Kuersetinin, L6 kas hücreleri ve H4IIE sıçan hepatoma hücrelerinde AMPK yolunu ve GLUT4 translokasyonunu artırarak hücrelerdeki glikoz alımını arttırdığı bulunmuştur (36).

Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1); düz kas hücreleri, makrofaj hücreleri ve endotel hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücrelerde ateroskleroz sürecinin ilk aşamalarında yer almaktadır. Diyabetin hiperglisemik durumundan dolayı dolaşımdaki MCP-1 düzeyi yükselir ve aterosklerozu destekler. Panicker ve arkadaşları, MCP-1 ekspresyonundan sorumlu olan NF- κ B ve AP-1 (aktive protein-1) yollarını düzenleyerek aortik endotelial hücrelerde MCP-1 ekspresyonunun kuersetin ile indirgenmiş olduğunu ortaya koymuştur (37). Kuersetin, endotelial progenitör hücrelerde Sirt-1 (sirtuin geni) bağlı endotelial NOS (eNOS) yukarı regülasyonu yoluyla hiperglisemiye bağlı hasardan da korumaktadır (38).

Kuersetinin güçlü antienflamatuvar kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kuersetin antifibrotik, antikoagulatif, antibakteriyel, antiaterojenik, antihipertansif ve antiproliferatif özelliklere sahip olduğu da in vitro olarak gösterilmiştir (40).

Alam ve arkadaşlarının yaptıkları araştırma sonucunda diyet antioksidanları ile özellikle kuersetin takviyesinin, T2 DM'de serbest radikal toksisitesinin neden olduğu hasarı azaltmaya yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca DNA hasarında kuersetinin koruyucu rolünün olduğunu da bildirmişlerdir (42). Kuersetinin pankreatik β hücrelerini enflamatuvar hasardan koruyabildiği gösterilmiştir. Kuersetine atfedilen bir diğer önemli işlev, polyol yolağı ile glikozun sorbitole dönüştürülmesinde rol oynayan bir enzim olan aldoz redüktazı azaltma kabiliyetidir. Antioksidan özelliklere sahip bir flavonoid olan kuersetinin pankreatik adacıkların rejenerasyonunu sağladığı ve STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda insülin salımını arttırdığı sonucuna varılarak; kuersetinin yararlı antidiyabetik etkilerinin olduğu deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (44). Coşkun ve arkadaşları sıçanlarda deneysel STZ ile indüklenen diyabet modelinde, yüksek serum glikozunda keskin bir düşüşe ve düşmüş serum insülin konsantrasyonlarında hafif bir artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca kuersetin tedavisinin beta hücrelerinin çoğunu koruduğunu da bulmuşlardır. Kuersetinin lipid peroksidasyonunu azaltma, NO üretimi ve antioksidan enzim aktivitesini artırma yoluyla koruyucu etki göstermiş olduğu ileri sürülmüştür (45).

Kuersetinin STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanların karaciğerlerinde oksidatif stres, NF- κ B aktivasyonu ve iNOS aşırı ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Kuersetin tedavisinin kronik hiperglisemiden etkilenen farklı dokulardaki geç komplikasyonların gelişimini engelleyebileceği bildirilmiştir (46). STZ ve NA ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda 50 mg/kg kuersetinin uygulanması sonucunda hipoglisemik ve antidiyabetik etkileri gözlenmiştir (47).

Aldoz redüktaz, diyabetik kataraktın gelişmesinden sorumlu hücre içi polyol yolunda anahtar bir enzimdir. Kuersetin varlığına bağlı olarak diyabetik katarakt gelişimini geciktirmeye yardımcı olabileceği düşünüldüğünden bu yararlı etkinin, aldoz redüktaz enziminin ve antioksidan aktivitenin önemli ölçüde önlenmesinden kaynaklanabildiği ileri sürülmüştür (48).

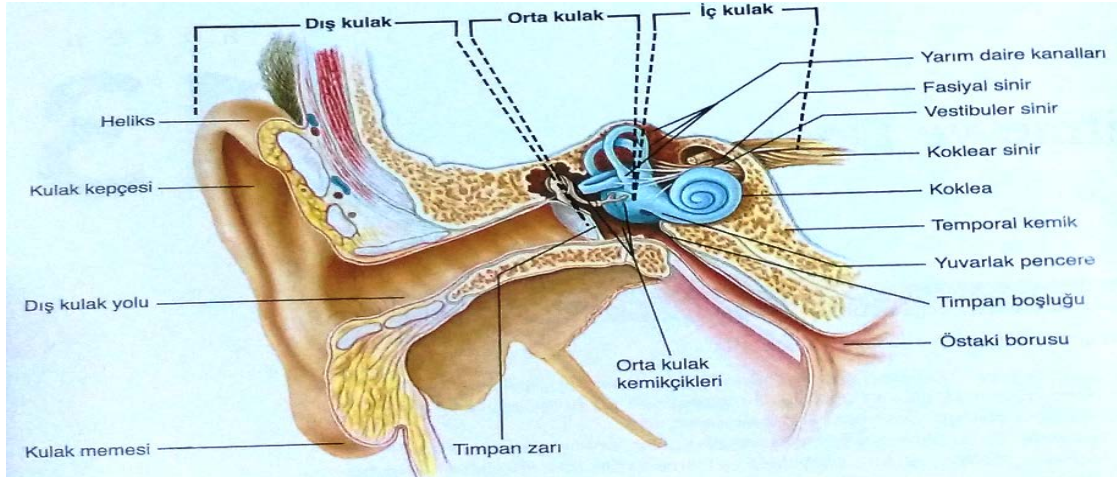
2.8. Ses, İşitme ve Kulak

Ses, titreşen cisimler tarafından oluşturulan mekanik dalgadır. Titreşen kaynaktan ortamın sıkışması ve gevşemesi ile ses iletilir. Öznel anlamda; uyanık insanın işitme (akustik) siniri uyarıldığında algıladığı duyumu tanımlamak için kullanılır. Nesnel anlamda ise akustik sinirimizi uyaraabilen hava basıncı dalgalarıdır. Hava titreşimleri kulağa ulaştığı zaman kulak zarının titreşmesine neden olurlar, bunlar sinir impulsları oluşturur ve beyin tarafından yorumlanırlar.

İşitme, ses dalgasının basıncındaki değişmelere kulaklardaki sinirlerin cevabı ile olur. Tüm mekanik titreşimler işitme duyusu oluşturmaz. Frekans bakımından insanın işitme aralığı yaklaşık 20 Hz - 20.000 Hz arasındadır. Bir sesin duyulup duyulmadığı, hem sesin gücüne (veya ses basıncı seviyesi) hem de titreşimin frekansına bağlıdır. Frekans, saniyedeki titreşim sayısını ifade eder. Ses şiddeti, ses dalgalarının havada yarattığı basınç olarak tanımlanır. Sesin şiddet düzeyine desibel (dB) denir. Uyaran şiddetinin istenilen düzeye ayarlanabilmesi için farklı referans birimleri kullanılmaktadır: Ses basıncı düzeyi (dB SPL), duyma eşiği (dB HL), normal duyma eşiği (dB nHL), hissetme eşiği (dB SL).

Bir sesi duyabilmemiz için belli bir seviyenin üzerinde olması gerekir. Bu seviyeye işitme eşiği denir. İnsanlar yaklaşık 0 dB işitme eşiğine sahiptir. Bu eşiğin üstünde, yüksek ses basıncı seviyelerine sahip sesler daha yüksek sesler olarak duyulur. İnsanlar 90 dB'nin üzerindeki seslere her gün maruz kalırlarsa, kalıcı işitme kaybına yol açabilir. Ses basıncı seviyesi 100 dB (rahatsızlık eşiği) üzerindeyse ciddi rahatsızlık hissedilir ve 130 desibelde ise (ağrı eşiği) acı verir.

Şekil 2-8'de görülen kulağın kısımlarından olan dış kulak sesleri toplar ve frekans bileşenlerini biçimlendirir, orta kulak akustik sinyali kemikçikler aracılığı ile iç kulağa iletir. İç kulak devam eden akustik sinyal üzerinde zamansal ve spektral analizler gerçekleştirir, işitsel yol bu sinyali iletir ve işler, serebral korteks ise sinyali yorumlar.



Şekil 2-8: İnsan kulağının dış, orta ve iç kısımlarının yapısı (52).

Dış kulak, öncelikle sesi toplayıcı olarak görev alır. Kulak kepçesi (pinna) çevresindeki seslere odaklanmaya, sesin lokalizasyonuna yardımcı olur. Ayrıca yapısal özelliği nedeni ile sesi filtreleme ve yükseltme görevi de vardır. Pinna ve dış kulak yolunun rezonans frekansları, 1500 ve 8000 Hz arasındaki konuşma sinyalinin önemli bileşenlerinden biridir.

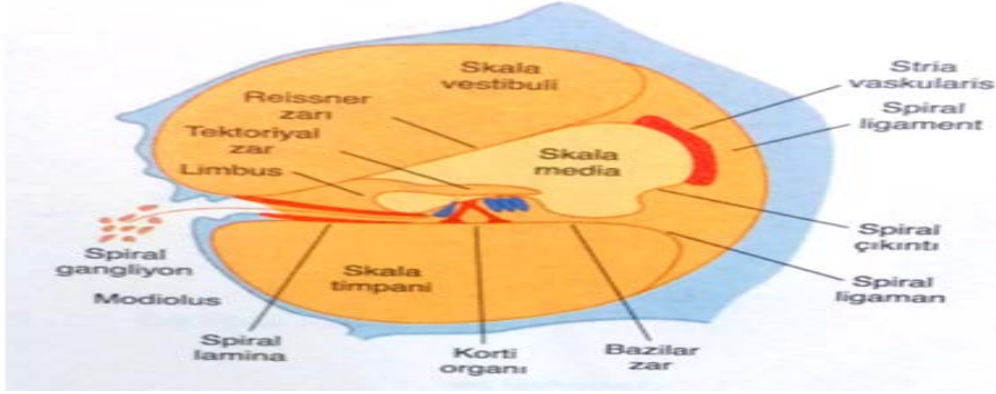
Orta kulağın ana yapıları timpanik membran (kulak zarı) ve kemikçiklerdir. Orta kulak hava dolu bir boşluk olup malleus, inkus ve stapes kemikçiklerini barındırmaktadır. Orta kulak mekanizması, empedans olarak adlandırılan enerji akışına karşı direncin üstesinden gelmek için tasarlanmıştır. Orta kulağın birincil işlevi; iki iletken sistemin, yani dış kulağın ve kendi hava ortamı ile iç kulaktaki kokleanın sıvı ortamından kaynaklı empedansını eşleştirmektir.

Empedans eşleştirmesinin ilk mekanizması, timpanik membran ve oval pencerenin alan parametresine değinilerek elde edilir. Kuvvetin dağıtıldığı alanın azaltılmasıyla basınç artırılabilir: Timpanik membran yaklaşık 55 mm^2 'lik bir yüzey alanına sahiptir, oval pencerenin alanı ise yaklaşık $3,2 \text{ mm}^2$ 'dir. Timpanik membrana ulaşan ses enerjisi oval pencerenin çok daha küçük alanına ulaşır ve yaklaşık 25 dB'lik bir artışa karşılık gelen 17:1 oranında bir kazanç sağlar. İkinci empedans eşleştirme fonksiyonu, malleusun uzun kolu farkı ile elde edilir. Timpanik membrana temas eden malleusun uzun kolu olan manubriumun uzunluğu yaklaşık 9 mm'dir, diğer yandan stapesin oval pencereye temas eden uzunluğu yaklaşık 7 mm'dir ve toplam 1,2 civarında bir kazanç sağlar. Bu kazançtan kaynaklanan kaldıraç etkisi yaklaşık 2 dB'dir. Timpanik

membranın titreşmesi ile burkulması sonucu üçüncü bir etki ortaya çıkar. Sese tepki olarak timpanik membran hareket ettikçe, malleusun kolu timpanik membranın yüzeyinden daha kısa bir mesafe taşır. Bu durum malleusun yer değiştirmesinin hızındaki bir azalmaya neden olur, sonuçta etkili sinyalde 4 ila 6 dB'lik bir kazanç sağlar. Orta kulağa gelen ses alan, kaldıraç ve burkulma etkileri yaklaşık 31 dB'lik bir sinyal kazanımı ile sonuçlanır (53).

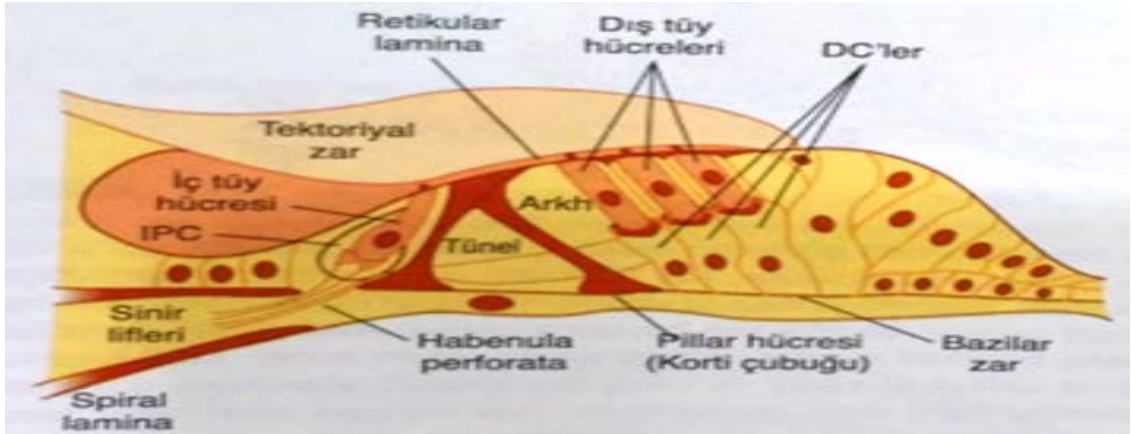
İç kulak gelen akustik sinyalin spektral ve temporal akustik analizlerini yapmaktan sorumludur. Spektral analiz belirli bir sinyalin çeşitli frekans bileşenlerini çıkarma veya tanımlama işlemidir. İç kulak kemik ve membranöz labirentten oluşur, işitme ve denge organlarını barındırır. Koklea, gelen bir sinyalin genlik ve frekans bileşenlerini hatta bu sinyalin temel zamansal yönlerini belirlemek için özel olarak tasarlanmıştır.

Koklea 35 mm boyunda ve iki tam üççeyrek sarmal yapan bir tüptür. Şekil 2-9'da görüleceği üzere baziler ve Reissner membranları kokleayı uzunluğu boyunca 3 skalaya böler. Sodyum iyonlarınca zengin perilenf içeren üstteki skala vestibüli ve alttaki skala timpani, kokleanın apeksinde yer alan ve helikotrema adı verilen küçük bir yapı aracılığıyla birbirleri ile bağlantılıdır. Kokleanın tabanında skala vestibüli, stapesin tabanı (foot plate) ile kapatılmış olan oval pencere ile sonlanır. Skala timpani yuvarlak pencerede son bulur. Kokleanın orta bölmesi olan skala media, zarsı labirent ile devam eder ve diğer iki skalayla bağlantısı yoktur. Skala timpani yuvarlak pencere, skala vestibüli ise oval pencere ile orta kulakla bağlantılıdır. Stapesin tabanı ile skala vestibüliye dolayısı ile kokleaya iletilen ses enerjisi ilk olarak perilenfi harekete geçirir. Perilenfteki bu hareket bazal membranda titreşime yol açarak akustik enerjiyi kortideki tüy hücrelerine iletilir. Bazal membranın en çıkıntılı olduğu yere korti tüneli adı verilir. Korti tüneli ve bazal membran içi potasyum iyonlarınca zengin endolenf ile dolu skala medianın tabanını oluşturur. (52, 54).



Şekil 2-9: Kokleanın 3 skalasının görüldüğü kokleanın enine kesiti (52).

İşitme reseptörleri olan tüy hücrelerini içeren korti organı baziler zar üzerine yerleşmiş yapıdır. Bu organ, kokleanın apeksinden tabanına uzanır ve spiral şeklindedir. Tüy hücrelerinin uzantıları korti çubukları veya pillar (sütun) hücreleri tarafından desteklenen membrana benzer retiküler laminayı delerek geçer. Tüy hücreleri dört sıra halinde dizilmiştir. Dış tüy hücrelerinin üç sırası kortinin çubukları tarafından oluşturulmuş tünelin lateralinde ve iç tüy hücrelerinin bir sırası tünelin medialindedir. Dıştaki tüy hücrelerinin uçları elastik tektoriyal zara gömülüyken iç tüy hücreleri gömülü değildir. Tüy hücrelerinin uzantıları endolenfe gömülü iken tabanları perilenfe gömülüdür (Şekil 2-10). Baziler zar üzerinde 10.000 – 20.000 dış ve 3500 iç tüy hücresi mevcuttur. Her tüy hücresinin yaklaşık 80 stereosiliyası vardır (52).

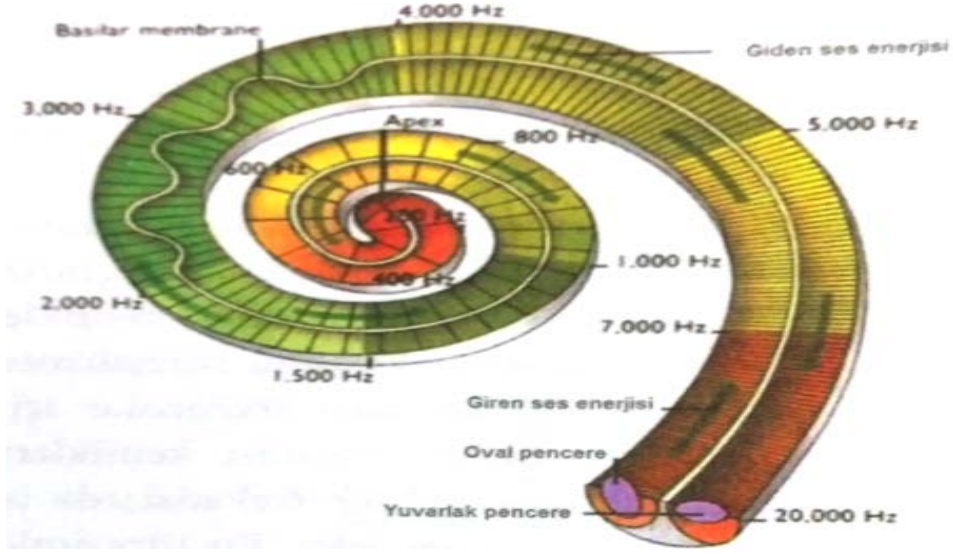


Şekil 2-10: Kokleanın taban dönüştünde görülen biçimiyle korti organının yapısı (52).

Tektorial membran ile tüy hücrelerinin sürtünmesi sonucunda oluşan elektriksel kutuplaşmalar, tüy hücrelerinin uyarılmasına yol açar. Uyarım sonucu meydana gelen enerji yolu ile sinir uçları uyarılmış olur. Kokleada dört ayrı tip potansiyel mevcuttur:

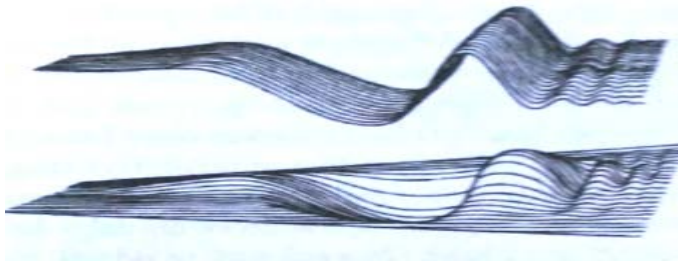
İstirahat potansiyeli; koklea uyarılmadığı zaman bile mevcut olan elektriksel potansiyellerdir. Kokleada iki tip istirahat potansiyeli mevcuttur, birincisi intraselüler potansiyel olup tüy hücrelerinin iç kısmında ölçülen potansiyellerdir ve -60 mV değerindedir. İkinci potansiyel ise endokoklear potansiyel olup, skala mediadaki endolenf perilenfe göre +80 mV 'luk bir elektriksel gerilime sahiptir. Böylece tüy hücresi zarının dış ve içi arasında 150 mV civarında potansiyel farkı olur. Koklear mikrofoni; yuvarlak pencereye yerleştirilen elektrotlarla ölçülebilen, işitsel uyarılara tepki şeklindeki potansiyellerdir. Birikim potansiyelleri, koklea içerisinde ses iletim dalgasının en büyük olduğu bölgeden elde edilir. Aksiyon potansiyelleri; işitsel uyarı iç kulaktaki iletim dalgalarından sonra elektriksel gerilimlere dönüşür ve işitme sinir liflerinin bir grubunda aksiyon potansiyelleri olur (54).

Georg von Bekesy baziler membranın, giriş sesinin titreşim frekansına doğrudan karşılık gelen dalga hareketini desteklemek için özellikle iyi tasarlanmış olduğunu keşfetti. Spesifik olarak yüksek frekanslı sesler iç kulağa ulaştığında, baziler membranın kokleaya yakın bazal ucunun titreşimine neden olur. Düşük frekanslı sesler, baziler membran boyunca daha büyük bir mesafe kaplayan apekse doğru uzanan uzun bir dalga ile sonuçlanır. Bu şekilde karmaşık seslerin frekans bileşenlerini ayırır çünkü tonotopik organizasyona sahiptir. Yani yüksek frekanslı sesler bazal bölgelerde işlenirken, düşük frekanslı sesler apekte işlenir. Bir ses hem yüksek hem de düşük frekanslı bileşenlere sahip olduğunda, bu bileşenler baziler membranın ilgili bölümlerinde ayrılır ve işlenir. von Bekesy deneylerinde baziler membranın bazal ucunun apikal uçtan daha sert olduğunu ve sertliğin bazaldan apekse kadar kademeli bir şekilde azaldığını ortaya koymuştur (Şekil 2-11). Bir yapının kütlesi arttıkça, rezonans frekansı azalır. Baziler membran tabandan apekse genişler ve daha büyük bir kütle haline gelir. Baziler membran bazaldan apekse giderek daha geniş bir alana yayılır. Bu üç bileşen; kademeli sertlik, kademeli kütle, kademeli genişlik baziler membranı mükemmel bir frekans analizörü yapar (53).



Şekil 2-11: Baziler membranının tonotopik organizasyonu (54).

Timpanik membranın hareketi stapes taban plakasının ve skala vestibüldeki sıvının hareketine neden olur. Skala vestibüldeki akışkanın sıkıştırılması doğrudan baziler membranı etkiler ve ilerleyen bir dalgayı başlatır (Şekil 2-12). Bu durumda baziler membran sıvı akışına doğru çıkıntı yapan kambur hale gelir. Bernoulli ilkesi daralmada, akışkanın akış hızının artacağını belirtmektedir. Maksimum uyarım noktasında sıvı, moleküllerin hareketiyle bir girdap veya türbülansa neden olur ve sıvı maksimum uyarım noktasında daha çalkantılıdır. Bu durum tüy hücrelerinin bu noktada diğer daha az çalkantılı konumlara göre daha fazla uyarılması anlamına gelir (53).

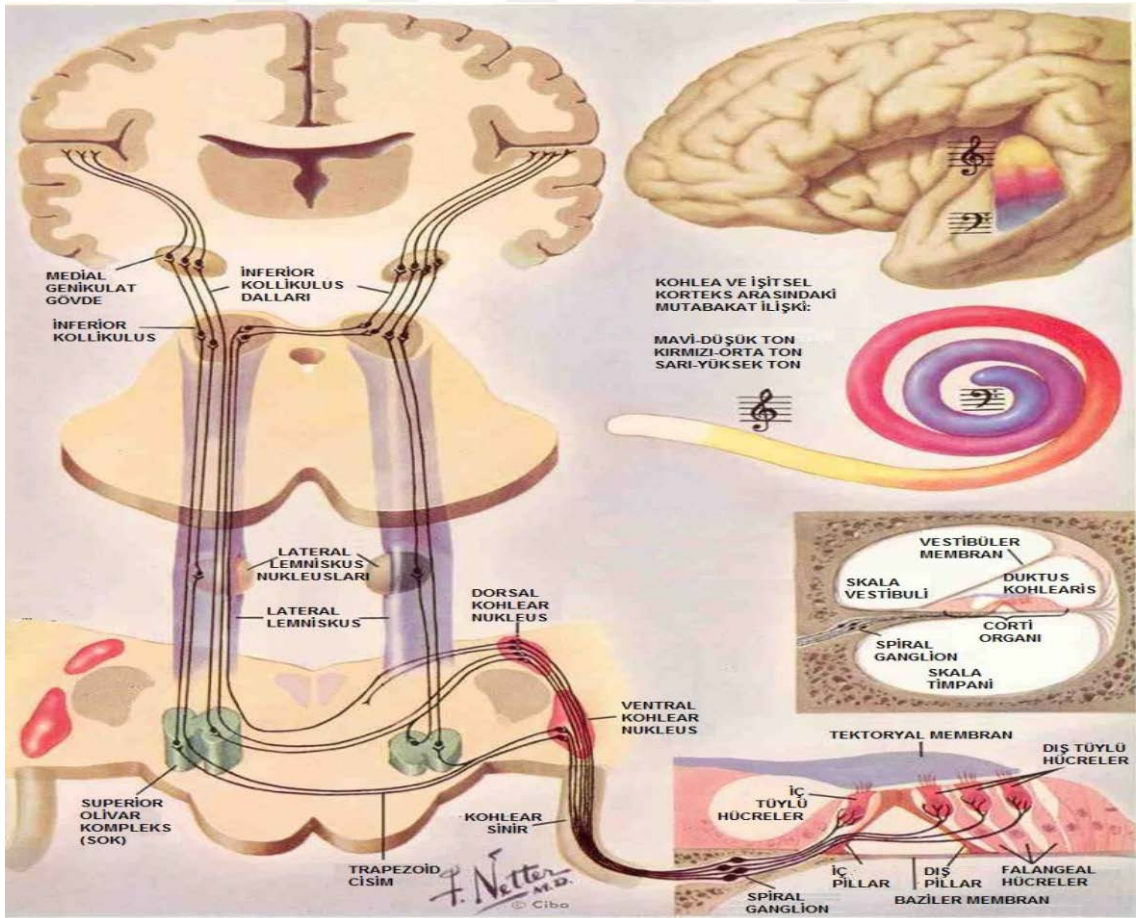


Şekil 2-12: Baziler membranının ilerleyen dalga hareketi (54).

Baziler membrandaki maksimum hareket noktası beyne iletilen frekans bilgisini belirler. İlerleyen dalga maksimum noktasını bulduktan sonra hızla söner. Dış tüy hücrelerinin uyarılması esas olarak baziler membranın hareketi ile olur. İç tüy hücrelerinin uyarılması sıvı akışının ve endolenfin türbülansının etkisiyle olur.

Koklea hem bir spektrum analizörü hem de bir transdüserdir. Korti organının bileşenlerinin mekanik özellikleri spektral analiz sağlar. Tüy hücrelerinin uyarılması, kokleaya gelen mekanik enerjinin elektrokimyasal enerjiye dönüştürülmesini sağlar. Sinir sisteminin diğer nöral bileşenlerinde olduğu gibi tüy hücreleri de bilgi iletmek üzere tasarlanmıştır. Baziler membran, skala vestibüliye doğru yer değiştirdiğinde tüy hücreleri aktive edilirken baziler membran, skala timpaniye doğru yer değiştirdiğinde tüy hücrelerinin elektriksel aktivitesi inhibe edilir. Her bir tüy hücresinin iyon transdüksiyonu için yaklaşık 100 kanalı vardır. Tüy hücreleri mekanik olarak saptırıldığında kanallar açılır. Tüy hücresinin tabanında aktif bölge vardır. Nörotransmitter glutamat, tüy hücresinin depolarizasyonu sonucu burada serbest bırakılır ve işitme siniri olan VIII. sinir lifine sinyal iletimini sağlar (53).

Sinir liflerinin taşıdığı bilgiler, işitsel yol üzerinde birçok istasyona uğrayarak işlenir (Şekil 2-13). Santral işitme sisteminde her iki kulaktan gelen sinyaller, beynin her iki hemisferinde yer alan işitsel kortekse iletilir.



Şekil 2-13: Santral işitsel yollar

Koklea ve VIII. sinir, işitsel sinyale ait bilgi iletiminin ilk aşamasını temsil eder. Korti organındaki işitme tüy hücrelerinden çıkan sinir lifleri primer işitme nöronu olan spiral ganglion hücreleri aracılığıyla koklear nükleuslara iletilir. Santral işitme sistemi, işitme sinirinin koklear nükleuslara girdiği yerden başlar. Koklear nükleuslardan başlayan ipsilateral yol superior olivary komplekse doğru devam eder. Bu yapı koklear nükleustan gelen işitsel bilginin entegrasyonunda önemli bir fonksiyona sahip olup, her iki kulaktan gelen işitsel bilginin ilk karşılaşma yeridir ve sesin lokalizasyonunun birincil bölgesidir. İşitsel bilgiyi lateral lemniskus aracılığı ile inferior kollikulusa aktarır. Inferior kollikulusta, zamana ve şiddete duyarlı yanıtlar dahil olmak üzere geniş bir dizi yanıt görülmektedir. Inferior kollikuluslar, koklear nükleuslardan gelen frekans bilgilerinden, superior olivary kompleks tarafından lokalizasyon işleme amacı ile ayrılan faz ve şiddet bilgilerinin tekrar birleştirildiği alandır.

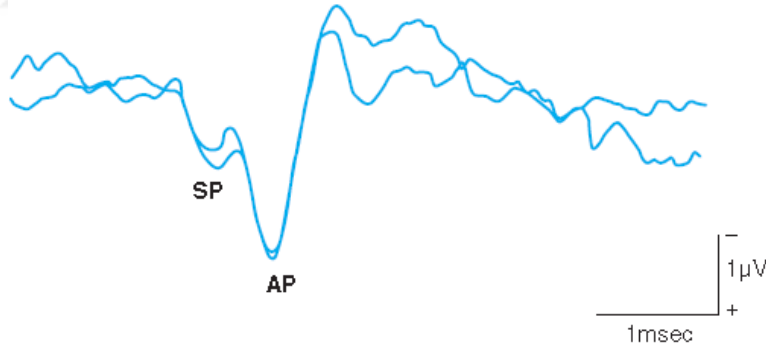
Medial genikulat cisim beyin sapındaki son ara istasyon için aktarma noktası olup talamusta yer alır. Medial genikulat cismin ventral kısmı bilgiyi direkt olarak temporal lobda bulunan primer işitsel alana, medial kısmı temporal lobun diğer kısımlarına, dorsal kısmı ise bilgiyi beynin ilişkilendirme bölgelerine gönderir. Serebral korteks uyarıyı primer olarak kontralateral kulaktan, ipsilateral medial genikulat cisim aracılığı ile alır. İşitsel korteks duyulan seslerin analizi ve gelen işitsel uyarının özelliğine göre onlara yön verilmesi konusunda görevlidir. Özetle, işitme sisteminde temporal ve tonotopik olarak hazırlanan işitsel bilgi hızla üst merkezlere iletilir ve oldukça karmaşık bir yapıya sahip olan santral işitme sistemi aracılığıyla analiz edilir, tanımlanır, yorumlanır ve gelen uyarının özelliğine göre yön verilir (54).

2.9. İşitsel Uyarılmış Potansiyeller

Beynin bir ses uyarısına verdiği cevaba ait küçük elektrik voltajları veya potansiyellerini bilgisayar ortalamasını alarak çıkarmak mümkündür. Bu elektriksel olaylar karmaşıktır ve uyarılmanın başlamasından sonra oldukça geniş bir zaman aralığında gözlenebilir. İşitsel uyarılmış potansiyel (İUP), sese cevap olarak merkezi işitsel sinir sisteminin belli bir kısmının elektrofizyolojik fonksiyonunu yansıtan bir dalga şeklindedir.

İUP'lerin sınıflandırılmasında en sık kullanılan yöntemlerden biri, ortaya çıktığı latans (gecikme) periyodu ile ilgilidir. İUP'ler, gözlemlendiği latans aralıklarına dayalı olarak erken, orta ve geç latanslar olarak kategoriye ayrılır. Erken latanslar işitme siniri ve beyin sapındaki anatomik bölgeleri, orta latans cevapları talamokortikal yollar, geç latans cevapları ise işitsel korteks fonksiyonları hakkında bilgi verir.

Erken latanslar Elektrokokleografi (EcochG) ve İşitsel Beyin Sapı Cevapları (Auditory Brainstem Response - ABR) yoluyla elde edilir. EcochG; kokleada ve koklear sinirde ortaya çıkan koklear mikrofoniğerler, sumasyon potansiyelleri ve 8. sinir kaynaklı bileşik aksiyon potansiyellerinin ölçüldüğü bir yöntemdir (Şekil 2-14).



Şekil 2-14: Normal elektrokokleogram. AP: Aksiyon Potansiyeli. SP: Sumasyon Potansiyeli (55).

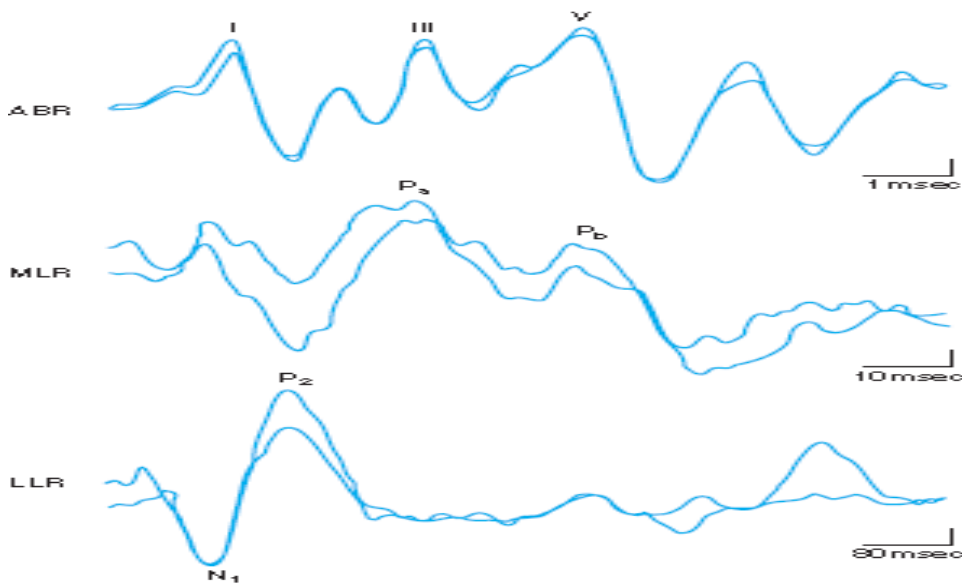
EcochG'nin en iyi kayıtları, kulak zarı yoluyla ve timpanik membrana yakın yerleştirilmiş kulak kanalında bir elektrotun kullanılmasıyla elde edilir. Bu tekniğin nispeten invaziv doğası nedeniyle ve EcochG işitsel sistemin sadece periferik fonksiyonunu ölçtüğü için, klinik kullanımı az sayıda ve özel teşhis uygulaması ile sınırlı kalmaktadır. Bununla birlikte elektrot yerleşiminin basitleştirildiği ameliyathane ortamında koklear fonksiyonun izlenmesi için çok faydalı bir yanıt olduğu da

kanıtlanmıştır. En yaygın olarak kullanılan uyarılmış potansiyel ABR olup sinyal başlangıcından sonraki ilk 10 ms içinde gerçekleşir. ABR, VIII. sinirden beyin sapına kadar nöral aktiviteyi yansıtmaktadır (54, 55).

Orta latans cevabı (MLR), başlangıçta işitme korteksinde veya yakınında sinyalin başlangıcını ve yansıma aktivitesini takip eden 50 ms içinde gerçekleşir. MLR, birbirini izleyen iki pozitif pik, ilki (Pa) yaklaşık 25 ila 35 ms ve ikincisi (Pb) uyarıcı sunumu takiben yaklaşık 40 ila 60 ms sonra oluşur. MLR, muhtemelen primer işitsel korteks ve kortikal alandaki bazı projeksiyonların birleşimiyle üretilir. MLR klinik hastaları kaydetmek için en zor İUP olmasına rağmen, bazen tanısal olarak ve işitsel işlemlenin tanımlanmasına yardımcı olarak kullanılır (54, 55).

Geç latans cevabı (LLR), ilk başlangıç ve serebral korteksin birleşik işitsel alanlarının yansıma aktivitesini takiben ilk 250 ms içinde gerçekleşir. LLR yaklaşık 90 ms'lik bir gecikme süresinde negatif bir zirve (N1), ardından uyarıcı takiben yaklaşık 180 ms de pozitif bir pik (P2) ile karakterize edilir. Nispeten normal işitme duyarlılığı olan çocuklarda veya yetişkinlerde, LLR'nin anormalliği veya yokluğu işitsel işleme bozukluğu ile ilişkilidir (54, 55).

EcochG, ABR, MLR ve LLR geçici potansiyel olarak bilinir ve tek bir uyarıcı sunumuna tepki olarak ortaya çıkarlar. Bir sonraki sinyalin sunulmasından önce yanıt biter. İşlem daha sonra tekrarlanır ve cevapların ortalaması alınır (Şekil 2-15).



Şekil 2-15: ABR, MLR ve LLR dalga morfolojileri (55).

İşitsel durgun durum cevabı (ASSR) olarak adlandırılan farklı bir uyarılmış potansiyel türü, devam eden uyaranda bir modülasyona veya değişime yanıt olarak beynin devam eden aktivitesinin değerlendirilmesiyle ölçülür. ASSR, kullanılan modülasyon oranına bağlı olarak beynin farklı bölümlerinden aktiviteyi yansıtır. Daha yavaş oranlardaki tepkiler beynin merkezi yapılarından yayılırken, daha hızlı oranlardaki tepkiler periferik işitsel sinir ve beyin sapı yapılarından yayılmaktadır (55).

İUP'ler çevresel ve merkezi işitsel sistemlerin bütünlüğünü değerlendirmek için nesnel bir cevap sağlar. Bu nedenle İUP'ler, küçük çocukların ve davranış testi sırasında işbirliği yapamayacak olanların işitme ölçümlerinde güçlü bir araç haline gelmiştir. Ayrıca işitsel sinir sistemi yapılarının işlevini ölçmede değerli bir tanı aracı olarak hizmet eder. ABR, VIII. sinir ve işitsel beyin sapı bozukluklarına oldukça duyarlıdır ve sıklıkla akustik tümörler ve beyin sapı bozukluklarının teşhisinde yardımcı olmak için radyolojik görüntüleme ile birlikte kullanılır.

Beyin bir sinirden diğerine küçük elektriksel impulslar göndererek bilgiyi işler. Bu elektriksel aktivite, kafa derisine elektrotlar yerleştirilerek ve beyin boyunca elektriksel potansiyellerde devam eden değişiklikleri ölçerek kaydedilebilir. Bu teknik elektroensefalografi veya EEG olarak adlandırılır ve uyarılmış potansiyelleri kaydetmek için temel oluşturur. EEG aktivitesinin pasif izlenmesi, beyni sabit bir aktivite durumunda çeşitli frekans ve genliklerin elektriksel potansiyelleri olarak ortaya çıkar. Kulağa bir ses verilirse beynin bu sese cevabı o anda ortaya çıkan çok sayıda elektriksel potansiyelin sadece bir değeridir. Uyarılmış potansiyel ölçüm teknikleri, devam eden elektriksel aktiviteden bu küçük sinyalleri çıkarmak için tasarlanmıştır. Temel olarak aynı anda bir uyarın bir kulaklığa verildiği zaman, bilgisayar sabit bir süre boyunca kafa derisine bağlı elektrotlardan elektriksel aktiviteyi ölçer. İşlem birçok kez tekrarlanır ve bilgisayar yanıtları ortalar. Bu periferik ve merkezi işitsel sinir sisteminin çeşitli yapılarından senkronize elektriksel aktiviteyi yansıtan bir dizi dalga formu ile sonuçlanır (55).

İUP'leri ölçmek için, elektrotlardan ilki vertekse veya alnın saç bitimine yakın bölgesine, diğer elektrot ipsilateral ölçüm yapılacak kulağın lobülüne veya mastoid kemiğine, toprak elektrot ise alın, yanak, kontralateral mastoid veya kulak lobülüne yerleştirilir. İşitsel bir sinyale ilişkin elektriksel potansiyeller, aynı anda meydana gelen diğer elektriksel aktivitelere kıyasla oldukça küçüktür. Elektrotlar tüm elektriksel

aktiviteyi toplar ve işitsel uyarımla ilgili aktivitenin diğer aktiviteden çıkarılması gerekir. İlgili süreç gürültüye veya sinyalden gürültü oranına (SNR) göre sinyalin arttırılması için tasarlanmıştır. İşitsel uyarılmış potansiyelin çıkarılması sürecindeki ilk adım, potansiyel arka plan gürültüsünün bir kısmını ortadan kaldıracak şekildedir. Kalan elektrik aktivitesi daha sonra orijinal voltajının 100.000 katına kadar önemli ölçüde yükseltilir (55).

İUP ile ilgili olmayan elektriksel gürültüyü azaltmada bir sonraki adım, EEG aktivitesini filtrelemektir. Beynin yapılarından çıkan elektriksel potansiyeller çok çeşitli frekansları kapsar. İşitsel uyarılmış potansiyellerin her biri için, bu uyarılmış potansiyelin özelliği olanları çevreleyen sadece dar bir frekans bandı önemlidir. Örneğin, işitsel beyin sapı tepkisi yaklaşık 1 milisaniyelik aralıklarla meydana gelen, I'den V'e kadar olan dalgalar olarak bulunan beş ana pik noktasına sahiptir. Her 1 ms'de tekrarlanan herhangi bir dalga formu 1000 Hz'lik bir frekans bileşenine sahiptir. Benzer şekilde, ABR'nin en büyük pik noktaları 2 ms aralıklarla meydana gelen I, III ve V'dir. Her 2 ms'yi tekrarlayan herhangi bir dalga formu, 500 Hz'lik bir frekans bileşenine sahiptir. Filtreleme ile bu frekansların üstünde ve altında meydana gelen elektriksel aktiviteye odaklanılır. Sinyali farklı şekilde amplifiye ettikten ve ilgilenilen frekanslar etrafında odaklandıktan sonra bile, işitsel uyarılmış cevaplar beyin devam eden elektriksel aktivitesinin arka planında gömülü kalır. Sadece bu potansiyellerin etkin bir şekilde çıkarılabileceği yanıtının ortalama sinyalini alır. Bir ses ve arka plan gürültüsü arasında dB'deki fark, sinyal gürültü oranı olarak adlandırılır. Yanıtı arttırmak için tasarlanan EEG aktivitesinin örneklerinin ortalaması, sinyal ortalama olarak adlandırılır. Sinyal ortalama, gürültünün arka planından sinyal alan bir tekniktir. Sinyal ortalamasının amacı işitsel uyarılmış potansiyeli ortaya çıkarmaktır (54, 55).

Elektrotlardan elektriksel aktivitenin kaydedildiği zamanla aynı anda kulaklığa bir uyarın verilir. Uyaran daha sonra tekrarlanır. Örneğin bir ABR kaydı yapılırken, bir uyarın sunulur ve uyarın başlangıcından sonraki 10 ms elektrik aktivitesi kaydedilir. Daha sonra başka bir uyarın sunulur ve bir başka 10 ms'lik elektriksel aktivite kaydedilir. Bu işlem 1000 ila 2000 defa tekrarlanır. Sayı arttıkça arka plan gürültüsü azalır ve dalga şekli giderek daha belirgin hale gelir. Bu sinyal ortalamalarının tümü işitsel sinir sistemi yapılarının aktivitesini yansıtan bir dalga formu veya dalga

morfolojisi olacaktır. Dalga formu, bir cevabın normalliğini yorumlamak için işlev gören bir dizi pozitif ve negatif pike sahiptir (54, 55).

İUP'lerin elde edilmesinde kullanılan uyaranlar click, tone burst ve özel şartlar için tasarlanmış uyarılar olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Click uyaran, dikdörtgen şeklindeki ve süresi 100 ve 200 μ s arasında değişen elektrik pulsu tarafından ses üreticinden üretilen uyarandır. Click uyaran geniş bir frekans spektrumuna sahip olmasına rağmen; uyarının amplitüdü, ses üreticinin elektroakustik özellikleri, dış kulak yolu ve orta kulağın ses iletim özellikleri ile kokleanın bütünlüğü gibi faktörlerin etkisi ile 2-4 kHz bölgesini uyarmaktadır. Frekansa özgü ABR kayıtları yapabilmek için kısa süreli tonal uyarılar kullanılır. Bu tip ses uyarıları tone burst olarak adlandırılır. Yalnızca bir frekanstan oluşan tone burst uyaran ile kokleanın sadece istenilen frekans bölgesi uyarılmış olur. Kısa süreli tone burst uyaranlar istenmeyen frekanslara da enerji taşıyarak uyarının tek bir frekansa spesifik olma özelliğini ortadan kaldırır. Üretilen elektriksel uyarı sese çevrilmeden önce matematiksel olarak işlenir. Uyarının frekansını sabit tutan ve istenmeyen frekansları olabildiğince ortadan kaldıran özel şartlar için tasarlanmış uyarılar mevcuttur (56).

Elektrik pulsu ses üreticine gönderildiğinde elektromıknatısta manyetik alan oluşumuna yol açar. Bu manyetik alan mıknatısın hemen önünde bulunan diyaframı ileriye doğru iter veya geriye doğru çeker. Ses üreteçlerindeki diyaframın bu hareketi havanın yer değiştirmesine neden olur ve ses dalgalarını meydana getirir. Ses üreticinde negatif bir elektrik pulsu kullanılırsa, diyafram kulak zarından uzaklaşır yönde geriye doğru yani dış kulak yoluna doğru çekilir. Bunun sonucunda dış kulak yolu ve orta kulakta negatif basınç dalgaları meydana gelir ve koklea etkilenir. Bu tip uyarana rarefaction puls adı verilir. Pozitif bir elektrik pulsu ses üreticinin diyaframı kulak zarı yönüne yani orta kulak yönüne doğru hareket ettirir. Bu tip uyarana da condensation puls adı verilir. Rarefaction ve condensation pulsların birbiri ardı sıra uygulanması ile alternating puls elde edilir. Alternating puls daha çok uyarıya bağlı artefaktların yok edilmesi amacı ile kullanılmaktadır (56).

2.9.1. İşitsel Beyin Sapı Cevapları (ABR)

ABR, sinyal başlangıcından sonraki ilk 10 ms içinde gerçekleşir ve bir dizi beş pozitif pikten oluşan dalga morfolojisi görülür. Dalga morfoloji, yanıtın tekrarlanabilirliği ve bileşen piklerinin tanımlanabilme kolaylığına bağlı olarak işitsel uyarılmış bir potansiyelin nitel tanımlamasıdır.

ABR, klinik olarak yararlı özelliklere sahiptir. Yanıtın yüzey elektrotlarından kolayca kaydedilmesi, dalgaların net olması, uyku, sedasyon, koma, vb. durumda olan hastalarda da kaydedilebilmesi, çeşitli dalgaların gecikme süreleri normalize edildiğinden kolayca yorumlanabilmesi gibi avantajlara sahiptir. ABR’de dalgalar arası zaman aralıklarının kokleadaki işitsel bozukluklarla uzaması, retrokoklear bozukluğa sahip bölgelerini ayırt edilmesinde faydalıdır. En belirgin bileşen olan V. dalganın davranışsal eşiklere çok yakın seviyelerde gözlemlenebilmesi bebeklerde, küçük çocuklarda ve test edilmesi güç olan diğer hastalarda da işitme duyarlılığının değerlendirilebilmesi gibi avantajları mevcuttur (55).

ABR, VIII. sinir ve işitsel beyin sapı fonksiyonunun bütünlüğünün hassas bir göstergesidir. Bu nedenle normal bir ABR'nin varlığı, nörolojik bir hastalık sürecinin varlığını göz ardı etmez. Sadece sürecin ölçülebilir bir işlevsel sonuca sahip olmadığını gösterir. Bununla birlikte anormal bir ABR'nin varlığı, nörolojik bozukluğun güçlü bir göstergesi olmaya devam etmekte ve retrokoklear hastalık teşhisinde hekime çok yardımcı olabilir (54, 55).

ABR dalgaları işitsel sinir ve beyin sapındaki yapılarla oluşturulur. I. dalga, sinir liflerinin kokleayı terk ettiği noktaya yakın olan VIII. sinirin distal kısmında, II. dalga beyin sapının yakınındaki VIII. sinirin proksimal kısmından, III. dalga ventral koklear nukleustan (CN), IV. dalga superior olivary kompleksten (SOC) meydana gelir. V. dalganın pozitif kısmı lateral lemniskus (LL), negatif kısmı inferior kollikulus (IF) kaynaklı oluşur (55). Bir ABR'nin normal olup olmadığına dair karar genellikle aşağıdaki hususlara dayanır: I-V interpeak aralığında interaural fark, I-V interpeak aralığı, V. dalga latansında interaural fark, V. dalga mutlak latansı, V / I genlik oranındaki interaural farklılıklar, V / I genlik oranı, büyük ölçüde bozulmuş dalga şekli morfolojisi.

2.9.2. Deneysel Hayvan Modelleri ve İşitmenin Değerlendirilmesi

Son yıllarda işitsel sistemin işlevi üzerine kemirgen modellerinde yapılan çalışmaların sayısında artış görülmektedir. Bu eğilim fazla sayıda etken maddenin, ilacın veya gürültü maruziyetinin periferik veya santral işitme sistemi üzerine etkilerinin kemirgenlerde deneysel tasarımlarının mümkün olmasındandır. Kemirgenlerde yapılan diyabet modellerinde hayvanlar (tansiyon, obezite genetik bozukluk vs durumları dışlanarak) salt diyabetin işitme kaybı üzerine etkisini değerlendirmek mümkün olmuştur. ABR kemirgenlerde işitmeyi değerlendirmek için çeşitli avantajlar sunmaktadır.

ABR dalgasının gecikmesi, işitsel yol boyunca iletim süreleri hakkında bir fikir verirken ABR genliği, nöral senkronizasyonun ve nöral birimlerin ateşlemesinin bir fonksiyonudur. Bu nedenle ABR dalga analizleri bu sinirsel işlevler hakkında teşhis bilgileri sağlayabilmektedir. ABR dalgalarının değerlendirilmesinde temel kriterler; latans, dalgalar arası latans farkları, amplitüd, (I-III, III-V, I-V) dalga oranları ve dalga morfolojisidir. Latans; uyarının başlangıcından yanıtı oluşturan dalga veya dalga kompleksinin pozitif ya da negatif tepe noktasının bulunduğu yere kadar geçen zaman dilimidir ve ms olarak ölçülür. Amplitüd; yanıtı oluşturan dalga formunun pozitif ve negatif tepe noktaları arasında kalan ve çeşitli şekillerde ölçülebilen dikey mesafeye denir, μV cinsinden ölçülür.

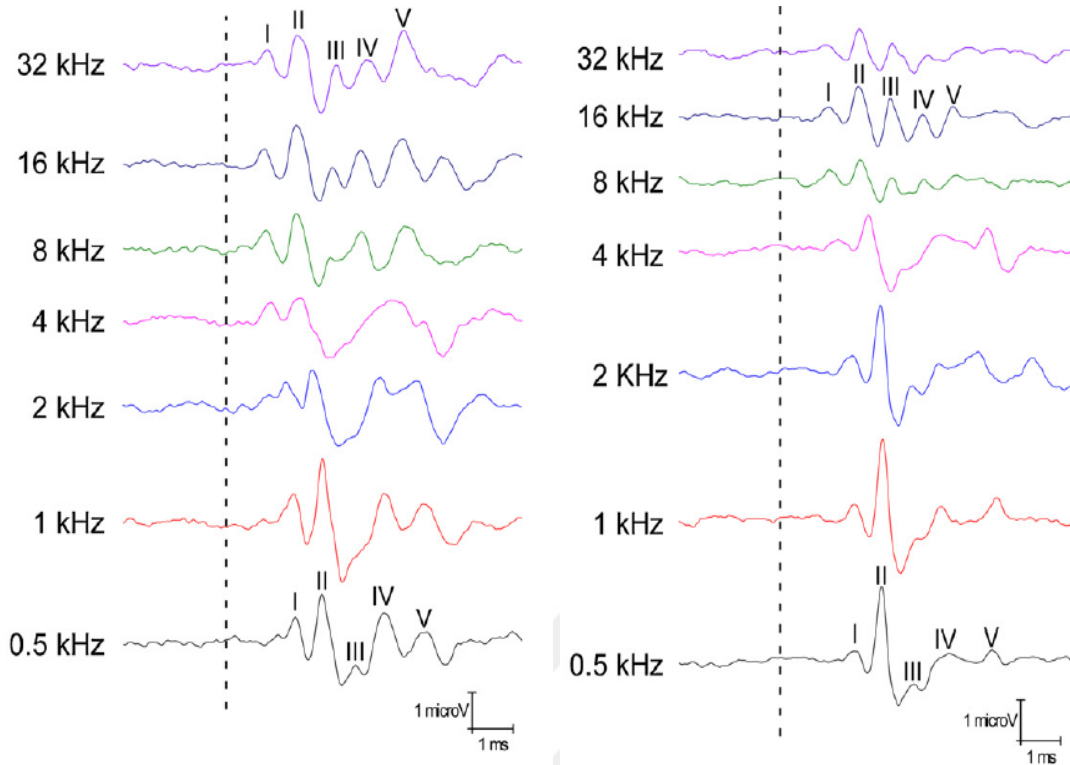
Birçok çalışmada kemirgen ABR'leri ve diğer memelilerin ABR'leri arasında belirgin farklılıklar bildirmiştir. Farede, posterior ventral CN II. dalgayı, anterior ventral CN III. dalgayı, SOC ve LL tarafından IV. dalgayı ve IC nöronal aktivitesinin cevaplarının V. dalgayı ürettiği öne sürülmüştür (57). Sıçanlarda IV. dalganın LL ve IC tarafından, V. dalganın ise medial genikulat cisim tarafından oluşturulduğu öne sürülmüştür (58). Radyofrekans lezyonlarına ait ABR bulgularında ise LL'deki lezyonların IV. ve V. dalgalarındaki değişikliklerle ilişkili olduğunu, IC'deki lezyonların ise, herhangi bir ABR dalgasını önemli ölçüde etkilemediği gösterilmiştir (59). Dolayısıyla farklı kemirgen türlerinde, ABR dalgalarının kaynaklarındaki farklılıkların, dalgaların şekli ve morfolojisinde fonksiyonel modifikasyonlara yol açması mümkündür.

Sıçanlarda, karşılaştırmalı olarak daha kısa olan sekizinci sinir, insanlarda I. ve II. dalgalara benzer olabilecek tek I. dalganın oluşmasına izin verebilir. Bu fikir

sıçanlarda I. dalganın iki bileşene ayrılabilceğini gösteren bulgularla tutarlıdır. Sıçanlarda II. dalga esas olarak CN kompleksinde üretildiği için insanlarda III. dalgaya benzer olabilir. Bu hipotez, sıçan ABR'sinde en belirgin olan II. dalganın insanlardaki en belirgin olan III. ve V. dalgalar gibi olduğunu açıklayabilir. Bu nedenle II. dalga sıçandaki diğer ABR dalgalarının belirlenmesinde bir referans olarak kullanılabilecek en uygun dalgadır. Sıçan ABR'sindeki III. dalga kaynağının SOC olduğu ve bunun insanlardaki IV. dalgaya benzer olduğu ileri sürülmüştür. İnsan ABR'lerinde gözlemlenen dalga formlarına benzer olarak; sıçan ABR, sadece II. dalganın büyük genliği ve III. dalganın küçük genliği tarafından tanınan ayırt edici bir morfolojik paterne sahiptir. Sıçan ABR'lerinin latans değerlendirilmesinde II. dalga ele alınmalıdır (60).

İnsanlarda I, III ve V. dalgalar en belirgin olan dalgalar ve latans gibi ABR parametrelerini ölçmek için sıklıkla kullanılırlar. III. ve V. dalgaların genlikleri en büyüktür ve bu nedenle işitme eşiklerini belirlemek ve kalan dalgaları tanımlamak için sıklıkla kullanılırlar. Şekil 2-16'da görüleceği üzere sıçanlarda ise II. dalga en büyüğüdür, III. dalga en küçük dalga olup düşük frekanslarda sıklıkla belirgin değildir. Genellikle III. dalga küçük bir dalga gibi görünen veya IV. dalgaya bitişik olan komplekslerin oluşumunda rol oynar. V. dalga ise sıçanlarda ABR parametrelerinin değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılmamaktadır (60).

Kemirgenlerin işitme frekans aralıkları insanlara göre oldukça farklıdır. Genel olarak fareler 1 ile 70 kHz aralığında işitsel uyarınları algılayıp tepki verirlerken, sıçanlarda ise bu durum 500 Hz ile 60–80 kHz arasında değişmektedir. Yetişkin sıçanların işitme sistemi 10 ile 50 kHz frekansları arasında olduğunu bildiren yayınlar da vardır (97, 98). Sprague Dawley cinsi sıçanlarda yapılan bir çalışmada ise 70 dB'de (SPL) sıçanların 250 Hz ile 80 kHz arasında bir işitme aralığına sahip olduğu bulunmuştur (99).



Şekil 2-16: Normal Wistar sıçanlarında 80 dB SPL'de iki farklı ABR kaydı örneği (60).

ABR parametreleri (eşik, dalga latansları ve amplitüdları) arasındaki ilişkisini ve ABR dalgalarının morfolojisinin yanı sıra bu parametrelerin değişik şekillerde nasıl değişebileceğini bilmek, diyabet komplikasyonu olarak işitme kaybı anormalliklerini tanımlamak için kullanılabilecek temel kriterleri oluşturmak açısından çok önemlidir.

2.10. Diabetes Mellitus ve İşitme Kaybı

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre dünya çapında yaklaşık 466 milyon işitme kayıplı birey olup bunların 34 milyonu çocuktur. 2050 yılına kadar 900 milyondan fazla kişinin işitme kayıplı olacağı tahmin edilmektedir. İşitme kaybı genetik nedenler, doğumdaki komplikasyonlar, bazı bulaşıcı hastalıklar, kronik kulak enfeksiyonları, belirli ilaçların kullanımı, aşırı gürültüye maruz kalma ve yaşlanma gibi nedenlerden kaynaklanabilir. Çocuklukta işitme kaybının % 60'ı önlenabilir nedenlerden kaynaklanmaktadır. 12-35 yaş arasındaki 1,1 milyar genç, eğlence ortamlarında gürültüye maruz kalması nedeniyle işitme kaybı riski altındadır. İşitme kaybının yıllık küresel maliyeti 750 milyar ABD dolarıdır. İşitme kaybını önlemek için yapılacak etkin müdahaleler maliyete ve bireylere büyük faydalar sağlayabilir. İşitme kaybı olan kişiler erken teşhisten yararlanıp; işitme cihazlarının, koklear implantların ve diğer yardımcı cihazların kullanılması ile eğitim ve sosyal destek alınmasıyla da, işitme kaybı rehabilite edilerek, toplumsal hayata kazandırılması sağlanır (61).

Amerikan Diyabet Derneği'ne göre, Amerika'nın en yaygın sağlık sorunlarından ikisi diyabet ve işitme kaybıdır. ABD'de yaklaşık 30 milyon kişi diyabet hastası ve tahmini 34,5 milyon kişi de işitme kaybına sahiptir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda diyabetli kişilerde işitme kaybının diyabet olmayanlara göre iki kat daha yaygın olduğu bulunmuştur. Ayrıca prediyabete sahip ABD'de 84 milyon yetişkinin işitme kaybı oranı, normal kan şekeri olanlara göre yüzde 30 daha yüksektir. Şu anda diyabet ile işitme kaybının nasıl ilişkili olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Diyabet nedeni ile yüksek kan glikoz düzeylerinin iç kulaktaki küçük kan damarlarına hasar vermesi ile ilişkili olması muhtemeldir. Diyabet gözlere ve böbreklere benzer şekilde zarar vermektedir. Diyabetli kişilerin işitme kaybı oranının yüksek olduğunu bulmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. İşitme kaybı belirtileri yavaş yavaş olduğundan, genellikle fark etmek zor olabilir (62).

İşitme kaybı genellikle iletim, sensörinöral ve mikst tip olarak sınıflandırılır. İletim tipi işitme kaybı, ses dalgalarını iç kulağın sıvılarına ulaşmasını engelleyen dış veya orta kulak yapılarındaki patolojik değişikliklerden kaynaklanır. Sensörinöral işitme kaybı, koklea veya işitsel sinir gibi iç kulak yapılarının patolojik değişikliklerinden kaynaklanır ve sinirsel impulsların beynin işitsel korteksine iletilmesini engeller.

Sensörinöral işitme kaybı konjenital olabilir veya yüksek sese, ototoksik maddelere, kulak hastalıklarına veya hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabet gibi sistemik hastalıklara uzun süreli maruz kalma nedeniyle edinilebilir. Mikst tip işitme kaybı ise diğer iki tip kaybın birlikte görülmesi sonucu oluşur. Bununla birlikte renal, göz ve periferik sinir sistemlerini etkileyen, bilinen mikrovasküler komplikasyonlara kıyasla diyabetin işitme kaybı üzerindeki etkisi yakın zamana kadar iyi tanınmamıştır.

Diyabetle ilişkili işitme kaybı kokleayı etkileyen mikrovasküler ve nöropatik değişikliklerle ilişkili görünmekte olup, altta yatan etiyoloji belirlenmemiştir. Koklea temporal kemiğin derinliklerine oturduğundan, damar veya sinir yapılarında anormalliklerin varlığını doğrulamak için kokleayı doğrudan veya dolaylı olarak incelemek mümkün değildir. Hayvan çalışmalarından ve otopsilerden elde edilen histolojik bulgular, akustik sinir ve spiral gangliyon hücrelerinin diyabetle ilişkili anormalliklerini ve koklear tüy hücrelerinin perfüze olan iç işitsel arterin kılcal damarlarında gösterilmiştir.

Diyabet sonuçta enerji metabolizmasının bir bozukluğu olup mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve vücut dokularında glikolize ürünlerin birikimine doğru uzanan metabolik işleyişteki bozuklukları kapsar. Diyabetli zarar görmüş metabolizma işitsel fizyolojiye ve sonuçta işlevine zarar veren bir yol sağlayabilir. Diyabet ile birlikte meydana gelen işitme kaybında sorumlu olan mekanizma hakkında fizyolojik makul teoriler vardır: Mikroanjiyopati, AGE ve oksidatif stres gibi (63).

DM'li hastalarda yavaş başlangıçlı bilateral, simetrik ve progresif yüksek frekanslı sensörinöral işitme kaybı mevcuttur. İlk olarak Jordao 1857'de diyabet ve işitme kaybı arasındaki ilişkiyi bildirmiştir. Klinik çalışmalarda, DM ve işitme kaybının ilişkisi tartışılmakta ve halen bir tartışma konusu olmaktadır. DM'de işitme kaybı insidansı % 93'e kadar tahmin edilmiştir. Bununla birlikte bazı araştırmacılar işitme kaybının DM'li hastalarda normal kontrollere göre daha yaygın olmadığını gösteren kanıtlara işaret etmektedir. İnsan popülasyonlarındaki işitme kaybı için yapılan klinik araştırmalar esas olarak saf ses odyometrisi ile işitme eşiğini belirlenmesine yöneliktir. Geleneksel işitme eşiği testleri işitsel uyarılmış yanıtın gecikmesinden, işitsel işlev kaybının başlangıç evrelerini saptamaya yetecek kadar duyarlı değildir (64).

Bainbridge ve arkadaşlarının Amerika'da 1999–2004 yılları arasında 40-69 yaş arasındaki diyabetli ve sağlıklı 1508 katılımcının odyometri testinde saf ses ortalaması

olarak düşük / orta (500, 1000 ve 2000 Hz) ve yüksek (3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz) frekanslarda 25 dB HL'ye göre değerlendirdikleri çalışma sonuçlarına göre diyabetli olanların sağlıklı kontrollere göre düşük / orta frekanslarda işitme kaybı oranını %100, yüksek frekanslarda ise % 67 arttığını bulmuşlardır. Aynı kişilerde HbA1c düzeyleri ile işitme kaybı ilişkisine göre diyabetli kişilerin düşük / orta frekans işitme kaybı oranının kontrollere kıyasla anlamlı derecede arttığı ($p=0,001$) ancak yüksek frekanslarda anlamlı bulunmadığını bildirmişlerdir (65).

Sunkum ve arkadaşları diyabetli kişilerde yaptıkları çalışmada diyabetik popülasyonun diyabetik olmayan popülasyondan daha kötü işitme eşiğine sahip olduğunu, diyabet süresi ile işitme kaybı arasında doğrudan ilişkinin olduğunu bulmuşlardır. İyi kontrollü ve komplikasyonsuz diyabetiklerle karşılaştırıldığında ise kötü kontrollü ve komplike diyabetli hastaların yüksek frekanslı işitme kaybına daha fazla sahip olduğunu bildirmişlerdir (66).

T1 DM'li hastalarda yapılan ABR analizinde, III. ve V. dalgaların latans süresinin kontrollere göre anlamlı olarak daha uzun olduğu gösterilmiştir. Ancak işitme kaybı riskinin hafif ve subklinik olabildiği, merkezi ve periferik işitsel yolların özellikle de ilk olarak sinyal transdüksiyon etkinliğinin T1 DM'de yavaşladığı bildirilmiştir (67).

Dalton ve arkadaşları ise aksi bir durumu belirterek T2 DM süresi ve glisemik kontrol ile işitme kaybı arasında ilişkinin olmadığını, T2 DM ve nefropati nedeniyle işitme kaybının oluşabileceğini bildirmişlerdir (68).

T1 DM hastalarında ve hayvan çalışmalarında diyabet ile hipertansiyonun birlikte sensörinöral işitme kaybı ve koklear tüy hücre kaybında etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca diyabetli bireylerde sensörinöral işitme kaybının diyabet olmayanlara göre daha erken görüldüğü de bildirilmiştir (69).

Diyabetik sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada ise işitme kaybına yönelik herhangi bir histopatolojik değişiklik bulunamamıştır (70).

Nöropati, anjiyopati ve her ikisinin kombinasyonu diyabetin işitme kaybının altında yatan patolojisi olabilir. Koklear uç damarların mikrosirkülasyonundaki bozukluklar belirgin bir etiyolojik faktör olabilir. Küçük intranöral damarların tutulmasına sekonder gelişen VIII. sinir iskemisi, bazı diyabetik hastalarda etiyoloji olabilir. Endolenfatik kese çevresinde bulunan vasküler kalınlaşmanın, endolenfte

toksik atık ürünlerinin birikmesine bu durumda işitme tüy hücrelerinde fonksiyon bozukluğuna neden olabileceğini de düşündürmektedir. Hücre içi hiperglisemi, glikoz nakli için insülin gerektirmeyen bazı dokularda (örneğin sinir, mercek, kan damarları ve böbrek) oluşur. Bu durum mikroanevrizmalara yol açarak diyabetik nöropatinin ortaya çıkmasına neden olur (71).

Yüksek glikoz seviyesi sorbitol yolağı tutulumu ve AGE birikimi ile dış tüy hücreleri ve spiral gangliyon nöron atrofi kayıpla koklear disfonksiyonuna neden olur ve iç kulaktaki koklear lateral duvarların dejenerasyonu ile iç kulağın fonksiyonunu değiştirebilir. DM'de görülen hiperglisemik durum, işitsel bilgi işlemlerin hızındaki yavaşlamaya neden olduğundan işitme bozukluğu ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca hiperglisemi kokleadaki tüy hücrelerinde programlanmış hücre ölümü (apoptoz) oranının artmasına da neden olmaktadır (72).

Nöronlardaki aksonların miyelin kılıfının ana işlevi impulsların sinirdeki iletim hızını arttırmasıdır. Miyelin bozulduğunda sinir boyunca sinyallerin iletilmesi gecikebilir ve sinir sonunda sönümlenebilir. İşitsel sinirde demiyelinizasyon işitme bozukluğu olan insanlarda bildirilmiştir (73).

ABR'nin belirli dalgalarındaki latanslarda uzama, diyabetik hastalarda nöral iletkenliğin anormal olduğunu yani bu dalgalarda latans uzamalarının işitsel yoldaki sinir iletim hızındaki yavaşlamayı yansıttığı ileri sürülmüştür. ABR dalga latansı uzamalarında anormal bir artış bulunması işitme bozukluğunun altında yatan ve muhtemelen periferik diyabetik nöropati ile aynı patogeneizde olan işitsel bir nöropatiye yol açılmasına neden olmaktadır (64).

DM hastalarında yapılan çalışmalarda ABR dalga amplitüdlerinin önemli ölçüde azaldığı ve ABR'nin eşik değerlerinin normal deneklerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (74, 75).

NO, baziler membran ve spiral gangliyonunda bulunan damarlar ile iç ve dış tüylü hücreler dahil olmak üzere koklear kan damarlarında yer almaktadır. NO'nun korti organında birikmesi ile ATP uyarımı yaparak kokleadaki kan akışı artırımı ve antitrombotik aktiviteleri ile vasküler endoteliumun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Hiperglisemi, ilgili AGE'lerin PKC aktivasyonunu tetiklediği ve nitrik oksit sentaz (NOS) üretimini azalttığı zaman, NO'nun vazodilatör etkileri bozulmaktadır.

İşitsel sistem karmaşık sinyal işleme için glikoz ve yüksek enerji kullanımı gerektirir. Bu durum hiperglisemiye bağlı komplikasyonlar için kokleanın bir hedef organ olabileceğini düşündürmektedir. Kısa süreler için bile artmış glikoz maruziyeti, kokleayı hem anatomik hem de fizyolojik olarak bozabilecek bir metabolik kaskadı başlatır. Hipergliseminin, işitsel sistem işlevselliği için, muhtemel en ciddi negatif sonuçlarından biri mikroanjiyopatidir. Koklea özellikle stria vaskularis mikrovasküler yapılı bir organdır. Diyabetik kokleada artan endotel geçirgenliği nedeniyle, retiküler laminadaki perilenf ve endolenf arasında anatomik bariyerleri oluşturan sıkı hücresel bağlantılar kesilebilir ve koklear iyonik homeostaziyi tehlikeye sokabilir. Bu durum tüy hücrelerinin transdüksiyonu ile işitsel sinyal iletimini olumsuz etkilemektedir (76).

Hayvan modellerinden elde edilen sonuçlar, kokleaya yeterli kan akışının sağlanmasının koklear fonksiyon için kritik olduğunu ve kan akışındaki herhangi bir azalmanın koklear fonksiyonunda karşılık gelen bir azalmaya sahip olacağını göstermektedir. Bu dolaşım sistemi patolojisi işitmeyi birkaç şekilde doğrudan etkileyebilir: Vasküler fizyopatolojik mekanizmalardan biri kan viskozitesindeki artıştır. Kılcal kan akışının ve oksijen transferinin azalmasıyla doku hipoksisine neden olarak işitme kaybını başlatır. Stria vaskularis, spiral ligament ile birlikte lateral duvarı içerir. Kokleanın lateral duvar kan akışı kritik bir sıvı homeostazisine ve oksijenlenmesine sahiptir. Koklear mikro dolaşım vasküler geçirgenlikteki artış, iskemi ile bozularak endolenfatik iyon konsantrasyonunda bir dengesizliğe yol açar. Kan perilenf bariyeri, elektrolitlerin ve küçük nötr moleküllerin girişini kısıtladığı için kan-beyin bariyeri ile morfolojik ve fizyolojik benzerlikleri paylaşır. Stria vaskularisin kılcal damarının etrafındaki endotelyal bariyer bozulmasında oksidatif stresin rol oynadığını ve işitme bozukluklarına neden olduğu gösterilmiştir. Tüm bunlar kokleadaki kan dolaşımının işitme fonksiyonu için kritik bir öneme sahip olduğunu göstermektedir (77).

Fujita ve arkadaşları gürültüye maruz bırakıldığında diyabetik kokleanın kontrollerden daha duyarlı olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca diyabet sonucu damarların sklerozuna bağlı koklear kan akımının azalması ve buna bağlı olarak spiral ganglion hücrelerinin kaybı diyabetik hastalarda işitme kaybının olası mekanizmaları olduğunu bildirmişlerdir (78).

p66 ile tetiklenen mitokondriyal ROS, NO biyoyararlanımını azaltır ve yüksek düzeyde reaktif peroksinitrit üretir. Bu durum bozulmuş vazorelaksasyona, oksidatif

hasar birikmesine ve vasküler inflamasyona yol açarak azalan kan akışına neden olur. Mitokondrilerde oksidatif stres altında p66 muhtemel redoks enzimi gibi işlev görerek önemli bir ROS kaynağı olarak görev alır. Hiperglisemide p66'ya bağlı ROS, NO kullanımını azaltarak endotel hasarını ve disfonksiyonu geliştirmektedir. p66, kemirgen kokleasının özellikle stria vaskularis ile spiral gangliyonunda eksprese edilir (79).

Mikroanjiyopati veya periferik nöropati bulgusu olmayan 63 T2 DM hastası kontrol grubu (37 kişi) ile karşılaştırıldığında, serumlarında protein oksidasyon ürünleri, nitrik oksit ve enzimatik antioksidan aktivitesi (glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz) anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Bu bulgular diyabete bağlı oksidatif stres ile işitme kaybı arasında bir ilişkinin varlığını ortaya koymaktadır (80).

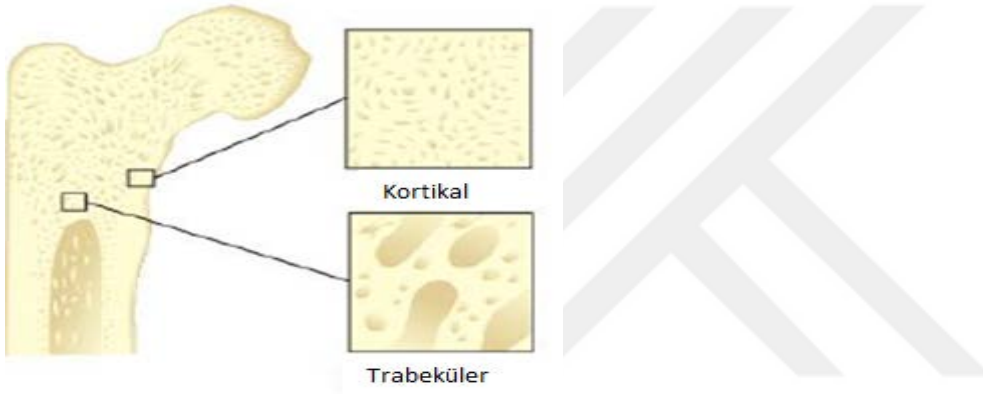
Diyabetik hastalarda mikroanjiyopati koklear hasarında önemli bir faktör olmasına rağmen gürültü, hipertansiyon ve hiperglisemik duruma bağlı olarak artan oksidatif stres gibi diğer hızlandırıcı faktörler ile sinerjik çalışarak stria vaskularis ve dış tüy hücrelerinde gözlenen apoptoz gibi patolojik değişikliklere neden olur (81).

Vasilyeva ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada orta yaş CBA/CaJ farelerinde STZ indüklü T1 DM ve yüksek yağlı diyetle T2 DM oluşturulmuş. 6 aylık süre boyunca iki ayda bir ABR ile değerlendirilmiş. Her iki diyabet türü için de ABR'de işitme eşiklerinde artış bulunmuş, ancak diyabet indüksiyonundan 2 ay sonrasında itibaren en çok artış T2 DM'de görülmüştür (82). Diyabetik farelere verilen kahve ekstraktlarının kontrollere kıyasla ABR'de işitme eşik değerlerini iyileştirdiği ve dalga latanslarındaki kaymaları önlediği görülmüştür (83).

STZ ile indüklenmiş T1 DM ile genetik T2 DM'li farelere antioksidan özellikli kırmızı Kore ginsenginin işitme üzerine etkisi araştırılmış, 8 hafta sonra yapılan ABR testinde her iki diyabet modelinde de işitme eşiklerinde kontrollere kıyasla artış bulunmuştur. Kırmızı ginsengin T2 DM fare modelinde işitme eşiği artışını baskıladığı ve işitsel sinir fonksiyonlarını iyileştirdiği görülürken, T1 DM fare modelinde ise eşiklerde hiçbir iyileşme gözlenmemiştir. Benzer şekilde ginseng verilen T2 DM modelinde dalga latanslarının kaymasını baskılamasına rağmen T1 DM modelinde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (84).

2.11. Diabetes Mellitus ve Kemik Yapısı

Kemik dokusu embriyolojik gelişimine göre endokondral kemik ve membranöz kemik olarak ikiye ayrılırken temel olarak kortikal (kompakt) ve trabeküler (kansellöz-süngerimsi) kemik olarak iki kısımda incelenebilir (Şekil 2-17). Kortikal kemik, kemiğin düzgün ve güçlü dış yüzeyini oluşturarak yapısal bütünlüğü sağlar. Kortikal kemik içindeki kavite kemik iliği ve trabeküler kemiği içerir. Trabeküler kemik, hematolojik ve osteoblastik prekürsörlerden zengin bir kaynaktır. Kortikal kemiğe iç destek sağlar, kemik iliği elementlerine bir çatı görevi görür. Bununla birlikte mikroskopik olarak trabeküler kemiğin boşlukları birbirinden ayıran trabeküllerinin ve kortikal kemiğin histolojik yapısı aynıdır.



Şekil 2-17: Kemiğin kortikal ve trabeküler kısmı

Kemik özel bir bağ dokusu olup kemik matriksi denilen hücreler arası madde kalsifiye olmuştur. Kemiğin organik içeriğine bakıldığında kemik hücreleri ve ekstraselüler matriksten oluştuğu görülür. Kemiğin şekillenmesi ve yeniden oluşumunda 3 ana hücre aktif olarak rol alır. Bu hücreler matriksin laküna adı verilen kavitelerinde yerleşmiş olan osteositler, matriksin organik kısımlarının sentezini yapan osteoblastlar ve kemik dokusunun rezorpsiyonu ve yeniden şekillenmesini sağlayan çok çekirdekli büyük yapılı bir hücre olan osteoklastlardır.

DM vücuttaki sistemlerin çoğunu etkiler. Retinopati, nefropati, nöropati gibi komplikasyonları oldukça iyi tanımlanmışken kas, eklem ve kemik sistemi üzerine etkileri sıklıkla gözden kaçmaktadır. DM hastalarında kas iskelet sistemi değişiklikleri sık görülmektedir. Oysaki bu komplikasyonların varlığı fonksiyonlarda azalmalara ve ağrı vb şikayetlere neden olarak hastaların hayat kalitesini etkilemektedir. Diğer

komplikasyonlarının patogenetik mekanizmaları oldukça iyi tanımlanmışken, kas iskelet sistemi anormallikleri ile DM ilişkisi genel olarak epidemiyolojik çalışmalara dayanır. DM hastalarında yüksek glikoz düzeylerinin bağ dokusundaki proteinlerin yapısını etkilediği düşünülmektedir (85).

DM'li hastalarda, kırıklarla ilişkili morbiditenin diyabetik komplikasyonlar ve muhtemelen yavaş kırık iyileşmesi ile daha da artması olasıdır. Diyabetin insanlarda kalça, proksimal humerus ve ayak kırıklarında artmış risk ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Gözlemsel çalışmalar ve hayvan modelleri ise diyabetteki kemik direncinin azalmasının kırık riskine katkıda bulunabileceğini ancak bunun tartışmalı bir konu olduğunu göstermektedir. T1 DM'de, kemik mineral yoğunluğu (KMY) düşük seviyedeki azalmalarla ilişkilidir, ancak T2 DM sıklıkla yüksek KMY ile karakterizedir. T2 DM'de yüksek KMY paradoksu artmış kırık riski, daha sık düşme ve daha kötü kemik kalitesi kombinasyonu ile açıklanabilir.

Diyabet birçok mekanizma üzerinden kemiklere etki edebilir. T2 DM'de yaygın olan obezite, muhtemelen mekanik yüklenme ile insülin, östrojen ve leptin dahil hormonal faktörler aracılığıyla daha yüksek KMY ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Hiperinsülinemi kemik oluşumunu destekleyebilir. T1 DM ile ilişkili düşük insülin seviyeleri KMY'de azalmaya neden olabilir. Hiperglisemi, kollajende kemik gücünü azaltabilecek daha yüksek AGE konsantrasyonu oluşturur. Glikozüri ile ilişkili hiperkalsiüri, kemik kaybına neden olabilir. İnsülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I), kemik için anabolik olduğu ve diyabette daha düşük olabileceği düşünülmektedir. İnflamasyon ve ilişkili sitokinlerde artış, kemik döngüsünü ve kemik kaybını hızlandırabilir. Diyabette daha sık görülen renal fonksiyonun azalması, daha düşük KMY'ye sahip yaşlı kadınlarda ilişkili bulunmuştur. Diyabetin mikrovasküler komplikasyonları sonucu kan akışının azalması kemik kaybına ve kırılabilirliğe yol açabileceği bildirilmiştir (86).

T1 DM'de tüm araştırmalarda olmasa da çoğu araştırma da düşük KMY olduğu bildirilmiştir. T1 DM'li fare modellerinde yapılan histopatolojik incelemelerde azalan osteoblast aktivitesi, normal ya da düşük osteoklast aktivitesi olduğu gözlenmiştir. T1 DM ve T2 DM 'de hiperglisemi, idrarda kalsiyum kaybı ve D vitamini seviyelerinin düşmesi gibi bazı ortak özellikler görülür. T1 DM'de azalmış KMY ve kemik kalitesini bozan kemik proteinleri AGE ile ilişkili bulunmuştur. Kan glikoz düzeylerinin artması,

kemik hücreleri üzerinde doğrudan zararlı etkilere de yol açabilir. T2 DM’de genellikle artan adipoz doku sitokinler üretir yani leptin, resistin ve adiponektin gibi; bunlar da KMY'yi negatif olarak modüle edebilir (86, 87).

Diyabette kemik direncinin azalmasındaki olası durumu kemik kollajenindeki AGE birikmesidir. AGE'lerin yaşla birlikte biriktiği, diyabetle arttığı ve kan damarlarının geçirgenliğini ve elastikiyeti azaltarak diyabetin vasküler komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. AGE'ler kemik kollajeni dahil olmak üzere vücuttaki dokularda bulunur. Kemik kollajenindeki birikmiş AGE'ler kemik kırılabilirliğini artırabilir. Kollajendeki AGE'lerin osteoblastların fenotipik ekspresyonunu inhibe ettiği, osteoklast kaynaklı kemik rezorpsiyonunu arttırdığı ve insan kemik türevli hücrelerde interlökin-6 üretimini uyardığı bildirilmiştir (86).

Diyabette iskelet tutulumu ilk kez 80 yıldan daha uzun bir süre önce önerilmiş, T1 DM’li çocuklarda gecikmiş kemik gelişimi ve kemik atrofisi ile ilgili radyolojik bulgularla ortaya çıkmıştır. 2007 yılında T2 DM’li kadınlarda sistematik bir analize rağmen vertebral veya distal önkol kırıklarında belirgin bir artış olmamış, kalça kırığı riski ise 1.7 kat artmıştır. Ayrıca diyabetlilerde kalça kırıkları için diyabetin risk faktörü olduğu bilinmektedir. T1 DM’de kırık riskine yönelik yapılan araştırmalar sonucunda bazı çalışmaların artmış kalça kırığı insidansı bildirmekle birlikte, tutarsız sonuçlarda mevcuttur. T2 DM’li kadınlarda kalça kırığı riskinin 1.7 kat arttığı sonucuna varılsa da, bazı çalışmalarda da kalça kırıklarında artış olmadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte diyabetin iskelet üzerine etkilerine dair bulgular olmasına rağmen biyokimyasal ve görüntüleme çalışmaları çelişkili bulgular üretmektedir. Bunun nedeninin büyük ölçüde diyabetin karmaşık patofizyolojisine, incelenen iskelet bölgelerinin çeşitliliğine, kemik kütlelerini ölçmek için kullanılan tekniklerin çokluğuna ve farklı çalışmalarda diyabetin süresi, şiddeti ve tedavisindeki değişikliklere bağlı olması muhtemeldir (87).

STZ ile indüklenmiş diyabetik Wistar sıçanların kemiklerinde, taramalı elektron mikroskopisi ile değerlendirilmesi sonucunda KMY’nin azaldığı görülmüştür (88).

Diyabetik osteoporoz; DM ile indüklenen ve osteoporotik kırık riskinin artması, kemik mikro mimarisinin bozulması ile karakterize kronik bir kemik metabolizması hastalığıdır. Diyabetik osteoporozun dünya çapındaki insidansı diyabet sıklığına bağlı artmaktadır. Hiperglisemi, osteoblastogenez ve osteoklastogenez arasındaki hassas dengeyi bozarak kemik metabolizmasını olumsuz etkileyebilir. DM, kemik iliğinde

adipojenezi artırır ve kemik iliği boşluğunu daha da genişletir ve kortikal zarfı daraltır. Ayrıca T2 DM'li postmenopozal kadınlarda serum IGF-1 seviyesinin azalmasının, vertebral kırıklarla pozitif ilişkili bulunduğu bildirilmiştir (89).

STZ enjeksiyonu ile indüklenen diyabette (insülinopeni ve hiperglisemi) kemiğin biyomekanik özellikleri üzerine etkilerini bildiren bir dizi çalışma vardır. Sürekli olarak insülin üretiminin kaybı, sıçanlarda femur kemiklerinin yapısal mukavemetinde bir azalmaya neden olmaktadır. STZ ile indüklü dişi Wistar sıçanlarındaki diyabetin kortikal kemikte mineralizasyonu azalttığı ancak erkek Fischer 344 ve Sprague Dawley sıçanlarında kortikal dokunun mineralizasyon yoğunluğunu (Ct.TMD) etkilemediği bulunmuştur. İnsülin direncinin ve hipergliseminin spontan veya yüksek yağlı diyetle oluşturulan T2 DM sıçan modelleri ile T1 DM sıçan modellerinde, diyabetin kemik üzerine etkilerinin hemen hemen aynı olduğu ileri sürülmüştür (90).

Diyabetik sıçan kemiklerinde yapılan bir araştırma sonuçlarında trabeküler sayı ve hacimde, ayrıca kemik oluşumu ve mineralizasyonda azalma ile femur ve lumbal omurgada (L2) trabeküler ayrılımda bir artış gözlenmiştir (89).

STZ indüklü farelerde oluşturulan uzun süreli T1 DM modelinde, diyabetin sadece kemik yapısını ve mimarisini etkilemediğini aynı zamanda kuvvet ve yapı arasındaki ilişkiyi (kompozisyonu etkiler) bozduğunu, doku düzeyindeki sertliği azalttığını ve kemiğin kırılabilirliğini artırdığını bildirmişlerdir (90).

T2 DM fare modelinde yapılan bir çalışmada, kortikal ve trabeküler kemik kütlesi kaybı ile diyabetin ilerlemesine paralel osteoklastik aktivenin artmasıyla trabeküler yapıda incelmeye ve kayıp gözlenmiştir (91). Diyabetik kemik kaybını azaltmak için antioksidanların osteoprotektif etkileri mevcuttur. STZ indüklü sıçanlarda kemik metabolizmasında, yoğunluk ve mimari yapısında bozukluğa karşı antioksidan özellikli morinin pozitif etkisi bulunmuştur (92).

Sıçanlarda STZ ve NA ile indüklenmiş diyabet, pankreatik beta hücrelerinin kısmen yok olmasına neden olarak insülinopeni ve hiperglisemiye yol açmaktadır. Wistar ve diğer sıçan suşlarında STZ+NA indüklü diyabette kemik üzerine yapılan çalışmalarda, kortikal ve trabeküler kemik hacminde azalma ile kemiğin mekanik direncini kaybettiğini bildirmişlerdir (93).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Etil alkol (Merck)

Fikol (Ficoll - Stem Cell Tech.)

Formaldehit (Merck)

Fosfat tampon tuzu (PBS - Sigma)

Ketalar (Pfizer)

Kuersetin (Quercetin – Sigma, Q4951)

Nikotinamid (Nicotinamide – Sigma, 72340)

Öjenol (Eugenol – Sigma, E51791)

Rompun (Bayer)

Serum fizyolojik (Eczacıbaşı)

Sıçan SOD, MDA, GSH, GHbA1c ELISA kitleri (Sunred)

Streptozocin (Sigma, S0130)

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

ABR (Intelligent Hearing System – Florida, ABD)

Buzdolabı (Arçelik)

Buz makinası (Hosizaki)

Cerrahi makas, pens, doku tutucular

Çalkalamalı su banyosu (Memmert)

Distile su cihazı (GFL)

Elisa spektrofotometrik okuyucu (PerkinElmer)

Hassas terazi (Scaltec)

İnsülin enjektörü

Kaba terazi (Mettler)

Kan şekeri ölçüm cihazı (AccuChek Performa Nano - Roche)

Multi kanallı otomatik pipet (Eppendorf)

Polietilen enjektör (2.5, 5, 10 ml, Ayset)

Soğutmalı santrifüj (Universal 32 R, Hettich)

Vorteks (Thermolyne)

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Denekler

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi (İÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 31.03.2016 tarihli ve 2016/26 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

İÜ Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden (ASDETAE) temin edilen, 250-280 gram ağırlığındaki 10-12 haftalık 37 adet erişkin erkek *Sprague Dawley* cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Hayvan deneyleri ve bakımı ASDETAE'de yapılmıştır. Deney süresi boyunca optimum laboratuvar koşullarında (23 ± 2 °C, % 55 ± 5 nem, 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda) standart sıçan yemi ve musluk suyu verilerek ad-libitum beslenmişlerdir.

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Deney Grupları

Çalışmaya seçilme kriterlerine göre tüm sıçan kulakları otoskopik muayene ile değerlendirilmiş ve dış kulak yolunda buşon olmayan, kulak zarı normal görülen, ABR testinde click uyarın ile 30 dB SPL'de II. dalga elde edilen sıçanlar dahil edilmiştir. Hayvanlar adaptasyon için 48 saat önce deney ortamına getirilmiştir ve tesadüfi örnekleme ile 4 gruba ayrılmıştır.

Kimyasal ajanlar ile oluşturulan diyabet modellerinde hayvanların bir kısmının öldüğü, bir kısmında da diyabet oluşmadığı bilindiğinden diyabet gruplarındaki hayvan sayısı 10 olarak belirlenmiştir. Deneysel tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda deney süresince mortalite % 20-25 oranında gözlenmiştir.

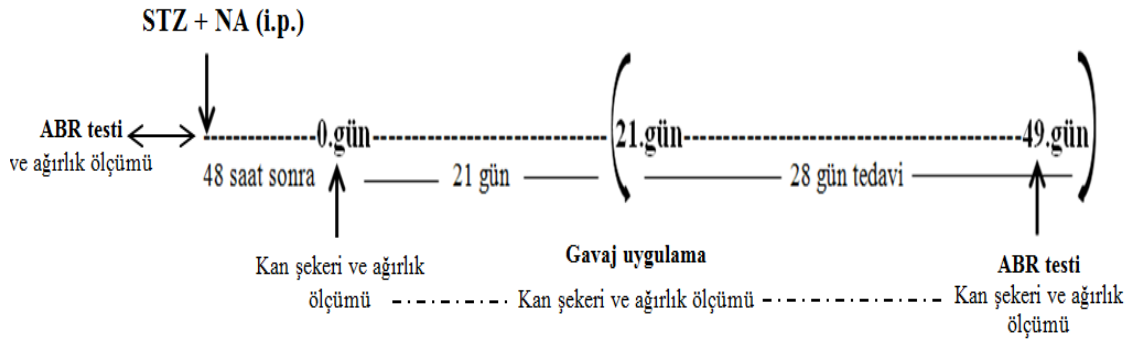
30 adet sıçana Streptozocin (STZ) ve Nikotinamid (NA) verilerek deneysel tip 2 diyabet oluşturulmuş ve 3 gruba (n=10) ayrılmıştır. 7 sıçan sağlıklı kontrol olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Şekil 3-1'deki deney planında da görüleceği üzere diyabetik nöropati oluşması için 21 gün beklendikten sonra (94), 28 gün boyunca günde bir kere öjenol ve kuersetin oral yoldan (gavaj) uygulanmıştır.

I. grup: Sağlıklı kontrol grubu (n=7)

II. grup: Tip 2 diyabet kontrol grubu (n=10)

III. grup: Tip 2 diyabet + öjenol tedavi grubu (n=10)

IV. grup: Tip 2 diyabet + kuersetin tedavi grubu (n=10)



Şekil 3-1: Deney planı.

3.2.2. Deneysel Tip 2 Diyabet Modelinin Oluşturulması

Diyabet oluşturmak için 12 saat aç bırakılmış (su serbestçe verilmiştir) sıçanlara vücut ağırlıkları dikkate alınarak 0,2 ml serum fizyolojik (SF) içerisinde çözünmüş ve taze hazırlanmış 120 mg/kg NA intraperitoneal (i.p.) uygulanmıştır. 20 dakika sonra da 0,2 ml hacimli SF içerisinde çözünmüş ve taze hazırlanmış 65 mg/kg STZ (ışıktan korunarak) 26 gauge'lık insülin enjektörü ile tek doz i.p. yolla enjekte edilmiştir (18). STZ+NA uygulamasından sonra yem ve su alımı serbest bırakılmıştır. Diyabet oluşturulmayan kontrol grubuna ise aynı miktarda SF i.p. yolla enjekte edilmiştir.

STZ+NA uygulamasından 48 saat sonra sıçanların kuyruk veninden alınan kanda şeker ölçüm cihazı (Accu-Chek Performa Nano) ile kan şekeri (glikoz) değerleri ölçülmüş ve 200 mg/dL üzerinde olan sıçanlar diyabet olarak kabul edilip çalışmaya alınmıştır. Tedavi aşamasına kadar ve tedavi süresince de rutin olarak sıçanların kan şekeri değerleri ve ağırlıkları haftalık olarak aynı gün ve aynı saatte (09:00-10:00) ölçülmüştür ve alınan veriler kaydedilip istatistik değerlendirmesi yapılmıştır.

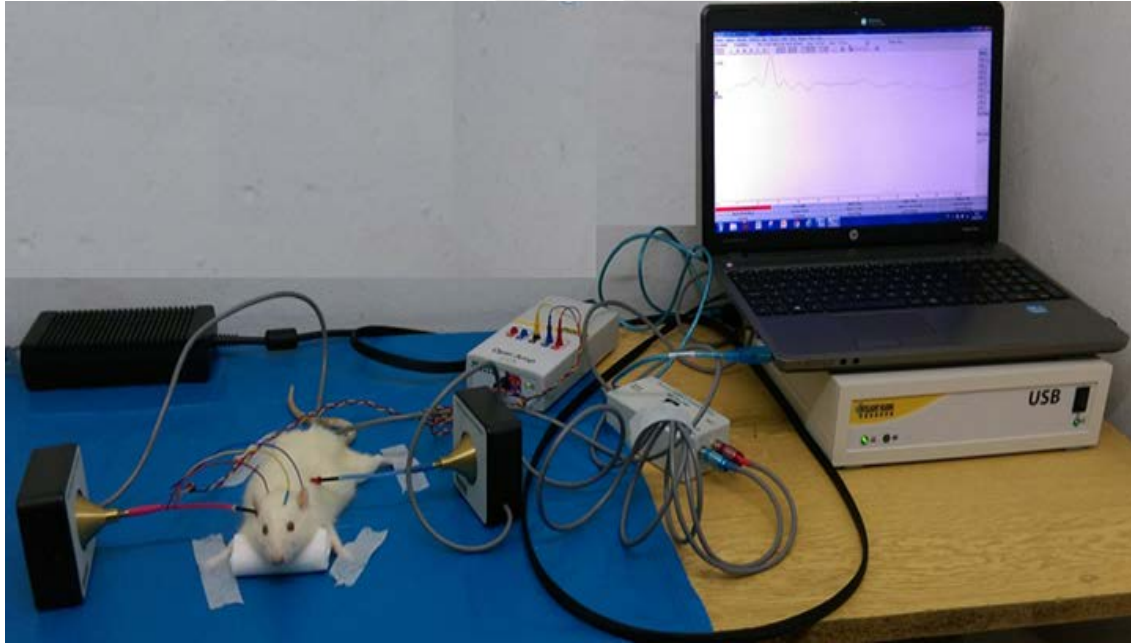
3.2.3. Antioksidan Madde Uygulanması

Diyabet modeli oluşturulduktan 21 gün sonra antioksidan maddelerin uygulamasına geçilmiş ve 28 gün boyunca devam edilmiştir. 20 mg/kg öjenol III. gruptaki diyabetik sıçanlara, IV. gruptaki diyabetik sıçanlara ise 50 mg/kg kuersetin gavaj yoluyla günde tek sefer uygulanmıştır. Öjenol ve kuersetin SF ve etil alkol (3:1) karışımında çözündürülmüş ve haftalık ağırlık değişimleri dikkate alınarak hazırlanmıştır. I. grupta yer alan sağlıklı kontrol ile II. grupta yer alan diyabetik kontrol gruplarına da 28 gün boyunca 0,3 ml hacimde çözücü sıvıdan günde tek sefer gavaj yoluyla verilmiştir. Tedavi ve kontrol gruplarına verilenler günlük hazırlanmış olup 21. günden başlayıp deney sonuna dek her gün aynı saatte (09:30-10:00) uygulanmıştır.

3.2.4. İşitsel Beyin Sapı Cevapları (ABR) Testi

ABR testi Biyofizik Anabilim Dalı'nda gürültü düzeyi 45 dB SPL'i geçmeyen sessiz odada yapılmış ve test düzeneği yerleşimi Şekil 3-2'de gösterilmiştir. Sıçanlara i.p. yoldan 50 mg/kg ketamin (Ketalar-Pfizer) ve 5 mg/kg ksilazin (Rompun-Bayer) verilerek ABR testleri anestezi etkisinde yapılmıştır. ABR kaydı sırasında sıçan sıcaklığı rektal proba izlenmiş ve $37,5 \pm 1$ °C 'de tutulmuştur.

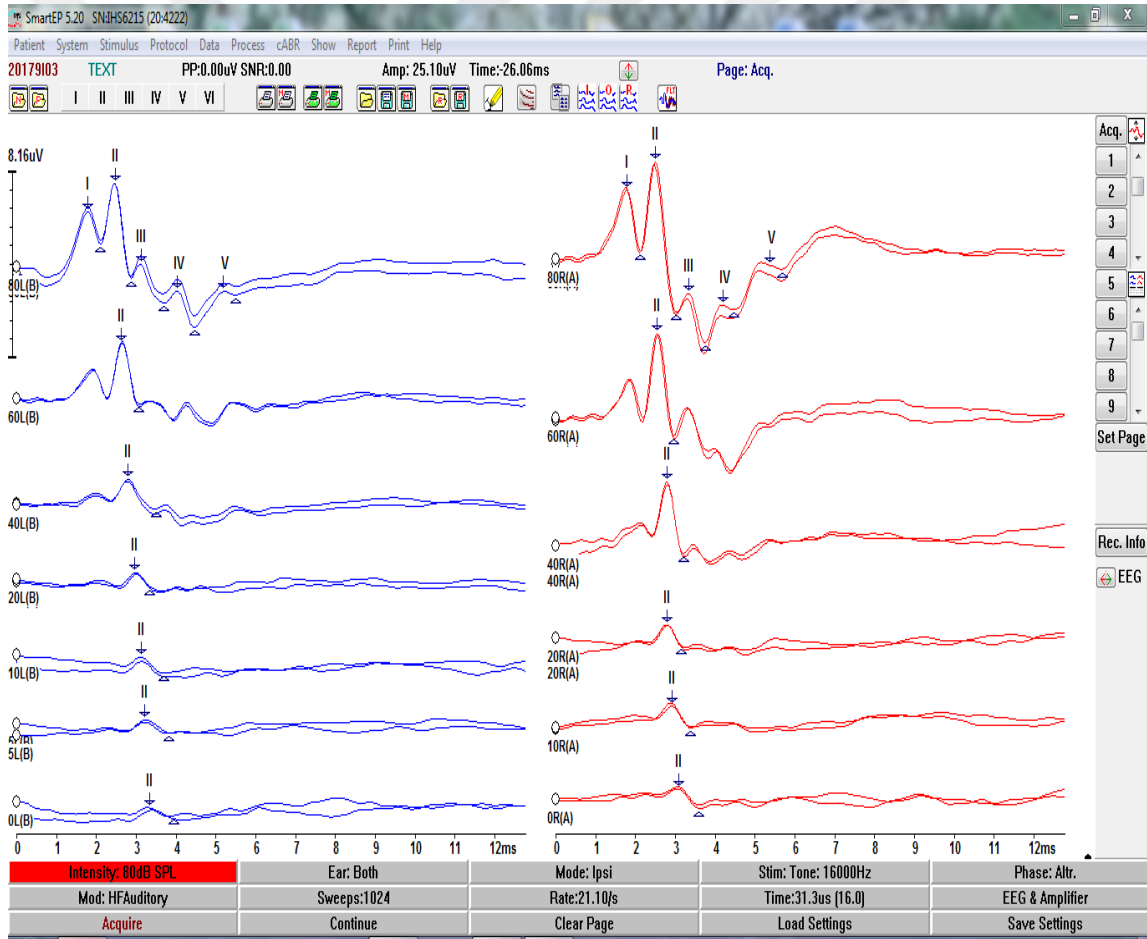
İşitsel fonksiyonun değerlendirilmesi için Intelligent Hearing System (IHS) SmartEP (Amerika) model ABR cihazı kullanılmış olup, yüzüstü yatar pozisyonda iken sıçanlarda IHS yüksek frekans dönüştürücü kanal içi kulaklıklar ve silikon prob ucu ile iğne elektrotlar kullanılmıştır. Ölçümler tek kanallı elektrot yerleşimi kullanılarak iki kulağa ayrı ayrı yapılmıştır. İğne elektrotların yerleşimi; referans elektrotlar sağ ve sol kulakların mastoidine ve vertekse bir toprak elektrotu şeklindedir. Elektrot yerleşiminden sonra her bir elektrot için empedans kontrolü yapılmış olup empedans değerinin 5 k Ω 'dan düşük değerlerde olması sağlanmıştır.



Şekil 3-2: ABR test düzeneği ve sıçan elektrot yerleşimi.

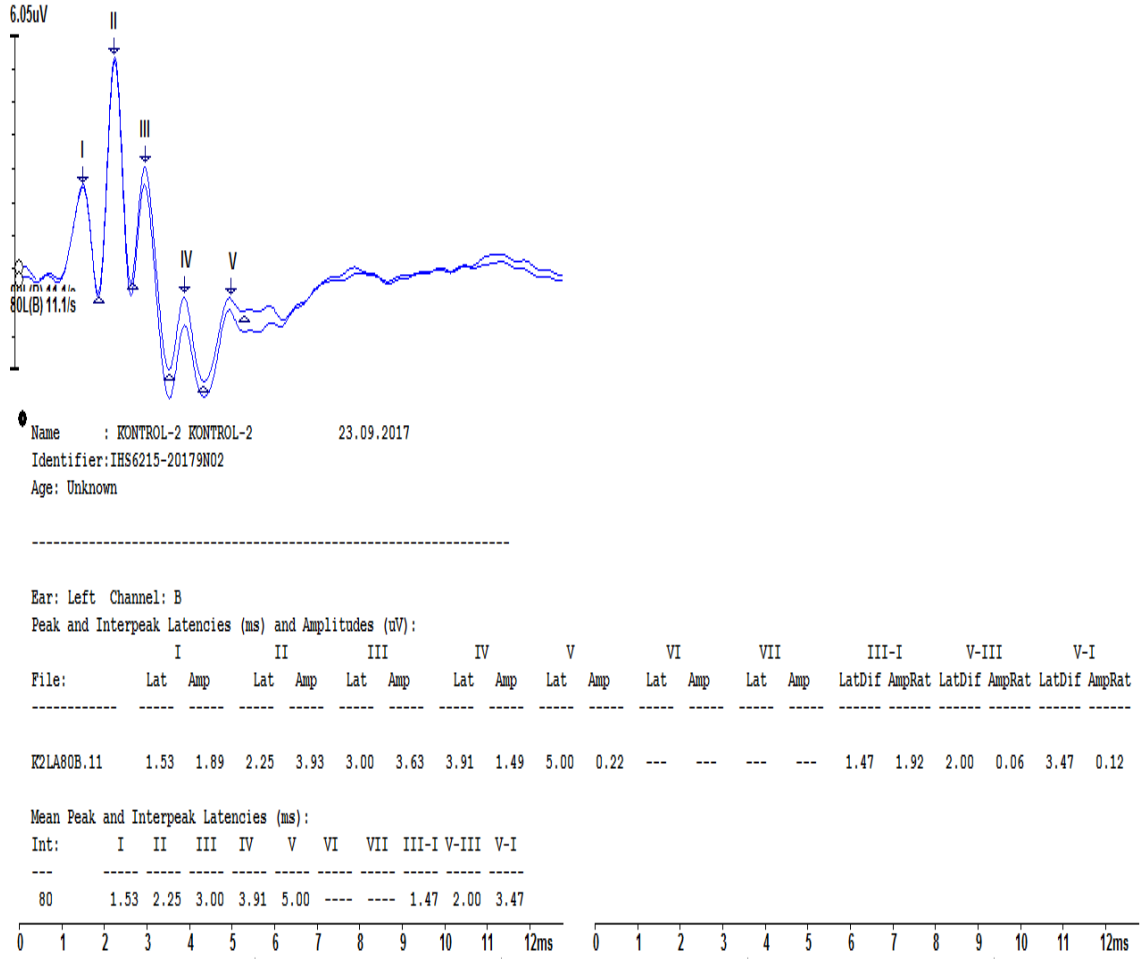
Şekil 3-3'te görüleceği üzere ABR testi ölçüm ayarları, eşik bulma ve dalga morfolojisi belirlenmesi şu şekilde yapılmıştır: ABR testinde işitme eşiklerini belirlemek için sırasıyla tone burst uyaran 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında 80 dB SPL'den başlanarak azalan adımlarla cevap aranmış herhangi bir cevap tespit

edilmediğinde bir cevap belirlenene kadar 5 dB'lik adımlarla arttırılmıştır. Ayrıca ABR testinde click uyarı da dahil edilerek sırasıyla tone burst uyarı 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında kontrol ve deney gruplarında 80 dB SPL'de sıçanlarda en belirgin olan II. dalgaların latansları değerlendirilmiştir (79). 80 dB SPL ve eşik değerlerin ölçümleri iki kez tekrar edilerek yapılmıştır. Click uyarı için saniyedeki tekrar hızı 11,1 tone burst (8, 16, 24 ve 32 kHz) uyarılar için 21,1 olarak belirlenmiş ve alterne polariteye sahip toplam 1024 uyarı verilerle ortalama yapılmıştır. Yanıt penceresi 0 ms -12 ms olacak şekilde ayarlanmıştır. Yüksek/bant ve alçak geçiş filtresi 3 kHz- 30 Hz olarak ve gürültü reddetme (rejection) seviyesi $\pm 25\mu V$ ile hassasiyet $50\mu V$ ayarlanmıştır. ABR kayıtları SmartEp version 5.20 yazılım programında analiz edilmiştir (Şekil 3-4).



Şekil 3-3: ABR test ekranı ve kontrol grubuna ait sağ ve sol kulak 16 kHz uyaranda eşik değeri belirleme ve oluşan dalgaların morfolojisi.

Eşik aramada 16 kHz'de elde edilen ABR dalga formları diğer frekanslara (8, 24 ve 32 kHz) nazaran daha net dalga morfolojisine sahip olduğundan bu görsel seçilmiştir.



Şekil 3-4: Kontrol grubuna ait sol kulak click uyaran 80 dB SPL’deki ABR test kaydının SmartEp version 5.20 yazılım programında analizi.

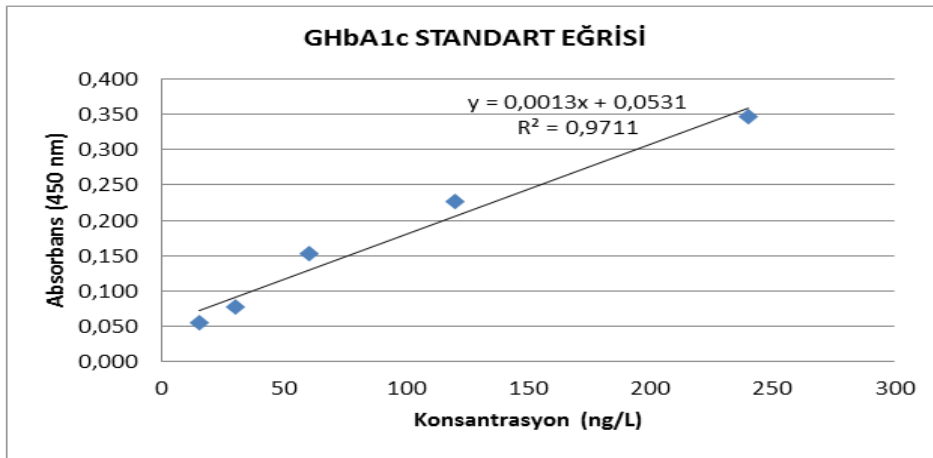
3.2.5. Serum Örneklerinin Alınması

ABR testi sonrasında anestezi altındaki sıçanlardan intrakardiyak kan örnekleri (~ 5 ml) serum tüplerine alınıp oda sıcaklığında 15-20 dakika bekletildikten sonra 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpün üst kısmında kalan örneklerin serumu alınarak -20°C’de saklanmıştır.

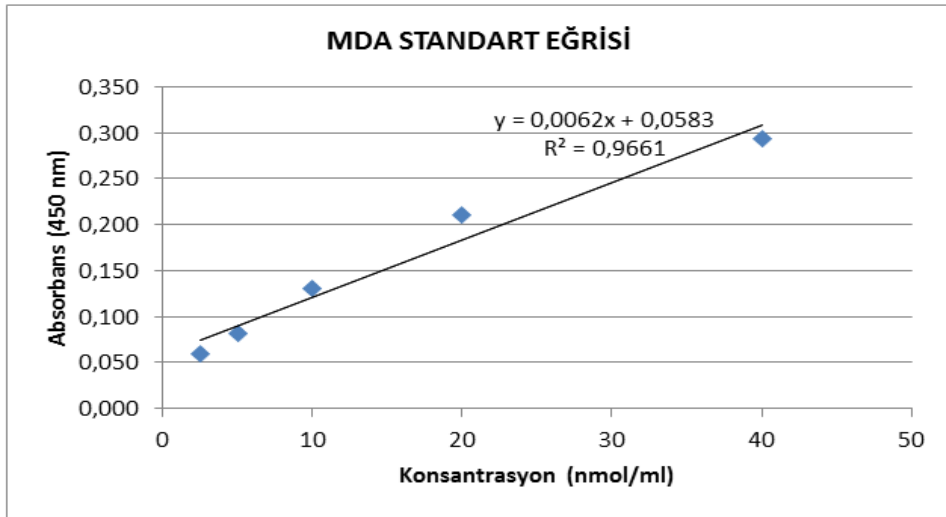
3.2.6. Serum Örneklerinden ELISA Kitleri ile GHbA1c, MDA, SOD ve GSH Düzeylerinin Belirlenmesi

Kullanıma hazır ticari ELISA kitleri (Rat GHbA1c, MDA, SOD, GSH ELISA kit, Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd) ile -20⁰C 'de muhafaza edilen sıçan serum örneklerinde çalışılmıştır:

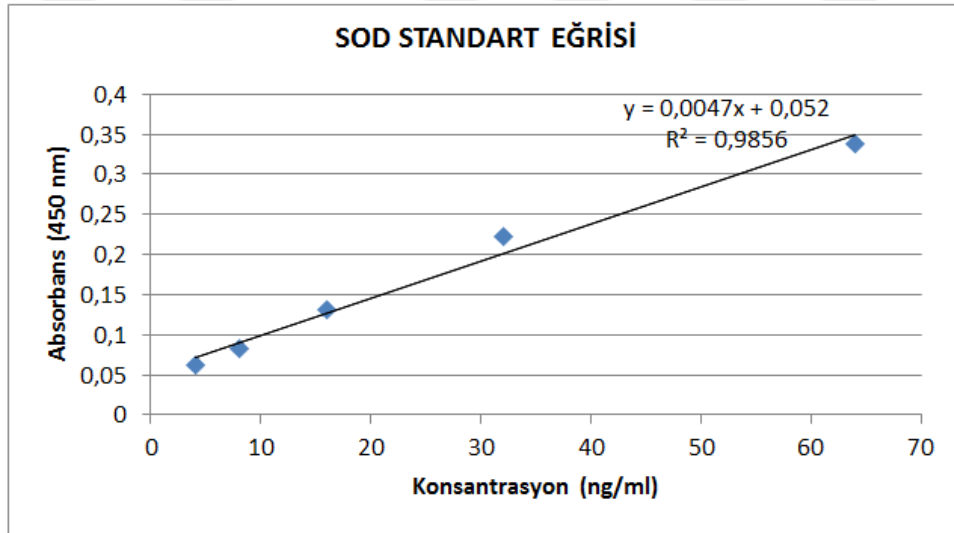
Stok standarttan seri dilüsyon ile 5 farklı standart örneği hazırlanmıştır. 96 kuyulu plate içindeki kuyulara hazırlanan düşük yoğunluklu standarttan başlayarak 50 µl sırasıyla eklenmiştir. Oda sıcaklığına getirilen serum örnekleri 40 µl hacimde kuyulara eklenmiştir. Boş ve standart kuyular hariç, Elisa platedeki örneklere 10 µl istenilen kite ait antikordan eklenmiştir. Boş kuyu dışındaki diğer kuyulara 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir. Üzeri yapışkan film ile kapatılan plate 37°C'de çalkalayıcı inkübatörde 60 dk inkübe edilmiştir. Kit içerisindeki yoğunlaştırılmış 20 ml hacimli yıkama solüsyonu 1/30 oranında distile su ile dilue edilmiştir. Plate içerisindeki sıvı içeriği boşaltıldıktan sonra tüm kuyular 0,35 ml yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkanmıştır. Tüm kuyulara 50 µl kromojen A, ardından da 50 µl kromojen B solüsyonundan eklenmiştir. Üzeri yapışkan film ile kapatılan plate (ışıktan korunarak) 37°C'de çalkalayıcı inkübatörde 10 dk inkübe edilmiştir. Her bir kuyuya 50 µl renk gelişimi durdurma solüsyonundan eklenmiştir. 15 dakika içerisinde optik yoğunluk (OD) 450 nm de Elisa spektrofotometrik okuyucuda ölçülmüş ve miktarları aşağıda verilen standart eğriler aracılığıyla hesaplanmıştır (Şekil 3-5, 3-6, 3-7 ve 3-8).



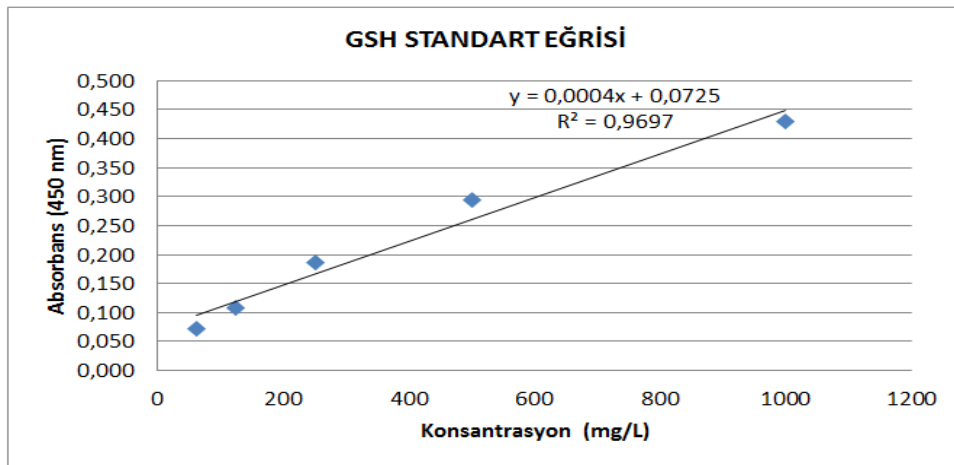
Şekil 3-5: GHbA1c standart konsantrasyon eğrisi.



Şekil 3-6: MDA standart konsantrasyon eğrisi.



Şekil 3-7: SOD standart konsantrasyon eğrisi.



Şekil 3-8: GSH standart konsantrasyon eğrisi.

3.2.7. Femur Örneklerinin Alınması

Genel anestezi altında intrakardiyak kan alımından sonra sıçanların sağ femurları alınıp, yumuşak dokusundan sıyrılmıştır. Alınan femurlar % 10'luk formaldehit solüsyonunda 15'lik falkon tüplere konulmuştur.

3.2.8. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro BT) ile Femurların Taranması ve Analizi

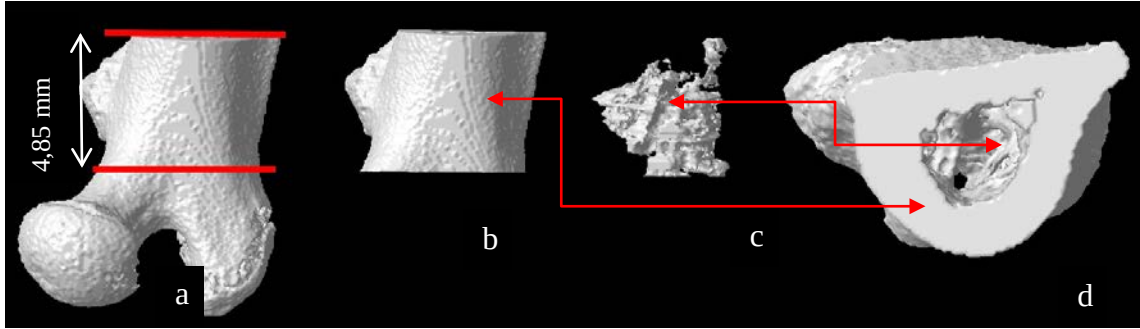
Hazırlanan femur örnekleri İÜ 3B Tıbbi ve Endüstriyel Tasarım Laboratuvarı (TETLab)'nda SkyScan 1174v2 (Kontich-Belçika) Mikro BT ile taranmıştır. Üretici firmanın sağladığı NRecon (Ver. 1.6.10.2) ile tarama görüntülerinin rekonstrüksiyonu ve CTAn (Ver. 1.16.4.1+) ile çeşitli parametrelerin analizleri yapılmıştır (Şekil 3-9) .

%10 formaldehit içeren 15ml'lik falkon tüplerde gazlı bez kullanılarak sabitlenmiş olan femur örnekleri, Mikro BT cihazının döner polistiren desteğine yerleştirilmiş ve X-ray tüpü 50 kVp voltaj, 800 μ A akım ve 40 W güç değerleri ile 1 mm'lik alüminyum filtre ile her bir numune için taramalar gerçekleştirilmiştir. Tarama değerleri optimize edilerek 4000 ms entegrasyon süresi, 512x652 çözünürlükte 61 μ m piksel olarak ayarlanmıştır. Taramalar 1.0 rotasyon ve 360 derece dikey dönme açısı ile tamamlanmıştır. Her bir örnek yaklaşık olarak 35 dakika süreyle taranmıştır.

Kemik mineral yoğunluğu (KMY) kalibrasyonları ilk olarak veri kümesine uygulanmış KMY analizleri kalsiyum yoğunlukları 0,25 g/mm³ ve 0,75 g/mm³ CaHA kalibrasyon çubuğu (fantom) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Her bir örnekten 363 ham görüntü elde edilerek TIFF formatında kaydedilmiş ve NRecon (Ver. 1.6.10.2) programı ile yeniden yapılandırılarak yaklaşık 626 yatay kesit elde edilmiştir. Rekonstrüksiyon sonucu elde edilen görüntüler BMP formatında kaydedilmiştir. Bu kesitler kantitatif parametreler ve görsel modeller oluşturmak amacıyla kullanılan densitometrik ve morfometrik ölçümlere olanak sağlayan CTAn (Ver. 1.16.4.1+) programına aktarılmıştır. Ölçüm yapılacak alanın sınırlarını belirlemek amacıyla kesitler üzerinde yatay düzlemde yarı otomatik olarak dairesel ilgili alan ROI (Region of Interest) çizilmiştir. İncelencek örneğe ait olan vokseller ile çevresinde bulunan havanın voksellerini ayırmak için histogramda bir eşik değeri belirlenmiştir. Siyah vokselin 0 ile belirtilip minimum yoğunluğu ifade ettiği, beyaz vokselin ise 255 ile belirtilip maksimum yoğunluğu gösterdiği histogram üzerinde eşik değeri belirlenmiştir. Belirlenen ROI'lar ve eşik değeri verileriyle, kortikal ve trabeküler

hacimsel oranlar ayrı ayrı hesaplanmıştır. Örneklere ait veriler CTVol (Ver. 2.3.2.0) programına aktarılmış ve örneklere ait üç boyutlu modelleme görüntüleri elde edilerek aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 3-9: Mikro BT analizi için femurdan kesit alınması.

a) Femurdan kesit alınması b) Kesit alınan kısmın tamamı c) Kesitin trabeküler kısmı, d) Kesitin üstten görünüşü: Kortikal ve trabeküler kısım

KMY (g/cm^3) yanı sıra trabeküler kemik hacmi /trabeküler doku hacmi Tb.BV/Tb.TV (%), trabeküler sayı Tb.N (mm^{-1}), trabeküler kalınlık Tb.Th (mm), kortikal kalınlık Ct.Th (mm), trabeküler ayrılma Tb.Sp (mm) ve yapı modeli indeksi SMI verileri CTVol (Ver. 1.16.4.1+) yazılımı ile hesaplanmıştır.

3.2.9. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler IBM SPSS for windows 21.0 istatistik paket programı ile değerlendirilmiştir. Kontrol ve deney gruplarının verileri aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde öncelikle normal dağılıma uygunluk testi (Shapiro-Wilk) yapılmıştır.

Normal dağılım gösteren verilerin analizinde parametrik test yöntemlerinden tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA), normal dağılım göstermeyen verilerin analizinde parametrik olmayan testler (Kruskal-Wallis) kullanılmıştır. İkili grup karşılaştırmalarında normal dağılıma uygun ise bağımsız gruplarda t testi, non-parametrik ise Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. Varyans homojenliğinin reddedilemediği değişkenlerde Post Hoc testi olarak Tukey yöntemi, varyans homojenliği olmayan değişkenlerde Post Hoc testi olarak Tamhane's yöntemleri kullanılmıştır. Tüm sonuçların değerlendirilmesinde ise $p < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

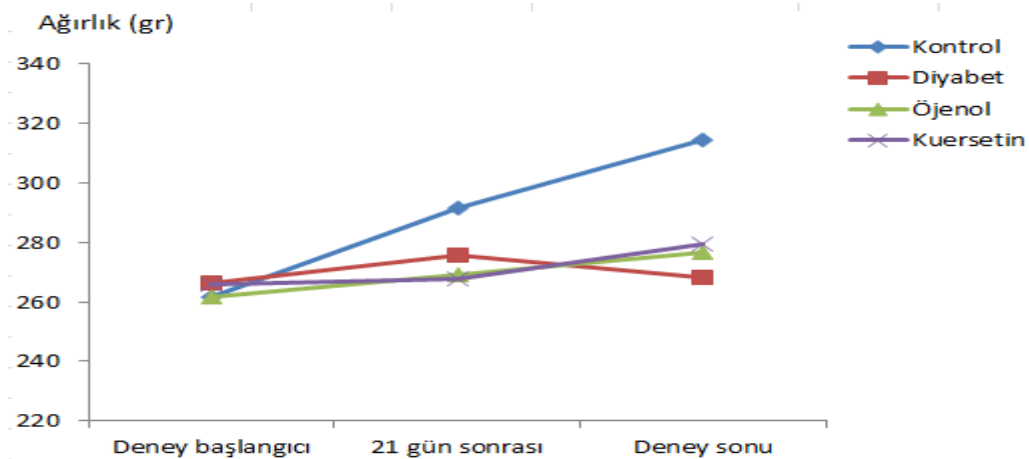
4.1. Ağırlık Ölçümleri

Deney başlangıcı (0. gün), antioksidan madde uygulama başlangıcı olan 21 gün sonrası ve deney sonu (49. gün) olarak üç farklı zaman diliminde kontrol ve deney gruplarında ölçülen ağırlık değişimlerine ait ortalama, standart sapma ve istatistik değerleri Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Zamana ve gruplara göre ağırlık değerlerinin tekrarlı ölçümlerde varyans analizi.

Grup	Zaman	Ortalama (gr)	Std. Sapma	F	P
Kontrol	Deney başlangıcı	261,57	6,13	66,384	<0,001
	21 gün sonrası	291,42	17,02		
	Deney sonu	314,42	18,49		
Diyabet	Deney başlangıcı	266,57	8,08	6,174	0,045
	21 gün sonrası	275,85	9,85		
	Deney sonu	268,42	18,41		
Öjenol	Deney başlangıcı	261,85	9,75	27,599	0,002
	21 gün sonrası	269,00	10,26		
	Deney sonu	276,71	8,28		
Kuersetin	Deney başlangıcı	266,00	11,43	2,490	0,178
	21 gün sonrası	267,71	6,77		
	Deney sonu	279,57	16,31		

Şekil 4-1’de verilen grafikte kontrol ve deney gruplarındaki ağırlık takibi ortalamalarının üç farklı zaman dilimine göre değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F=9,047$, $p<0,001$).



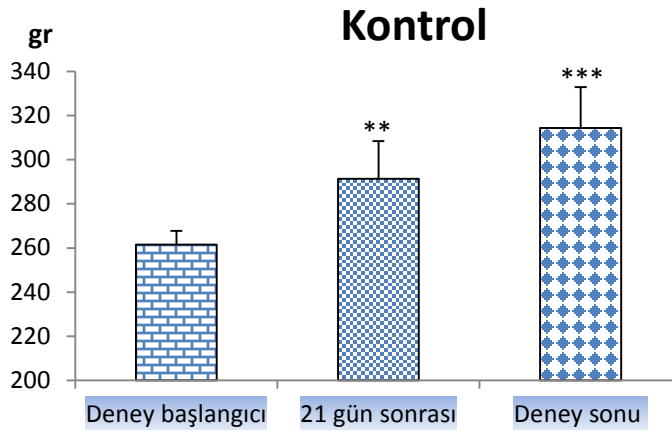
Şekil 4-1: Kontrol ve deney gruplarının ağırlık takipleri.

Tablo 4-1'e göre ağırlıklara ilişkin olarak deney başlangıcı, 21 gün sonrası ve deney sonu süreleri göz önünde bulundurulduğunda kontrol grubu, diyabet ve öjenol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0,001$, $p=0,045$, $p=0,002$). Kuersetin grubunda zamana göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,178$).

Zamana göre ağırlık takibinde farklılık tespit edildikten sonra ikili karşılaştırmalar için Post Hoc analizi yapılmıştır (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: Zamana göre ağırlık değişimindeki farklılığın ikili karşılaştırılması.

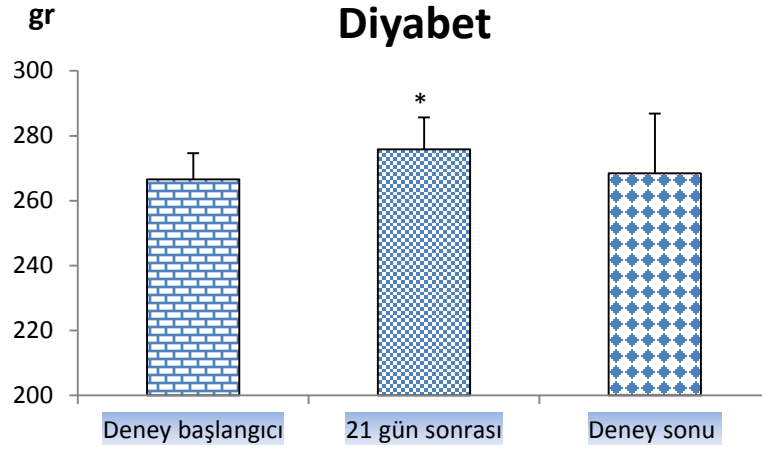
Grup	Zaman		p
Kontrol	Deney başlangıcı	21 gün sonrası	0,001
	21 gün sonrası	Deney sonu	<0,001
	Deney sonu	Deney başlangıcı	<0,001
Diyabet	Deney başlangıcı	21 gün sonrası	0,046
	21 gün sonrası	Deney sonu	0,194
	Deney sonu	Deney başlangıcı	0,813
Öjenol	Deney başlangıcı	21 gün sonrası	0,001
	21 gün sonrası	Deney sonu	0,010
	Deney sonu	Deney başlangıcı	<0,001
Kuersetin	Deney başlangıcı	21 gün sonrası	0,676
	21 gün sonrası	Deney sonu	0,056
	Deney sonu	Deney başlangıcı	0,068



Şekil 4-2: Kontrol grubunun zamana göre ağırlık değişimi.

Değerler ort. ± stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ vs deney başlangıcı

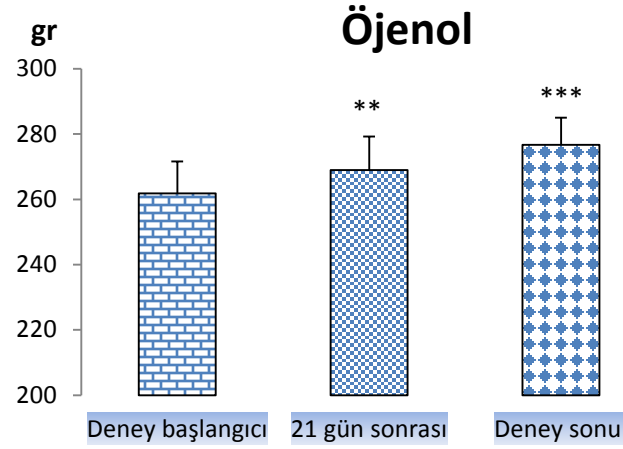
Kontrol grubunda deney başlangıcı ile 21 gün sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0,01$). Kontrol grubunda deney başlangıcı ile deney sonu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0,001$).



Şekil 4-3: Diyabet grubunun zamana göre ağırlık değişimi.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). * $p < 0,05$ vs deney başlangıcı

Diyabet grubunda deney başlangıcı ile 21 gün sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0,05$).



Şekil 4-4: Öjenol grubunun zamana göre ağırlık değişimi.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs deney başlangıcı

Öjenol grubunda deney başlangıcı ile 21 gün sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0,01$). Öjenol grubunda deney başlangıcı ile deney sonu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0,001$).

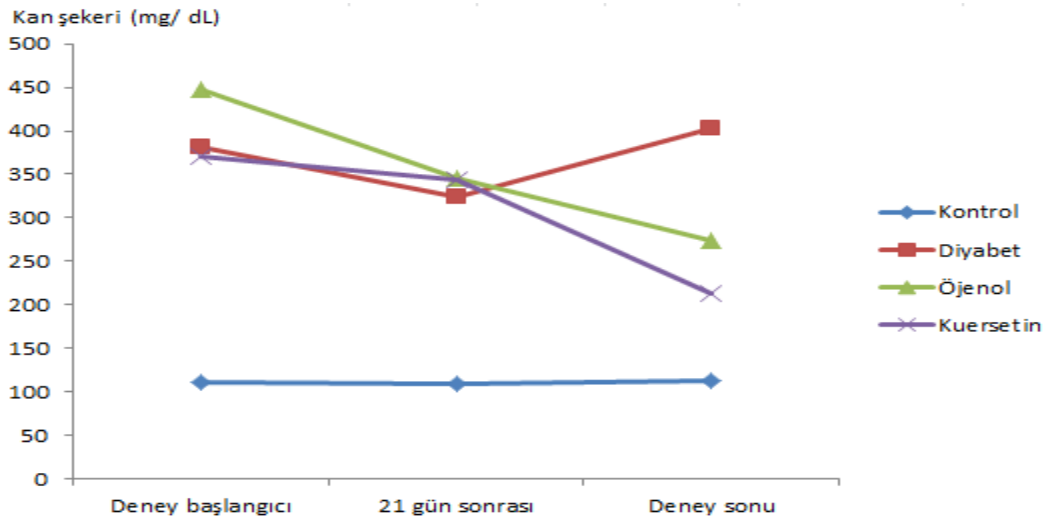
4.2. Kan Şekeri Ölçümleri

Deney başlangıcı (0. gün), antioksidan madde uygulama başlangıcı olan 21 gün sonrası ve deney sonu (49. gün) olarak üç farklı zaman diliminde kontrol ve deney gruplarında ölçülen kan şekeri değişimlerine ait ortalama, standart sapma ve istatistik değerleri Tablo 4-3'te gösterilmiştir.

Tablo 4-3: Zamana ve gruplara göre kan şekeri değerlerinin tekrarlı ölçümlerde varyans analizi.

Grup	Zaman	Ortalama (mg/dL)	Std. Sapma	F	P
Kontrol	Deney başlangıcı	111,71	5,87	0,309	0,740
	21 gün sonrası	108,57	11,08		
	Deney sonu	112,14	10,12		
Diyabet	Deney başlangıcı	380,85	80,55	1,510	0,260
	21 gün sonrası	324,42	140,16		
	Deney sonu	403,28	81,54		
Öjenol	Deney başlangıcı	448,28	90,7	9,751	0,003
	21 gün sonrası	344,71	123,55		
	Deney sonu	273,42	85,82		
Kuersetin	Deney başlangıcı	371	101,31	39,357	0,001
	21 gün sonrası	344	84,93		
	Deney sonu	213,42	60,55		

Şekil 4-5'te verilen grafikte kontrol ve deney gruplarındaki kan şekeri takibi ortalamalarının üç farklı zaman dilimine göre değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F=4,968$, $p=0,001$).



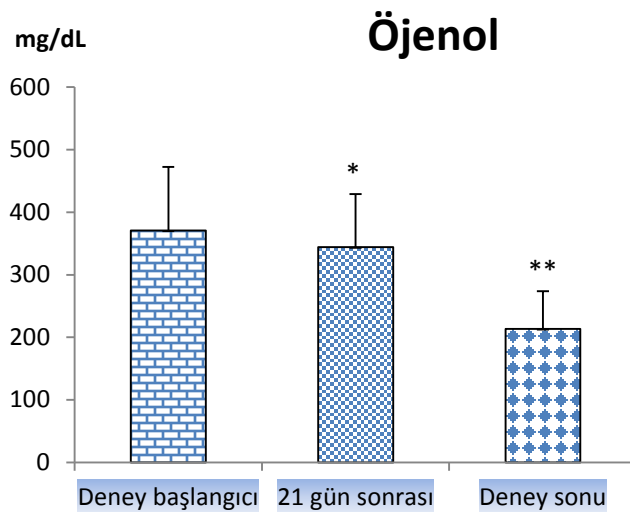
Şekil 4-5: Kontrol ve deney gruplarının kan şekeri takipleri.

Tablo 4-3'e göre kan şekeri değerlerine ilişkin olarak deney başlangıcı, 21 gün sonrası ve deney sonu süreleri göz önünde bulundurulduğunda kontrol grubu ve diyabet grubunda istatistiksel olarak anlamlılık yoktur ($p=0,740$, $p=0,260$). Öjenol ve kuersetin gruplarında zamana göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p=0,003$, $p=0,001$).

Zamana göre kan şekeri takibinde farklılık tespit edildikten sonra ikili karşılaştırmalar için Post Hoc analizi yapılmıştır (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: Zamana göre kan şekeri değişimindeki farklılığın ikili karşılaştırılması.

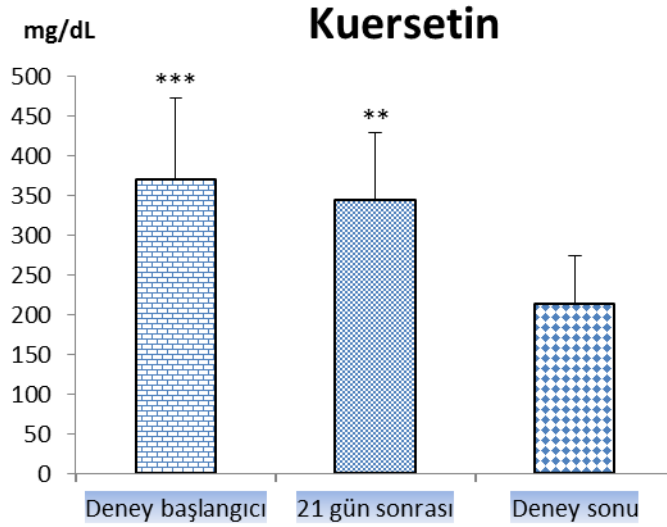
Grup	Zaman		p
Kontrol	Deney başlangıcı	21 gün sonrası	0,514
	21 gün sonrası	Deney sonu	0,510
	Deney sonu	Deney başlangıcı	0,937
Diyabet	Deney başlangıcı	21 gün sonrası	0,268
	21 gün sonrası	Deney sonu	0,130
	Deney sonu	Deney başlangıcı	0,663
Öjenol	Deney başlangıcı	21 gün sonrası	0,048
	21 gün sonrası	Deney sonu	0,073
	Deney sonu	Deney başlangıcı	0,007
Kuersetin	Deney başlangıcı	21 gün sonrası	0,112
	21 gün sonrası	Deney sonu	0,001
	Deney sonu	Deney başlangıcı	<0,001



Şekil 4-6: Öjenol grubunun zamana göre kan şekeri değişimi.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir ($n=7$). * $p<0,05$, ** $p<0,01$ vs deney başlangıcı

Kan şekeri değerlerindeki istatistiksel anlamlılığa gruplarda zamana göre bakıldığında; öjenol grubunda deney başlangıcı ile 21 gün sonrası ($p<0,05$) ve deney başlangıcı ile deney sonu arasında ($p<0,01$) anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4-7: Kuersetin grubunun zamana göre kan şekeri değişimi.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ vs deney sonu

Kuersetin grubunda ise deney başlangıcı ile deney sonu arasında ($p<0,001$) ve 21 gün sonrası ile deney sonu arasında ($p<0,01$) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

4.3. GHbA1c, MDA, SOD ve GSH ELISA Test Sonuçları

Sıçan serumlarında ELISA yöntemi ile elde edilen GHbA1c, MDA, SOD ve GSH düzeylerinin kontrol ve deney gruplarında ortalama ve standart sapma değerleri ile istatistiksel değerlendirmesi Tablo 4-5'te verilmiştir.

Tablo 4-5: GHbA1c - MDA - SOD - GSH değerlerinin tek yönlü varyans analizi.

		Ortalama	Std. Sapma	F	p
GHbA1c	Kontrol	52,82	7,84	6,427	0,002
	Diyabet	88,48	25,64		
	Öjenol	64,67	9,08		
	Kuersetin	68,15	12,51		

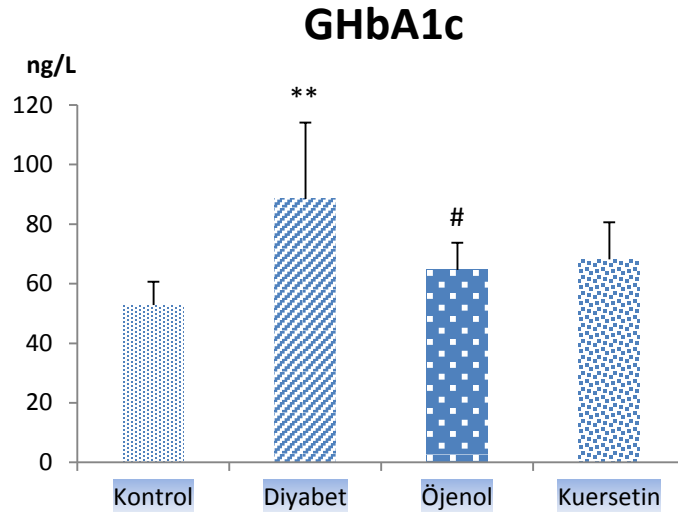
MDA	Kontrol	10,35	1,31	6,369	0,002
	Diyabet	14,35	2,81		
	Öjenol	11,21	0,96		
	Kuersetin	11,41	1,68		
SOD	Kontrol	33,43	4,68	6,941	0,002
	Diyabet	21,38	5,36		
	Öjenol	30,56	4,02		
	Kuersetin	29,50	6,39		
GSH	Kontrol	414,43	37,77	19,06	<0,001
	Diyabet	286,42	28,81		
	Öjenol	371,39	31,09		
	Kuersetin	360,35	30,59		

Verilen tabloda GHbA1c, MDA, SOD ve GSH değerlerinin tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre tümünde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Gruplar arası farklılıklar için varyansların homojenliğine bakılarak Tukey HSD testi yapılmıştır.

Kontrol ve deney gruplarında Tukey HSD testine göre serum GHbA1c düzeylerinde gruplar arası farklılık Tablo 4-6 ve Şekil 4-8’de verilmiştir.

Tablo 4-6: GHbA1c değerlerinin kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.

GHbA1c	Grup		p
	Kontrol	Diyabet	0,001
		Öjenol	0,492
		Kuersetin	0,274
	Diyabet	Öjenol	0,039
		Kuersetin	0,093
	Öjenol	Kuersetin	0,974



Şekil 4-8: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının serum GHbA1c düzeyleri.

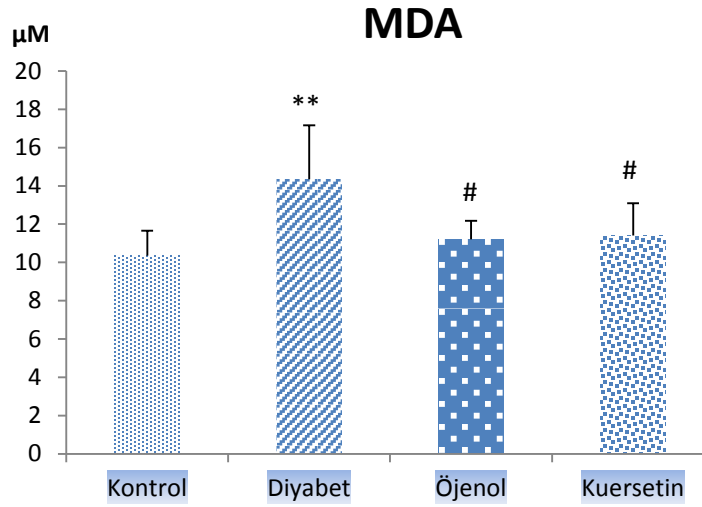
Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). ** p<0,01 vs kontrol grubu, # p<0,05 vs diyabet grubu

Serum GHbA1c düzeylerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Öjenol uygulanan grubun GHbA1c düzeyi diyabet grubuna göre azalmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kuersetin uygulanan grubun GHbA1c değerleri diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

Kontrol ve deney gruplarında Tukey HSD testine göre serum MDA düzeylerinde gruplar arası farklılık Tablo 4-7 ve Şekil 4-9'da verilmiştir.

Tablo 4-7: MDA değerlerinin kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.

MDA	Grup		p
	Kontrol	Diyabet	0,002
		Öjenol	0,814
		Kuersetin	0,700
	Diyabet	Öjenol	0,018
		Kuersetin	0,029
	Öjenol	Kuersetin	0,997



Şekil 4-9: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının serum MDA düzeyleri.

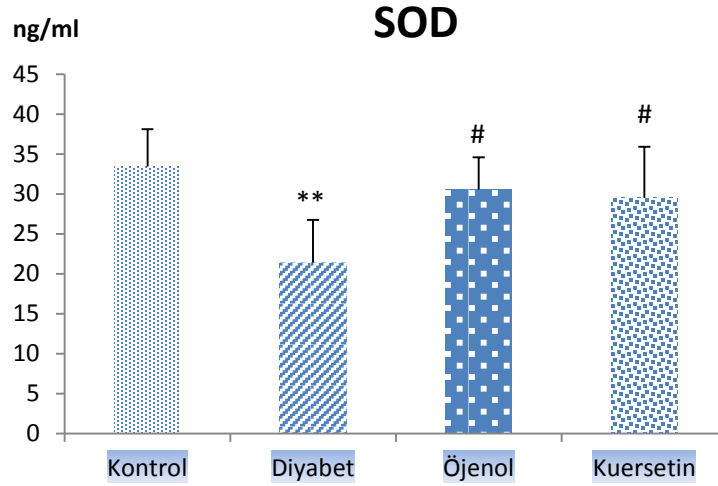
Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). ** p<0,01 vs kontrol grubu, # p<0,05 vs diyabet grubu

Serum MDA düzeylerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,01). Öjenol ve kuersetin uygulanan grupların MDA düzeyi diyabet grubuna göre azalmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05).

Kontrol ve deney gruplarında Tukey HSD testine göre serum SOD düzeylerinde gruplar arası farklılık Tablo 4-8 ve Şekil 4-10'da verilmiştir.

Tablo 4-8: SOD değerlerinin kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.

SOD	Grup		p
	Kontrol	Diyabet	0,001
		Öjenol	0,729
		Kuersetin	0,500
	Diyabet	Öjenol	0,015
		Kuersetin	0,035
	Öjenol	Kuersetin	0,981



Şekil 4-10: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının serum SOD düzeyleri.

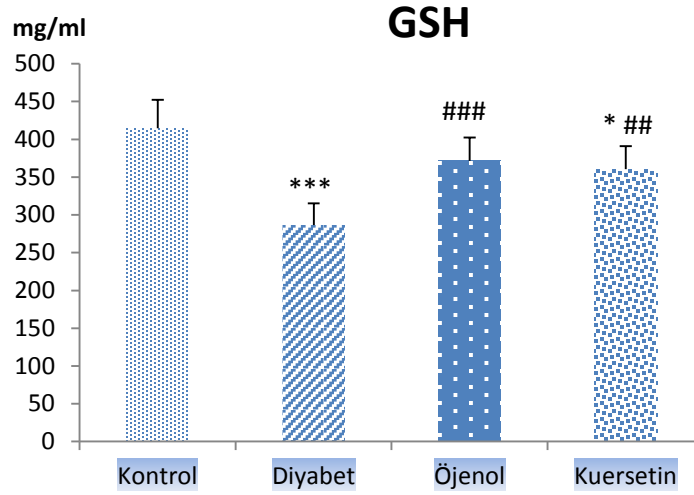
Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). ** $p < 0,01$ vs kontrol grubu, # $p < 0,05$ vs diyabet grubu

Serum SOD düzeylerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$). Öjenol ve kuersetin uygulanan grupların SOD düzeyi diyabet grubuna göre artmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Kontrol ve deney gruplarında Tukey HSD testine göre serum GSH düzeylerinde gruplar arası farklılık Tablo 4-8 ve Şekil 4-10'da verilmiştir.

Tablo 4-9: GSH değerlerinin kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.

GSH	Grup		p
	Kontrol	Diyabet	<0,001
		Öjenol	0,086
		Kuersetin	0,022
	Diyabet	Öjenol	<0,001
		Kuersetin	0,001
	Öjenol	Kuersetin	0,918



Şekil 4-11: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının serum GSH düzeyleri

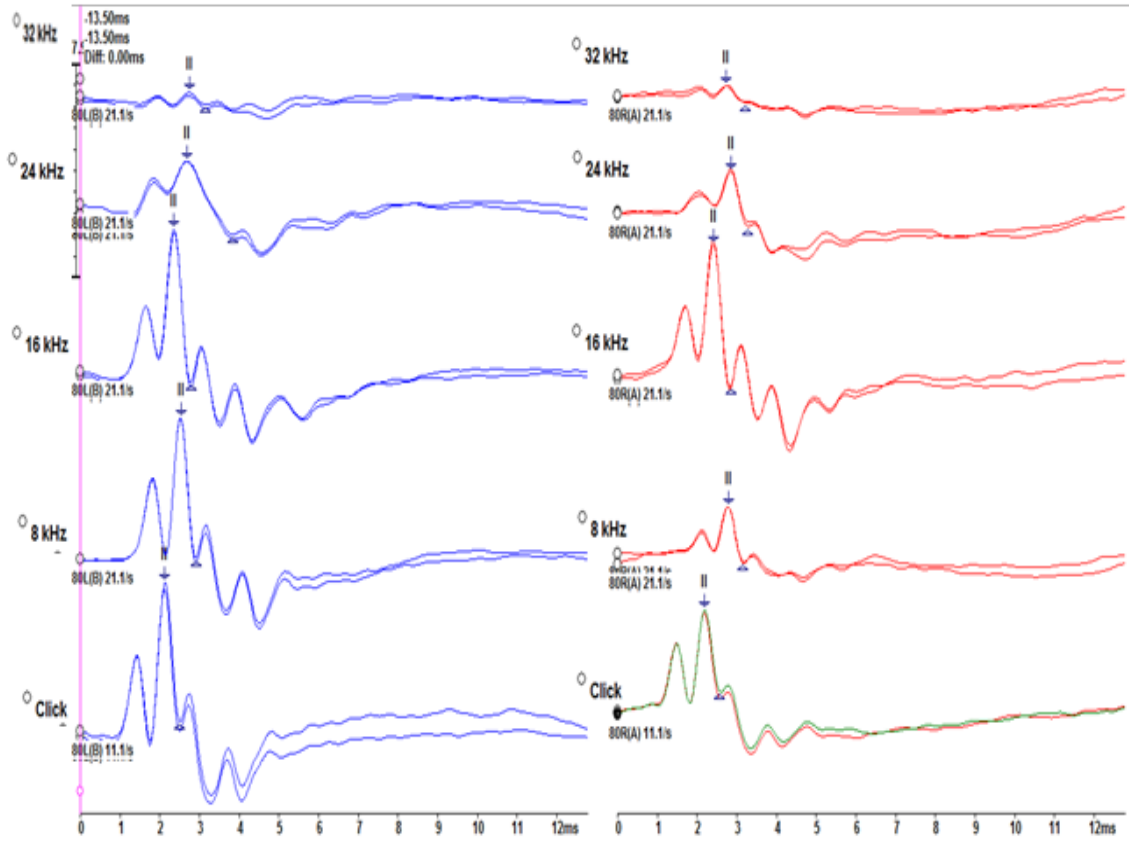
Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). *p<0,05, **p<0,001 vs kontrol, ##p<0,01, ###p<0,001 vs diyabet

Serum GSH düzeylerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Kuersetin grubu değerlerindeki değişim kontrol grubu ile anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Öjenol ($p<0,001$) ve kuersetin ($p<0,01$) uygulanan grubun GSH düzeyi diyabet grubuna göre artmış ve bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

4.4. İşitsel Fonksiyon Testi

Antioksidanların diyabet sonucu işitme fonksiyonuna etkisini araştırmak için kontrol ve deney gruplarındaki sıçanlarda işitsel fonksiyon testlerinden biri olan işitsel beyin sapı cevapları (ABR) ile işitme eşikleri belirlenmiştir.

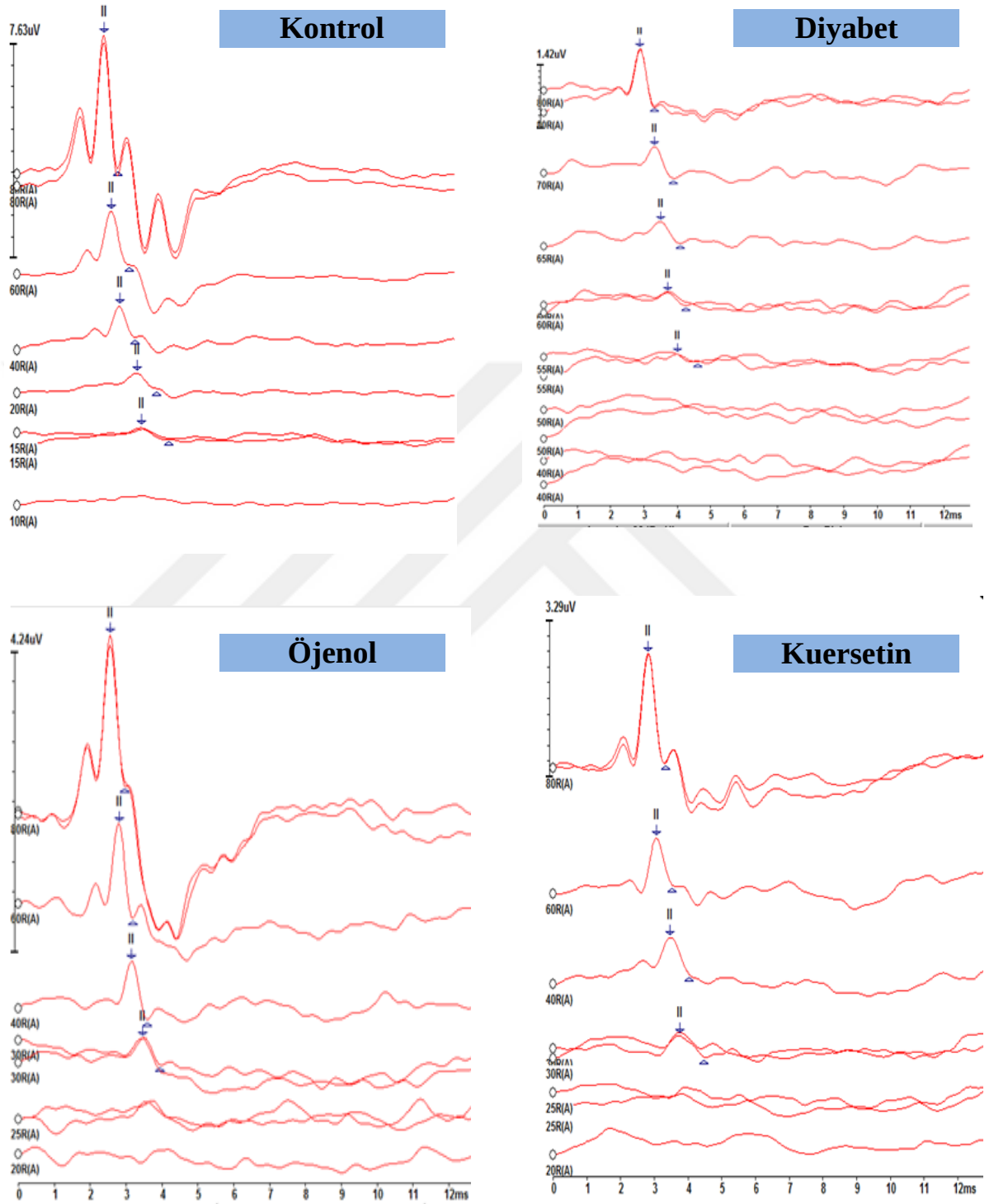
ABR testinde click ve tone burst uyaranlar (8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında) ile kontrol ve deney gruplarında 80 dB SPL'de sağ (kırmızı) ve sol (mavi) kulaklara ait sıçanlarda en belirgin olan II. dalgaların işaretlendiği dalga morfolojisi Şekil 4-12'de verilmiştir.



Şekil 4-12: Kontrol grubuna ait bir sıçanın sağ ve sol kulak 80 dB SPL’de click ve tone burst (8, 16, 24 ve 32 kHz) uyaranlardaki dalga morfolojisi.

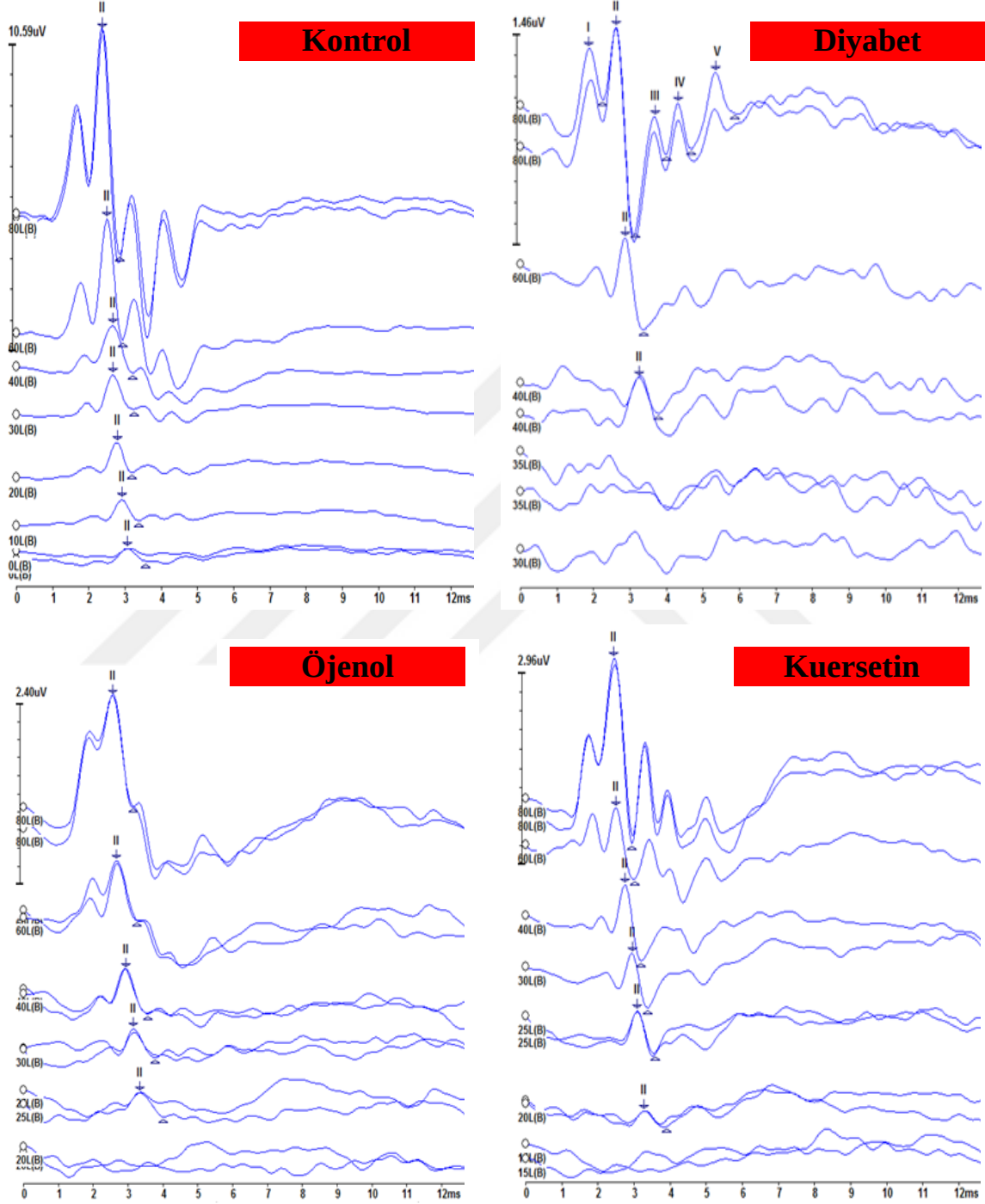
ABR testinde işitme eşiklerini belirlemek için kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların sağ ve sol kulaklarında (n=14) tone burst uyaranlar 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında sırasıyla 80 dB SPL’den başlanarak azalan adımlarla cevap aranmış herhangi bir cevap tespit edilemediğinde, bir cevap belirlenene kadar 5 dB’lik adımlarla artırılmıştır (Şekil 4-13, 14, 15, 16).

8 kHz



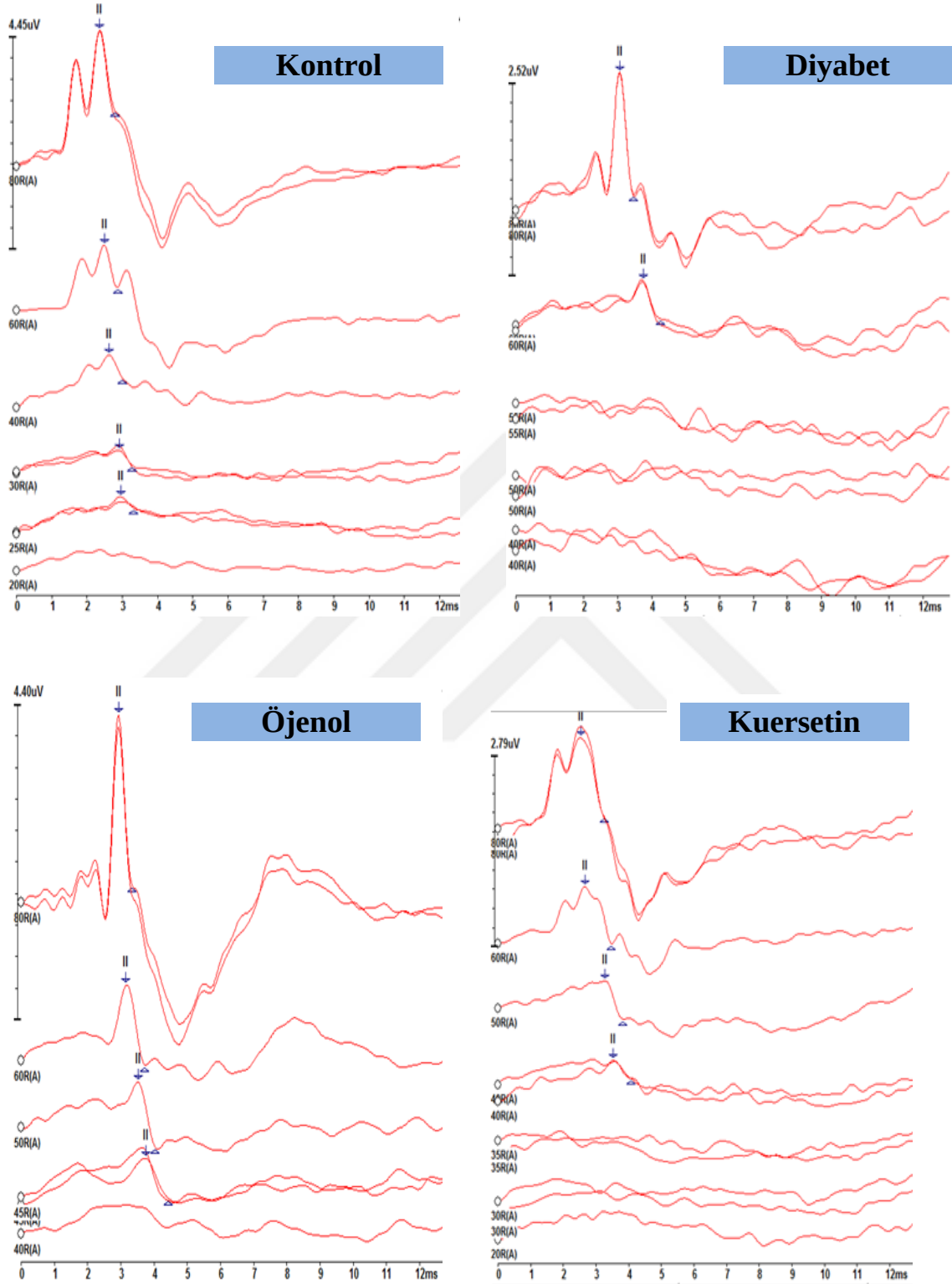
Şekil 4-13: 8 kHz tone burst uyaran ile kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarında sağ kulak eşik değeri belirleme örnekleri.

16 kHz



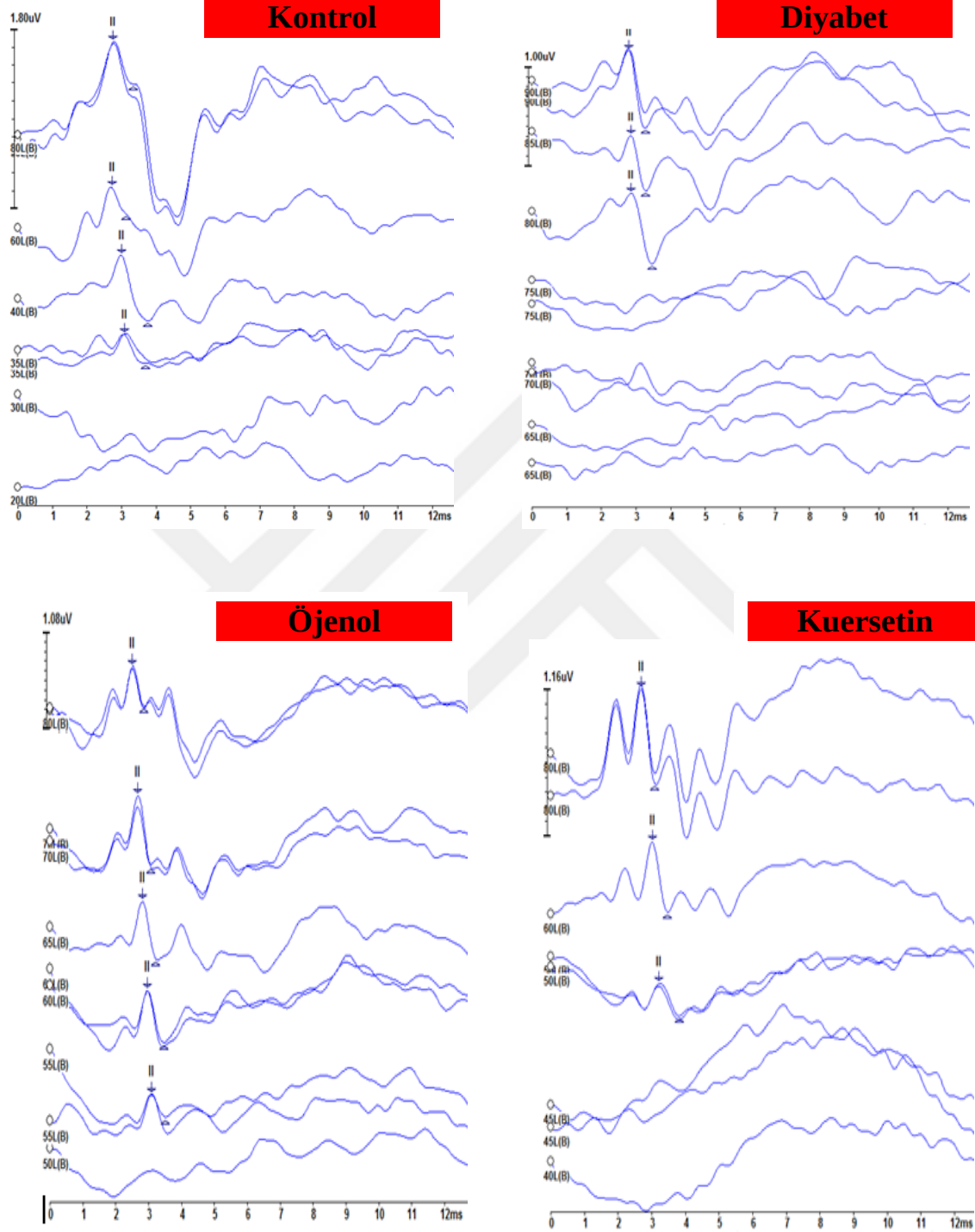
Şekil 4-14: 16 kHz tone burst uyararı ile kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarında sol kulak eşik değeri belirleme örnekleri.

24 kHz



Şekil 4-15: 24 kHz tone burst uyaran ile kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarında sağ kulak eşik değeri belirleme örnekleri.

32 kHz



Şekil 4-16: 32 kHz tone burst uyararı ile kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarında sol kulak eşik değeri belirleme örnekleri.

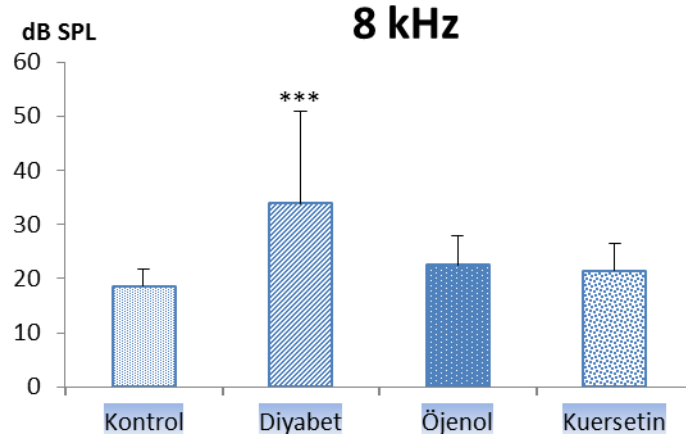
ABR testinde kontrol ve deney gruplarında tone burst uyaranlar 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında 80 dB SPL'den başlanarak azalan adımlarla cevap aranmış herhangi bir cevap tespit edilemediğinde, bir cevap belirlenene kadar 5 dB'lik adımlarla artırılarak eşik değerleri belirlenmiş olup ortalama, standart sapma ve istatistik değerleri Tablo 4-10'da gösterilmiştir.

Tablo 4-10: Kontrol ve deney gruplarının sağ ve sol kulak 8, 16, 24 ve 32 kHz uyaranlarda eşik değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.

EŞİK DEĞERLERİ		Ortalama (dB SPL)	Std. Sapma	X ² ya da F *	p
8 kHz	Kontrol	18,57	3,06	15,423	0,001
	Diyabet	33,93	17,00		
	Öjenol	22,50	5,46		
	Kuersetin	21,43	4,97		
16 kHz	Kontrol	0,71	1,82	14,851	0,002
	Diyabet	17,86	16,02		
	Öjenol	11,43	14,06		
	Kuersetin	12,86	13,26		
24 kHz	Kontrol	26,43	9,69	8,363	<0,001
	Diyabet	48,57	14,47		
	Öjenol	38,21	10,12		
	Kuersetin	40,71	12,54		
32 kHz	Kontrol	28,21	11,7	30,085	<0,001
	Diyabet	70,00	14,68		
	Öjenol	51,79	16,94		
	Kuersetin	55,71	17,08		

* 24 kHz F değeri olup diğerleri X² değerleridir.

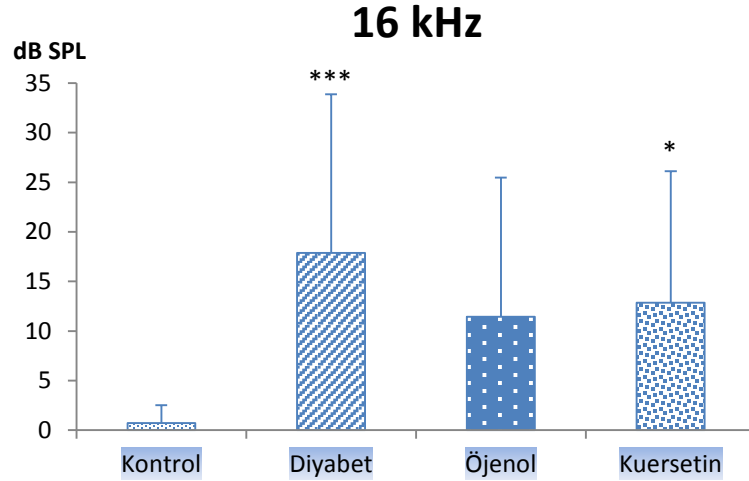
Tablo 4-10'a göre kontrol ve deney gruplarında 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında elde edilen işitme eşiklerine ilişkin değerlendirmede tümünde istatistiksel anlamlılık mevcuttur ($p < 0,5$). Post Hoc analizleri ile ilgili frekanslarda gruplar arası farklılıklar Şekil 4-17, 18, 19, 20' de gösterilmiştir.



Şekil 4 -17: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 8 kHz eşik değerleri.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). *** p<0,001 vs kontrol grubu

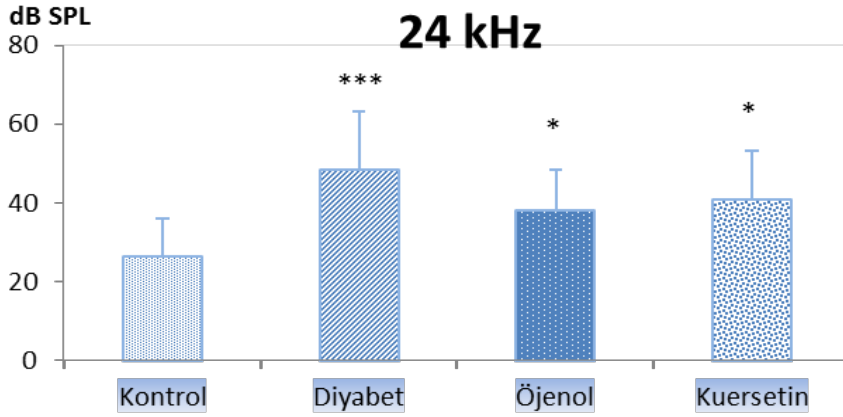
8 kHz uyaranda elde edilen eşik değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,001).



Şekil 4-18: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 16 kHz eşik değerleri.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). * p<0,05 , *** p<0,001 vs kontrol grubu

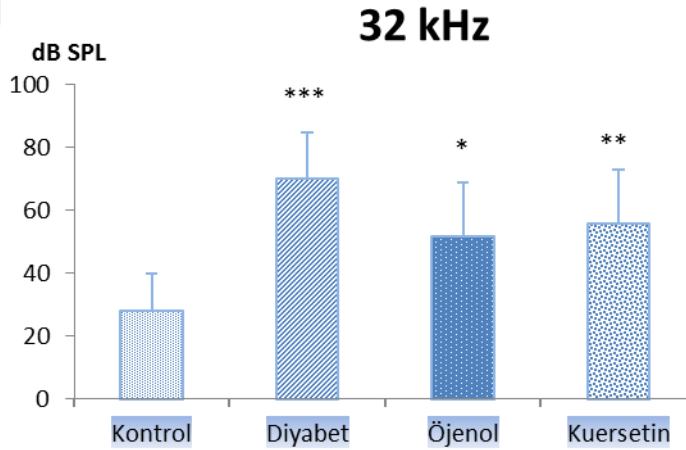
16 kHz uyaranda elde edilen eşik değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,001). Kuersetin grubu da kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05).



Şekil 4-19: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 24 kHz eşik değerleri.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). * $p<0,05$, *** $p<0,001$ vs kontrol grubu

24 kHz uyaranda elde edilen eşik değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Öjenol ve kuersetin grupları da kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4-20: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 32 kHz eşik değerleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (n=14). * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ vs kontrol

32 kHz uyaranda elde edilen eşik değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ($p<0,001$). Öjenol grubu kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kuersetin grubu da kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

ABR testinde kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların sağ ve sol kulaklarında (n=14) tone burst uyaranlar 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında sırasıyla 80 dB SPL’de click uyaran da dahil edilerek I, II, III, IV ve V. dalgaların latansları belirlenmiştir (Şekil 4-21, Şekil 4-22).

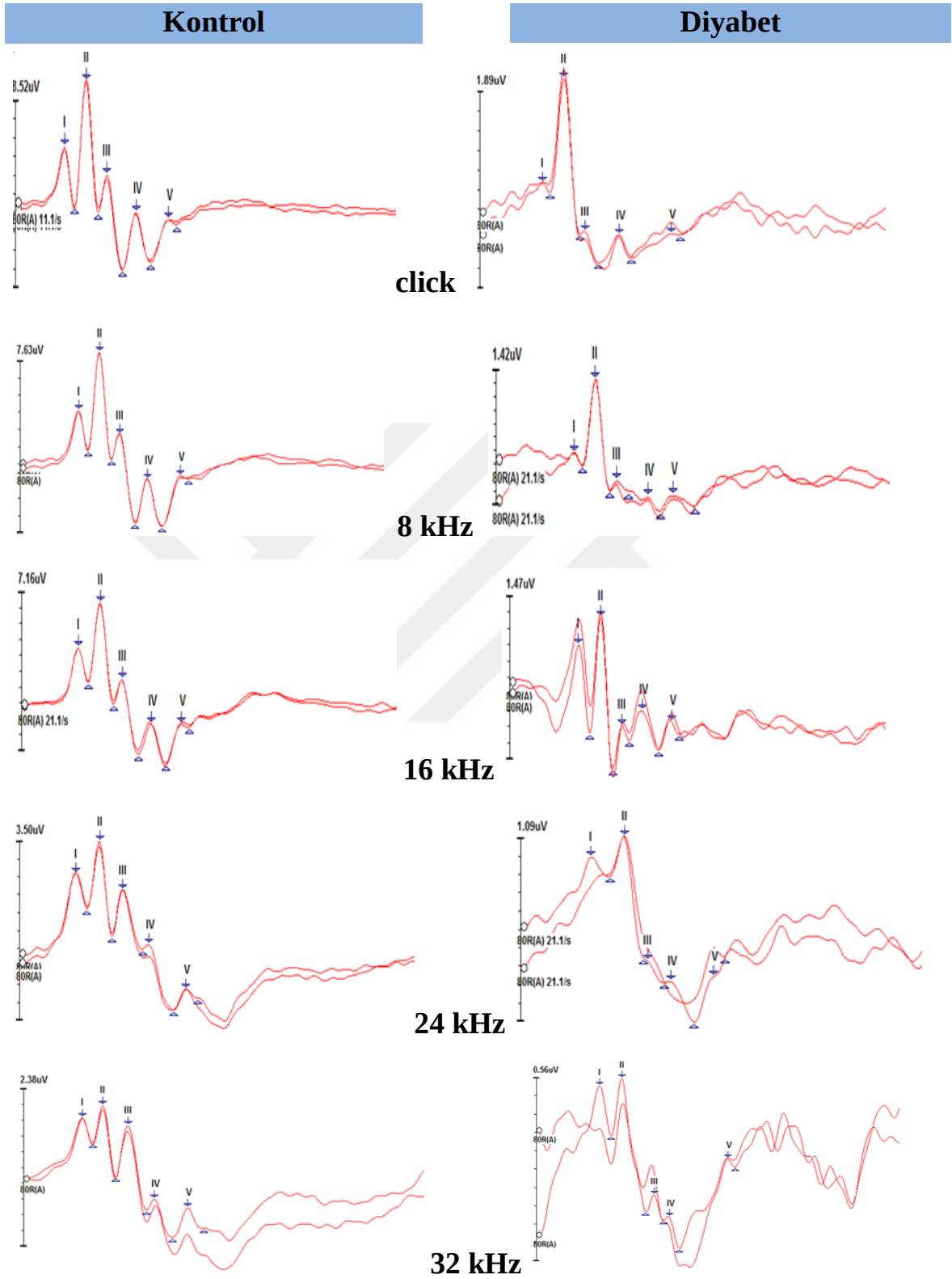
Sıçanlarda belirleyici olan II. dalganın latansları 80 dB SPL’de click uyaran ile 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki tone burst uyaranlar sonucunda elde edilen değerlerin ortalama, standart sapma ve istatistik değerleri Tablo 4-11’de gösterilmiştir.

Tablo 4-11: Kontrol ve deney gruplarının sağ ve sol kulak 80 dB SPL’de click ile 8, 16, 24 ve 32 kHz uyaranlarda II. dalga latans değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.

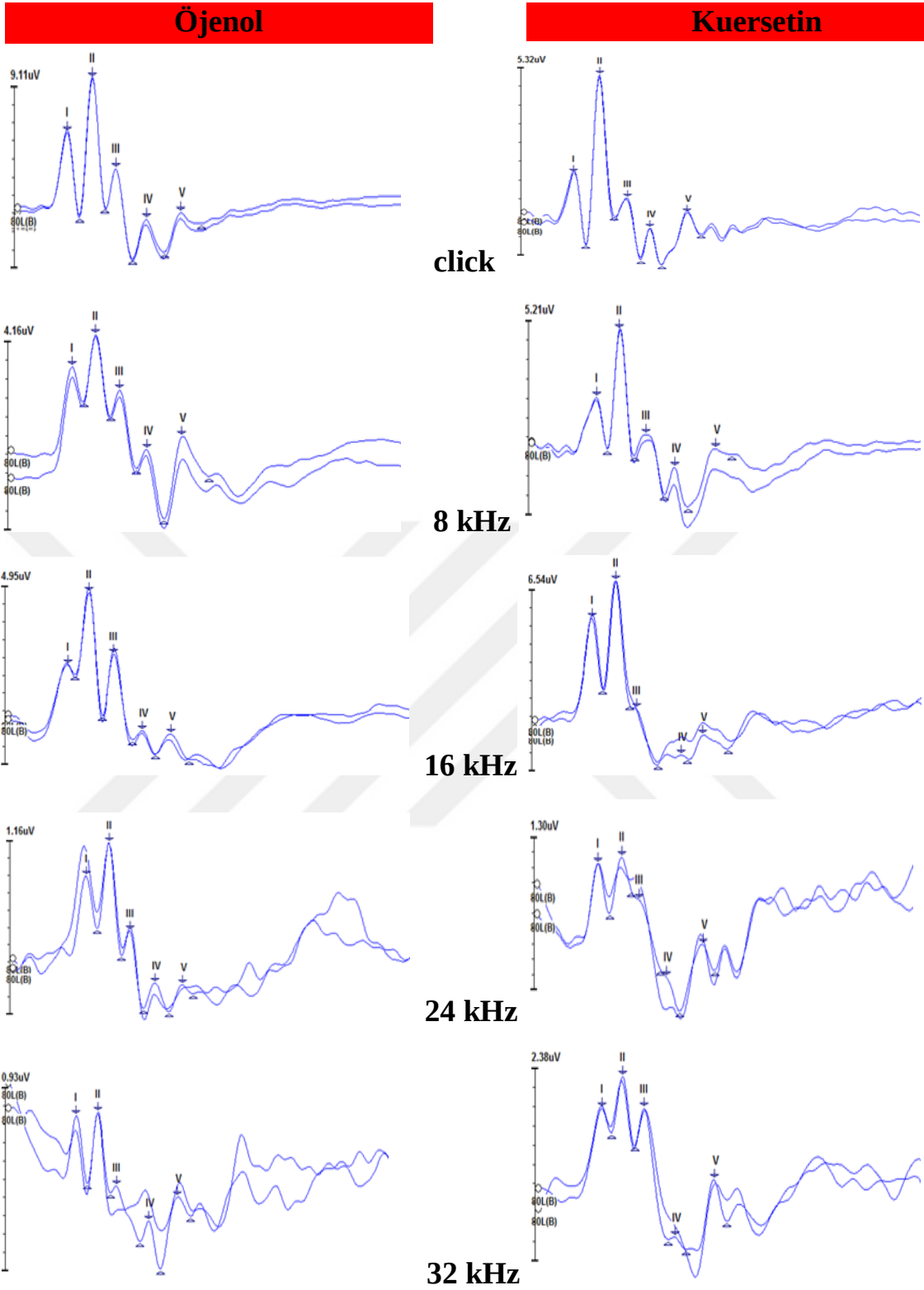
II. DALGA LATANS		Ortalama (ms)	Std. Sapma	X ² ya da F *	p
Click	Kontrol	2,27	0,12	10,171	0,017
	Diyabet	2,39	0,10		
	Öjenol	2,31	0,06		
	Kuersetin	2,32	0,08		
8 kHz	Kontrol	2,60	0,10	5,326	0,149
	Diyabet	2,74	0,20		
	Öjenol	2,69	0,17		
	Kuersetin	2,69	0,11		
16 kHz	Kontrol	2,48	0,09	10,053	0,018
	Diyabet	2,59	0,10		
	Öjenol	2,51	0,09		
	Kuersetin	2,57	0,10		
24 kHz	Kontrol	2,67	0,22	0,928	0,819
	Diyabet	2,76	0,16		
	Öjenol	2,70	0,16		
	Kuersetin	2,73	0,19		
32 kHz	Kontrol	2,63	0,19	1,208	0,316
	Diyabet	2,77	0,23		
	Öjenol	2,74	0,22		
	Kuersetin	2,75	0,21		

* 32 kHz F değeri olup diğerleri X² değerleridir.

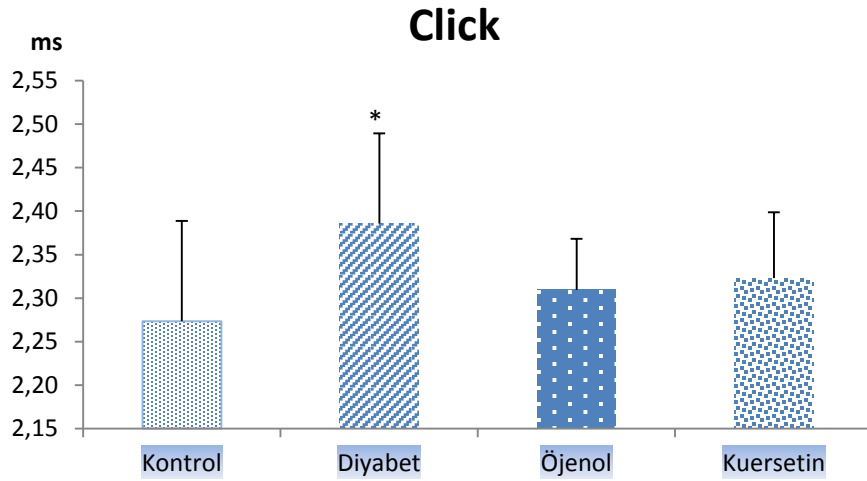
Tablo 4-11’e göre kontrol ve deney gruplarında 80 dB SPL’de click uyaran ile 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki tone burst uyaranlar ile elde edilen II. dalganın latanslarına ilişkin değerlendirmede click ve tone burst 16 kHz frekansındaki uyaranların II. dalga latans değerlerinde istatistiksel anlamlılık mevcuttur (p<0,05). Post Hoc analizleri ile ilgili frekanslarda gruplar arası farklılıklar Şekil 4-23, 24’te gösterilmiştir.



Şekil 4-21: Kontrol ve diyabet grubuna ait sağ kulak 80 dB SPL click ve tone burst (8, 16, 24 ve 32 kHz) uyaranlarda ABR testi dalga morfolojisi.



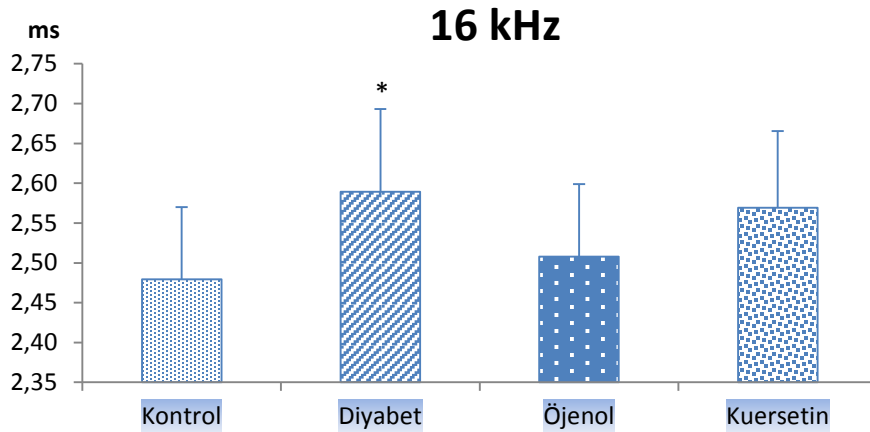
Şekil 4-22: Öjenol ve kuersetin grubuna ait sol kulak 80 dB SPL click ve tone burst (8, 16, 24 ve 32 kHz) uyarılarda ABR testi dalga morfolojisi.



Şekil 4-23: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının click II. dalga latansları.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). * $p < 0,05$ vs kontrol

80 dB SPL’de click uyaranda elde edilen II. dalga latanslarına gruplar arası bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 4-24: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının 16 kHz II. dalga latansları.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). * $p < 0,05$ vs kontrol

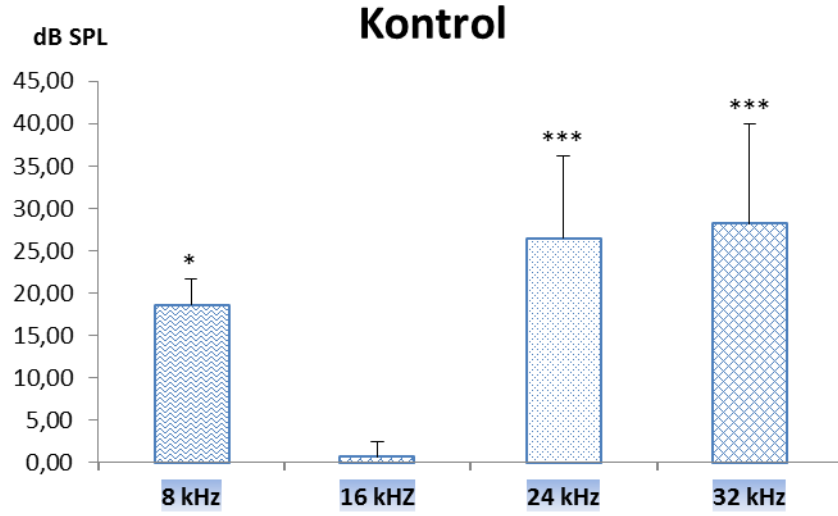
80 dB SPL’de 16 kHz tone burst uyaranda elde edilen II. dalga latanslarına gruplar arası bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

ABR testinde işitme eşiklerini belirlemek için kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların sağ ve sol kulaklarında (n=14) tone burst uyaranlar 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında sırasıyla 80 dB SPL'den başlanarak azalan adımlarla cevap aranmış herhangi bir cevap tespit edilemediğinde, bir cevap belirlenene kadar 5 dB'lik adımlarla arttırılmıştır. Kontrol ve deney gruplarında 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri her bir grupta frekanslara göre kıyaslanmış olup ortalama ve standart sapma değerleri ile istatistiksel değerlendirmesi Tablo 4-12'de verilmiştir.

Tablo 4-12: Kontrol ve deney gruplarının sağ ve sol kulak eşik değerlerinin 8, 16, 24 ve 32 kHz uyaranlarda grup içi frekansa özgü eşik değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.

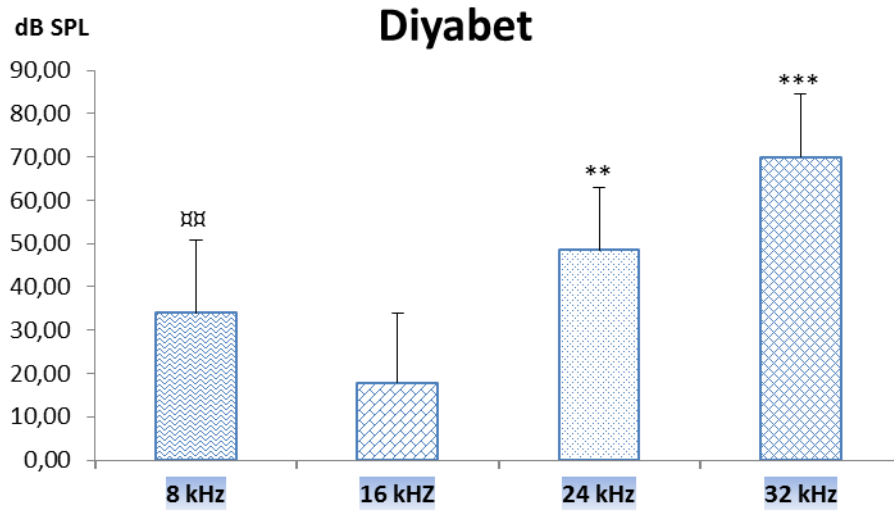
EŞİK DEĞERLERİ		Ortalama (dB SPL)	Std. Sapma	X ²	p
Kontrol	8 kHz	18,57	3,06	30,762	p<0,001
	16 kHz	0,71	1,82		
	24 kHz	26,43	9,69		
	32 kHz	28,21	11,7		
Diyabet	8 kHz	33,93	17	35,14	p<0,001
	16 kHz	17,86	16,02		
	24 kHz	48,57	14,47		
	32 kHz	70,00	14,68		
Öjenol	8 kHz	22,5	5,46	35,222	p<0,001
	16 kHz	11,43	14,06		
	24 kHz	38,21	10,12		
	32 kHz	51,79	16,94		
Kuersetin	8 kHz	21,43	4,97	30,451	p<0,001
	16 kHz	12,86	13,26		
	24 kHz	40,71	12,54		
	32 kHz	55,71	17,08		

Tablo 4-12'ye göre kontrol ve deney gruplarında 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri her bir grupta frekanslara göre elde edilen işitme eşiklerine ilişkin değerlendirilmesine göre tümünde istatistiksel anlamlılık mevcuttur (p<0,001). Post Hoc analizleri ile grup içi ilgili frekanslar arası farklılıklar Şekil 4-25, 26, 27, 28' de gösterilmiştir.



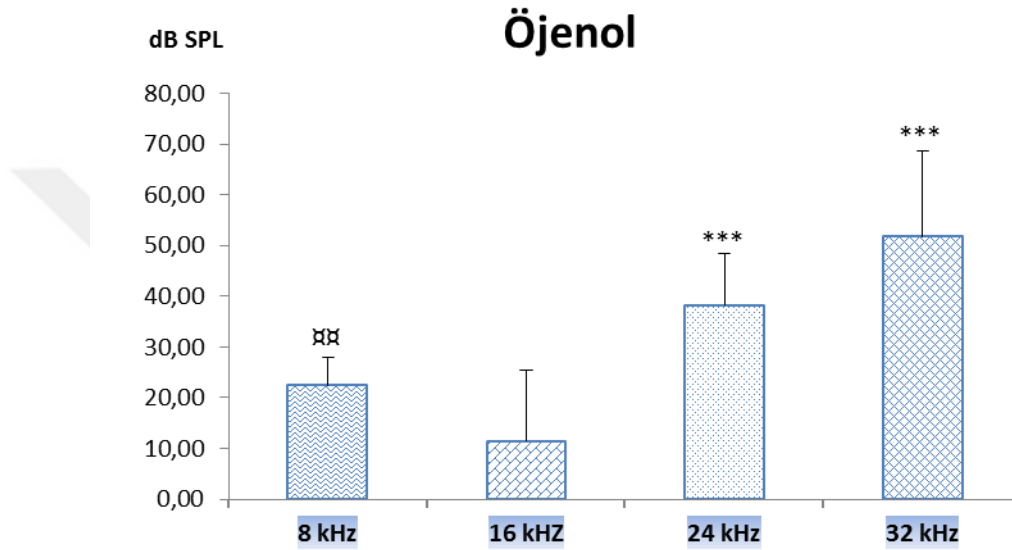
Şekil 4-25: Kontrol grubunun 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri.
Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). *p<0,05 , ***p<0,001 vs 16 kHz

Kontrol grubunda 8, 16, 24 ve 32 kHz tone burst uyaranlar sonucu elde edilen işitme eşik değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=30,762$, $p<0,001$). Post Hoc analizi sonrasında 16 kHz ile 8 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur ($p=0,032$). 16 kHz ile 24 kHz ve 16 kHz ile 32 kHz arasında da istatistiksel olarak anlamlılık vardır ($p<0,001$).



Şekil 4-26: Diyabet grubunun 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri.
Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). **p<0,01, ***p<0,001 vs 16 kHz, □□p<0,01 vs 32 kHz

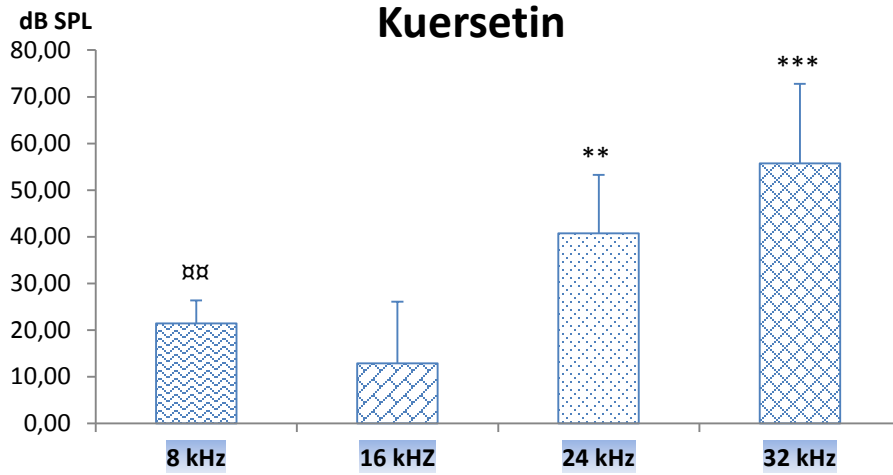
Diyabet grubunda 8, 16, 24 ve 32 kHz tone burst uyaranlar sonucu elde edilen işitme eşik değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=35,140$, $p<0,001$). Post Hoc analizi sonrasında 16 kHz ile 24 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur ($p=0,002$). 16 kHz ile 32 kHz arasında da istatistiksel olarak anlamlılık vardır ($p<0,001$). 8 kHz ile 32 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık vardır ($p=0,003$).



Şekil 4-27: Öjenol grubunun 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (n=14). *** $p<0,001$ vs 16 kHz, □□ $p<0,01$ vs 32 kHz

Öjenol grubunda 8, 16, 24 ve 32 kHz tone burst uyaranlar sonucu elde edilen işitme eşik değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=35,222$, $p<0,001$). Post Hoc analizi sonrasında 16 kHz ile 24 kHz ve 16 kHz ile 32 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur ($p<0,001$). 8 kHz ile 32 kHz arasında da istatistiksel olarak anlamlılık vardır ($p=0,003$).



Şekil 4-28: Kuersetin grubunun 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki eşik değerleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (n=14). ** p<0,01, *** p<0,001 vs 16 kHz, x p<0,01 vs 32 kHz

Kuersetin grubunda 8, 16, 24 ve 32 kHz tone burst uyaranlar sonucu elde edilen işitme eşik değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=30,451$, $p<0,001$). Post Hoc analizi sonrasında 16 kHz ile 24 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur ($p=0,009$). 16 kHz ile 32 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık vardır ($p<0,001$). 8 kHz ile 32 kHz arasında da istatistiksel olarak anlamlılık vardır ($p=0,001$).

ABR testinde kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların sağ ve sol kulaklarında (n=14) tone burst uyaranlar ile 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında sırasıyla 80 dB SPL'de click uyaran da dahil edilerek I, II, III, IV ve V. dalgaların latansları belirlenmiştir.

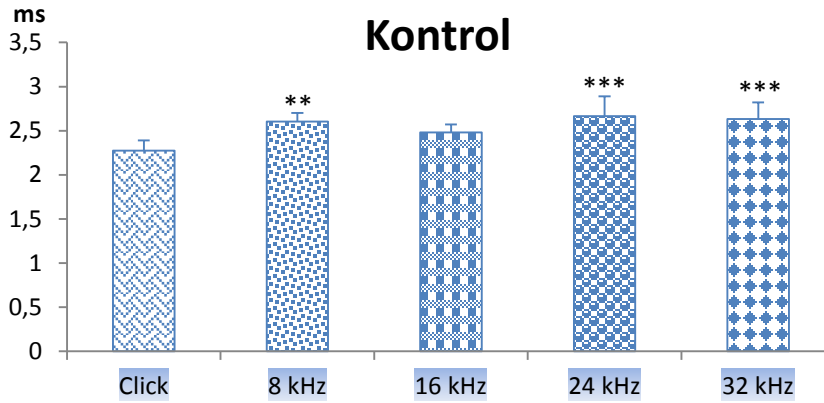
Sıçanlarda belirleyici olan II. dalga'nın latansları 80 dB SPL'de click uyaran ile 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki tone burst uyaranlar sonucunda elde edilen latans değerleri her bir grupta frekanslara göre kıyaslanmış olup ortalama ve standart sapma değerleri ile istatistiksel değerlendirmesi Tablo 4-13'te verilmiştir.

Tablo 4-13: Kontrol ve deney gruplarının sağ ve sol kulak 80 dB SPL’de click ile 8, 16, 24 ve 32 kHz uyarılarda grup içi frekansa özgü II. dalga latans değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.

II. DALGA LATANS		Ortalama (ms)	Std. Sapma	F , X ²	p
Kontrol	Click	2,274	0,115	27,25	<0,001
	8 kHz	2,603	0,099		
	16 kHz	2,479	0,091		
	24 kHz	2,666	0,222		
	32 kHz	2,631	0,191		
Diyabet	Click	2,386	0,104	32,54	<0,001
	8 kHz	2,74	0,203		
	16 kHz	2,589	0,104		
	24 kHz	2,756	0,162		
	32 kHz	2,774	0,234		
Öjenol	Click	2,309	0,059	36,49	<0,001
	8 kHz	2,694	0,172		
	16 kHz	2,508	0,091		
	24 kHz	2,701	0,156		
	32 kHz	2,735	0,219		
Kuersetin	Click	2,323	0,076	19,15	<0,001
	8 kHz	2,685	0,112		
	16 kHz	2,569	0,096		
	24 kHz	2,727	0,201		
	32 kHz	2,749	0,211		

* Kuersetin grubu F değeri olup diğerleri X² değerleridir.

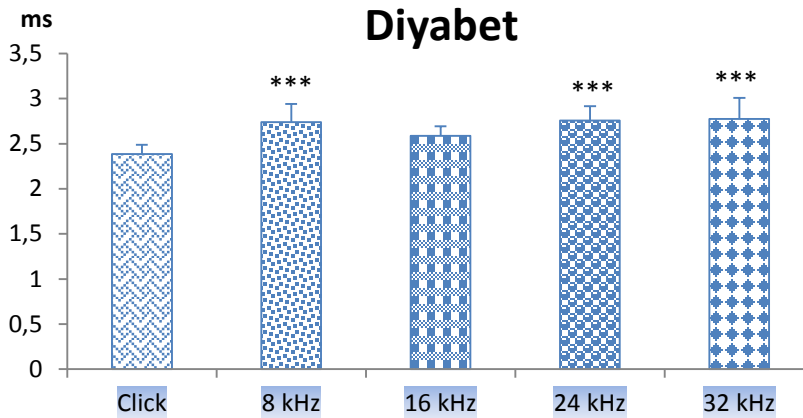
Tablo 4-13’e göre kontrol ve deney gruplarında 80 dB SPL’de 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki tone burst ve click uyarılar ile elde edilen II. dalga latans değerleri her bir grupta frekanslara göre elde edilen değerlendirmeye göre tümünde istatistiksel anlamlılık mevcuttur ($p < 0,001$). Post Hoc analizleri ile grup içi ilgili frekanslar arası farklılıklar Şekil 4-29, 30, 31, 32 ’de gösterilmiştir.



Şekil 4-29: Kontrol grubunun click ve tone burst uyarılardaki II. dalga latansları.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). **p<0,01 , ***p<0,001 vs click

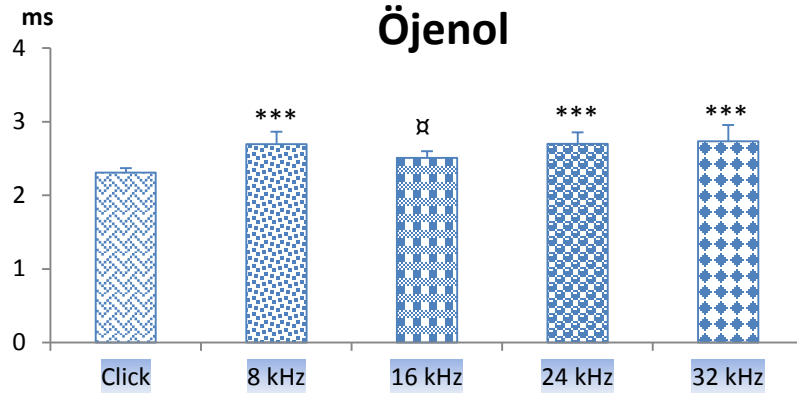
Kontrol grubunda click ile 8, 16, 24 ve 32 kHz tone burst uyarılar sonucu elde edilen II. dalga latans değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=27,25$, $p<0,001$). Post Hoc analizi sonrasında click uyarı ile 24 kHz arasında ve click uyarı ile 32 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur ($p<0,001$). Click uyarı ile 8 kHz arasında da istatistiksel olarak anlamlılık vardır ($p<0,01$).



Şekil 4-30: Diyabet grubunun click ve tone burst uyarılardaki II. dalga latansları.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=14). ***p<0,001 vs click

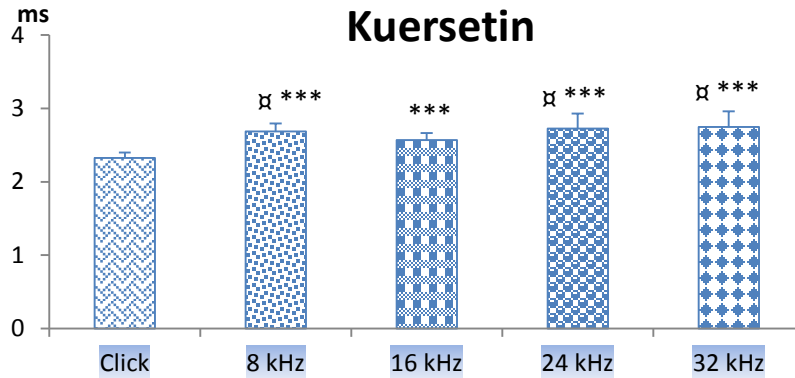
Diyabet grubunda click ile 8, 16, 24 ve 32 kHz tone burst uyarılar sonucu elde edilen II. dalga latans değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=32,54$, $p<0,001$). Post Hoc analizi sonrasında click uyarı ile 8 kHz, 24 kHz ve 32 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur ($p<0,001$).



Şekil 4-31: Öjenol grubunun click ve tone burst uyarılardaki II. dalga latansları.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (n=14). *** p<0,001 vs click, α p<0,05 vs 32 kHz

Öjenol grubunda click ile 8, 16, 24 ve 32 kHz tone burst uyarılar sonucu elde edilen II. dalga latans değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=36,49$, p<0,001). Post Hoc analizi sonrasında click uyarı ile 8 kHz, 24 kHz ve 32 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur (p<0,001). 32 kHz ile 16 kHz arasında da istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur (p<0,05).



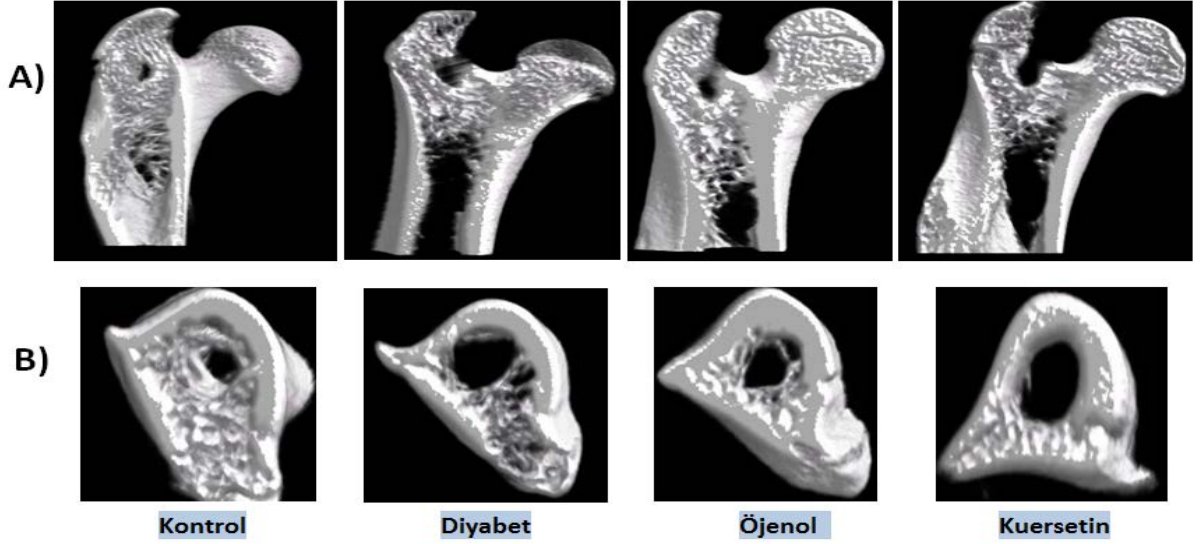
Şekil 4-32: Kuersetin grubunun click ve tone burst uyarılardaki II. dalga latansları.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir (n=14). *** p<0,001 vs click, α p<0,05 vs 16 kHz

Öjenol grubunda click ile 8, 16, 24 ve 32 kHz tone burst uyarılar sonucu elde edilen II. dalga latans değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (F=19,15, p<0,001). Post Hoc analizi sonrasında click uyarı ile 8 kHz, 16 kHz, 24 kHz ve 32 kHz arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur (p<0,001). 16 kHz ile 8 kHz, 24 kHz ve 32 kHz arasında da istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur (p<0,05).

4.5. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro BT) ile Femurların Taranması ve Analizi

Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların sağ femurlarından Mikro BT ile elde edilen kemik yapısı görüntüleri Şekil 4-33'te verilmiştir.



Şekil 4-33: Kontrol ve deney gruplarında sıçan femurunun 4,85 mm 'lik kesit alınan bölgesinin Mikro BT görüntüleri (A). Kontrol ve deney gruplarında sıçan femur başının Mikro BT görüntüleri (B).

Kontrol ve deney gruplarına ait Şekil 4-33'te Mikro BT görüntülerine bakıldığında trabeküler kemikte, özellikle diyabet grubunda kontrol grubuna göre deformasyonlar görülmektedir. Antioksidan olarak öjenol ve kuersetin uygulanan tedavi gruplarında diyabet grubuna göre trabeküler kemik yapısında deformasyonun daha az olduğu görülmektedir.

Mikro BT ile femurların densitometrik ve morfometrik ölçümleri sonucu yapılan analizlerin ortalama, standart sapma ve istatistiksel değerleri Tablo 4-14'de verilmiştir.

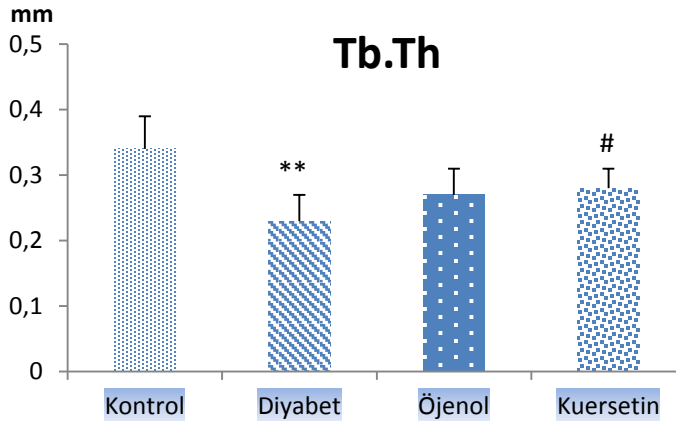
Kemik mineral yoğunluğu KMY (g/cm^3) trabeküler kemik hacmi / trabeküler doku hacmi Tb.BV/Tb.TV (%), trabeküler sayı Tb.N (mm^{-1}), trabeküler kalınlık Tb.Th (mm), kortikal kalınlık Ct.Th (mm), trabeküler ayrılma Tb.Sp (mm) ve yapı modeli indeksi (SMI) verilerinin Shapiro-Wilk testi ile normal dağılımı incelenmiş ve KMY kontrol grubu, Tb.Th diyabet ve öjenol grupları, SMI kuersetin grubu ve Ct.Th kontrol grubuna ilişkin verilerin normal dağılım göstermediği tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Dolayısıyla Tb.BV/Tb.TV, Tb.N, Tb.Sp Kruskal-Wallis testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. KMY, Tb.Th, SMI ve Ct.Th normal dağılım gösterdiğinden tek yönlü varyans testi (One-Way ANOVA) ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4-14: Kontrol ve deney gruplarının femur KMY, Tb.BV/Tb.TV, Tb.N, Tb.Th, Ct.Th, Tb.Sp ve SMI değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi.

Kruskal-Wallis		ORTALAMA	STD SAPMA	X ²	p
KMY (g/cm ³)	Kontrol	2,72	0,39	4,833	0,184
	Diyabet	2,25	0,53		
	Öjenol	2,49	0,49		
	Kuersetin	2,38	0,59		
Tb.Th (mm)	Kontrol	0,34	0,05	12,796	0,005
	Diyabet	0,23	0,04		
	Öjenol	0,27	0,04		
	Kuersetin	0,28	0,03		
SMI	Kontrol	0,55	0,23	9,942	0,019
	Diyabet	0,99	0,21		
	Öjenol	0,70	0,33		
	Kuersetin	0,66	0,13		
Ct.Th (mm)	Kontrol	0,95	0,11	2,438	0,487
	Diyabet	0,87	0,09		
	Öjenol	0,90	0,15		
	Kuersetin	0,90	0,10		
One -Way ANOVA		ORTALAMA	STD SAPMA	F	p
Tb.BV/Tb.Tv (%)	Kontrol	0,55	0,06	8,458	0,001
	Diyabet	0,38	0,07		
	Öjenol	0,43	0,08		
	Kuersetin	0,44	0,03		
Tb.N (mm ⁻¹)	Kontrol	1,69	0,09	0,769	0,523
	Diyabet	1,54	0,12		
	Öjenol	1,64	0,25		
	Kuersetin	1,65	0,25		
Tb.Sp (mm)	Kontrol	0,68	0,07	2,857	0,580
	Diyabet	0,81	0,12		
	Öjenol	0,72	0,08		
	Kuersetin	0,73	0,08		

Tablo 4-14'e göre Tb.Th gruplarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p < 0,01$). Bu farklılığın tespitinde Kruskal Wallis analizi kullanılmıştır. Farklılığın hangi gruplar arasından kaynaklandığı ikişerli olarak grupların karşılaştırılması sonucu tespit edilmiştir. Bunun için non parametrik testlerden Mann Whitney U testi kullanılmış, farklılığın diyabet ve kontrol grubu ile diyabet ve kuersetin gruplarından kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$), (Şekil 4-34).

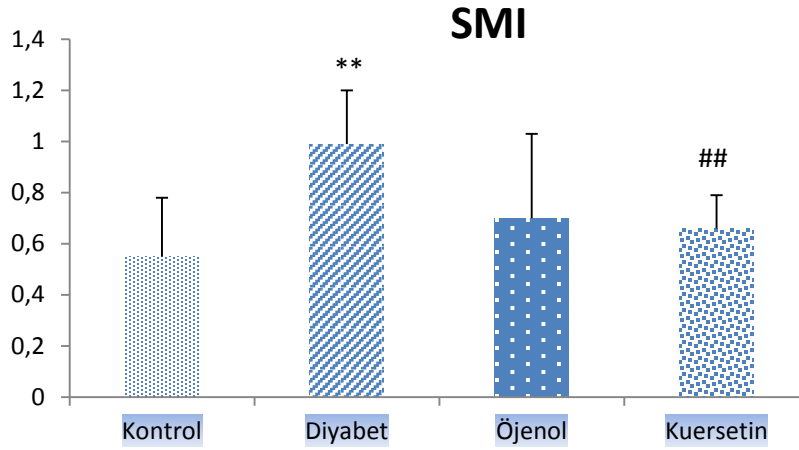


Şekil 4-34: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının femur Tb.Th düzeyleri.

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). ** $p<0,01$ vs kontrol grubu, # $p<0,05$ diyabet grubu

Femur Tb.Th değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Kuersetin grubu da diyabet grubuna göre artmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

SMI gruplarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Bu farklılığın tespitinde Kruskal Wallis analizi kullanılmıştır. Bu nedenle farklılığın hangi gruplar arasından kaynaklandığı ikişerli olarak grupların karşılaştırılması sonucu tespit edilmiştir. Bunun için non parametrik Mann Whitney U testi kullanılmış, farklılığın diyabet ve kontrol grubu ile diyabet ve kuersetin grubundan kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p<0,01$), (Şekil 4-35).



Şekil 4-35: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının femur SMI düzeyleri.

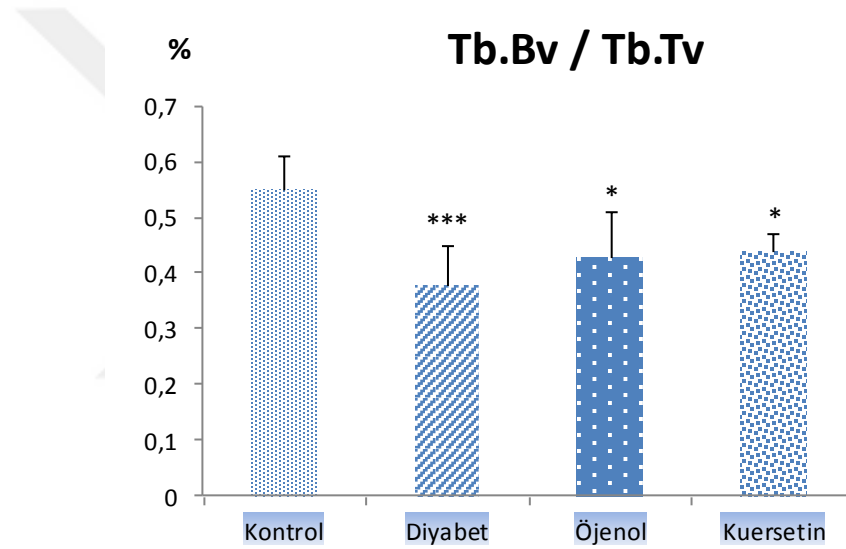
Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). ** p<0,01 vs kontrol grubu ## p<0,01 vs diyabet grubu

Femur SMI değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Kuersetin grubu da diyabet grubuna göre azalmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

Tb.BV/Tb.Tv gruplarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,01$). Bu farklılığın tespitinde One-Way ANOVA analizi kullanılmıştır. Farklılığın hangi gruplar arasından kaynaklandığı ikişerli olarak grupların karşılaştırılması sonucu tespit edilmiştir. Bunun için Tukey HSD testi kullanılmış, farklılığın kontrol grubuna göre diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarından kaynaklandığı tespit edilmiştir (Tablo 4-15, Şekil 4-36).

Tablo 4-15: Tb.BV / Tb.Tv kontrol ve deney gruplarında ikili karşılaştırılması.

Tb.BV / Tb.Tv	Grup		p
	Kontrol	Diyabet	<0,001
		Öjenol	0,011
		Kuersetin	0,025
	Diyabet	Öjenol	0,462
		Kuersetin	0,291
	Öjenol	Kuersetin	0,987

**Şekil 4-36: Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının Tb.Bv/Tb.Tv düzeyleri.**

Değerler ort. $\pm$ stand. sapma olarak gösterilmiştir (n=7). * $p<0,05$, *** $p<0,001$ vs kontrol grubu

Femur Tb.BV/Tb.Tv değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Öjenol ve kuersetin grubu da kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Kemik mineral yoğunluğu KMY (g/cm^3), kortikal kalınlık Ct.Th (mm), trabeküler sayı Tb.N (mm^{-1}) ve trabeküler ayrılma Tb.Sp (mm) değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Diabetes Mellitus (DM) dünya çapında artan insidansı ile muhtemelen gelecekte de en önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam edecektir. DM birçok sistemi etkileyebilir. Bu nedenle devamlı kontrol altında tutulması ve olası komplikasyonların önceden tahmin edilip ona göre tedbir alınması çok önemlidir.

DM'nin giderek artmakta olan prevalansı göz önünde bulundurulduğunda, hastaların yaşam kalitelerini düşüren komplikasyonları önlemeye yönelik tedavilerin önemi artmaktadır. Yeni ilaçların bulunması ve mevcut tedavi rejiminin iyileştirilmesi, diyabet ve komplikasyonları ile ilişkili mortaliteleri ve morbiditeleri azaltmak için gereklidir.

Sıçanlarda STZ+NA ile indüklenmiş deneysel diyabet modelinde, salt beta hücre disfonksiyonuna bağlı T2 DM modeli oluşturduğumuzdan, hiperglisemi dışında obeziteye bağlı diyabette olduğu gibi glukolipotoksisite ile hiperinsülinemi gibi etkenler devre dışı bırakılmıştır. Bu tez çalışmasında hiperglisemiye bağlı diyabetik komplikasyonların işitme ve kemik yapısı üzerine etkisi incelenmiştir.

Hem deneysel hem de klinik çalışmalarda artan kanıtlar, oksidatif stresin diyabetik doku hasarının patogenezinde ve progresyonunda rol oynadığını göstermektedir. Hiperglisemi sonucu oksidatif stresin antioksidanlar tarafından inhibisyonu, diyabet komplikasyonlarının tam olarak ortaya konulmasından sonra tamamen tersine çevrilemesede, doku hasarının gelişmesinden önce ilerlemeyi yavaşlatıcı veya önleyici tedavi ile komplikasyonların başlamasını önlediği kanıtlanmıştır.

Çalışmamızda STZ+NA indüklü T2 DM modeli oluşturulduktan 21 gün sonrasında, diyabet grubundaki sıçanların deney başlangıcı ve deney sonu süresindeki ağırlık değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik nöropatinin gelişmesi sürecinde sıçanlarda belirgin ağırlık kaybı olmayıp, 21 ve 49 gün aralığındaki ağırlıklarında T2 DM'nin doğası gereği ılımlı bir seyir gözlenmiştir. Öjenol grubunda deney başlangıcı ile 21 gün ve 49 gün sonrası arasındaki ağırlık değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0,01$). Diyabette oksidatif

strese bağlı komplikasyonların önlenmesinde antioksidanların rolü gereği öjenolün diyabetik sıçanların ağırlık kaybında iyileştirici rolü gözlenmiştir.

T2 DM hiperglisemiye bağlı yüksek kan şekeri (kan glikozu) değerleri ile karakterizedir. Çalışmamızda kan şekeri değerlerindeki istatistiksel anlamlılığa gruplarda zamana göre bakıldığında; öjenol grubunda deney başlangıcı ile 21 gün sonrası ($p<0,05$) ve deney sonu arasında ($p<0,01$) anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Benzer şekilde kuersetin grubunda ise deney başlangıcı ile deney sonu arasında ($p<0,001$) ve 21 gün sonrası ile deney sonu arasında ($p<0,01$) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Deney sonunda serum GHbA1c düzeylerine bakıldığında ise diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Öjenol uygulanan grubun GHbA1c düzeyi diyabet grubuna göre azalmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kuersetin uygulanan grubun GHbA1c değerleri diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

Kan şekeri değerleri ile GHbA1c değerleri birlikte değerlendirildiğinde, öjenolün ve kuersetinin deney boyunca kan şekeri seyri üzerine, deneysel T2 DM modelinde gelişen hiperglisemiye karşı dengeleyici rolleri olduğu görölmektedir.

STZ+NA indüklü deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yapılan bir çalışmada kuersetinin (50 mg/kg) hipoglisemik ve antidiyabetik etkileri gözlenmiştir (47). Fenolik bileşiklerin flavonoid grubuna ait kuersetinin diyabetteki etkileri üzerine pek çok araştırma mevcuttur. STZ+NA T2 DM modelinde de olumlu sonuçlarının olması nedeniyle çalışmamızda 50 mg/kg dozunda sıçanlara oral yolla verilmiştir. Fenolik bileşiklerin diğer bir grubu olan fenolik asitlere ait öjenolün ikinci bir antioksidan olarak çalışmaya seçilmesinin nedeni diyabetteki etkileri üzerine çok fazla araştırma olmaması ve STZ+NA modelindeki etkisinin daha önce incelenmemiş olmasıdır.

Karanfil ekstraktları (öjenol) ile db/db fareler beslendiğinde kan şekeri ve HbA1c seviyelerini açıkça düşürdüğü bulunmuştur (27). C57BL/6J farelerinde yüksek

yağlı diyet (HFD) ile hiperglisemi indüklenmiş ve öjenolün oral yolla 15 hafta boyunca 20 ve 40 mg/kg olarak ayrı ayrı uygulandığı bir çalışmada E40 grubunun plazma glikozu ve insülin seviyeleri, HFD kontrolü ile karşılaştırıldığında, sırasıyla % 31 ve % 63 oranında azalmıştır. Glikoz üretiminin öjenol tarafından bastırılmasının T2 DM için terapötik bir öneme sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (28).

T2 DM hayvan modelinde yapılan bir araştırmada kuersetinin hipoglisemik, hipolipidemik ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Deneyin sonunda, kuersetin grubunda kontrol grubuna göre daha düşük plazma glikoz seviyeleri ile insülin direncinin (HOMA-IR) homeostazis modeli değerlendirmesi dikkate alınarak kontrol grubuna göre daha düşük değerler bulunmuştur. Kuersetin tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) düzeylerini düşürerek, ROS (reaktif oksijen türleri), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidazdan (GSH-Px) detoksifikasyon işlemlerine dahil olan spesifik karaciğer enzimlerinin aktivitesini artırdığı görülmüştür. T2 DM’de kuersetinin antioksidan rolünün etkisi olduğu ileri sürülmüştür (29).

Diyabete bağlı olarak MDA düzeylerinde artma, SOD ve GSH düzeylerinde azalma olduğu kan ve doku çalışmalarındaki araştırmalar sonucunda ortaya konulmuştur. Sıçan serumlarında kontrol ve deney gruplarımızda (diyabet, öjenol ve kuersetin) ELISA yöntemi ile MDA, GSH, SOD düzeyleri belirlenmiştir. MDA düzeylerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Öjenol ve kuersetin uygulanan grupların MDA düzeyi diyabet grubuna göre azalmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Serum SOD düzeylerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Öjenol ve kuersetin uygulanan grupların SOD düzeyi diyabet grubuna göre artmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Serum GSH düzeylerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Öjenol ve kuersetin uygulanan grubun GSH düzeyi diyabet grubuna göre artmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

MDA, SOD ve GSH sonuçlarımızı birlikte değerlendirdiğimizde kontrol grubuna kıyasla diyabetik grupta artan MDA düzeyleri, öjenol ve kuersetinin

antioksidan rolleri gereği bu gruplarda daha düşük bulunmuştur. SOD ve GSH'da ise kontrol grubuna kıyasla diyabetik grupta azalan bu düzeyler, öjenol ve kuersetinin antioksidan rolleri gereği daha yüksek bulunmuştur.

Fare modelinde STZ ile indüklenen diyabetik işitsel nöropatinin ABR ile değerlendirilmesinin faydalı bir yöntem olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca işitsel uyarılmış yanıtın gecikmesi, işitme kaybının belirginleşmesinden önce işitsel sinir bozulmasının değerlendirilmesi açısından önemli olduğu vurgulanmıştır (64).

Biyokimyasal ve morfolojik çalışmalar ile bağlantılı olarak, T2 DM'li sıçanlarda işitsel uyarılmış potansiyellerin kullanıldığı ABR testi ile elde ettiğimiz dalgaların morfolojisi, latans ve eşik kayması verilerinden yola çıkarak diyabetik polinöropatinin patogenezinde ve gelişiminde önemli bilgiler sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

STZ indüklü T1 DM benzeri deneysel diyabet modellerinde ABR ile işitme kaybı değerlendirilmesiyle ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Spontan, genetik veya HFD vb. T2 DM modellerinde az sayıda işitme kaybı araştırmasının olması, STZ+NA T2 DM modelinde işitme kaybının ABR değerlendirilmesi üzerine araştırma olmaması ve T2 DM'de fizyopatolojik farklılık nedeni ile T1 DM'ye nazaran diyabetik işitsel komplikasyonun belirgin görülmesi sebebiyle çalışmamızda yeni bir deneysel hayvan modeli olan STZ+NA T2 DM modeli kullanılmıştır.

Alvarado ve arkadaşlarının sağlıklı Wistar cinsi sıçanlarda yaptıkları ABR normalizasyon çalışmasında, 7 farklı frekansta (0,5 , 1, 2, 4, 8, 16, ve 32 kHz) 80 dB SPL'de elde edilen dalgaların morfolojisine bakıldığında düşük ve orta frekanslardaki dalgaların kompleksleri belirgin iken daha yüksek frekanslarda dalgalar tek pik olarak ortaya çıkmıştır (60).

Sprague Dawley cinsi sıçanlarda elde ettiğimiz ABR dalgalarının morfolojilerine bakıldığında; 80 dB SPL'de click ve tone burst uyarılarda (8, 16, 24 ve 32 kHz), sıçanlarda belirgin olan II. dalga başta olmak üzere, düşük frekanslarda dalga kompleksleri ile yüksek frekanslarda tek pik şeklinde görülen dalgalar elde edilmiş olup Alvarado ve arkadaşlarının yaptıkları normalizasyon sonuçları ile benzer bulunmuştur.

ABR parametreleri (eşik, dalga latansları ve amplitüdüleri) arasındaki ilişkisini ve ABR dalgalarının morfolojisinin yanı sıra bu parametrelerin hangi durumlarda nasıl değişebileceğini bilmek, diyabet komplikasyonu olarak işitme kaybı anormalliklerini tanımlamak için kullanılabilecek temel kriterleri oluşturmak açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

2 aylık Sprague Dawley cinsi sıçanlarda 70 mg STZ indüklü T1 DM benzeri diyabet modeli oluşturulan bir çalışmada diyabet oluşumundan 3 (13 hayvan) ve 5 ay sonra (9 hayvan) ölçümler yapılmıştır. Hayvan sayısı diyabet sürecindeki ölümlere bağlı olarak değişmiştir. Diyabet indüksiyonundan 90 ve 150 gün sonra ABR ile değerlendirilen sıçanların I. ve IV. dalga latanslarında anormal uzama görülmüştür (97).

Farelerde STZ ile indüklenmiş diyabet modelinde kontrollere kıyasla click ve 8 kHz tone burst uyaranda artmış işitme eşikleri ile ABR'de I. ve IV. dalgalarda latans kaymaları gözlenmiştir (83).

STZ+NA diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlardan elde ettiğimiz sonuçlarda; diyabet grubunda 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki işitme eşiklerinde kontrol grubuna göre belirgin bir artış mevcuttur. 80 dB SPL'de click ve tone burst uyarılarda (8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında) elde edilen II. dalga latanslarının diyabet grubunda kontrole kıyasla uzadığı görülmüştür.

Çalışmamızda 8 kHz uyaranda elde edilen eşik değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). 16 kHz uyaranda elde edilen eşik değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Kuersetin grubu da kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 24 kHz uyaranda elde edilen eşik değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Öjenol ve kuersetin grupları da kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 32 kHz uyaranda elde edilen eşik değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Öjenol grubu kontrol grubu ile istatistiksel

olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kuersetin grubu da kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında tone burst uyaranlar ile kontrol ve deney gruplarında ABR ile belirlenen işitme eşikleri birlikte değerlendirildiğinde tüm frekanslarda, diyabetik grupta kontrol grubuna göre eşikler artmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). 8 kHz'deki eşik değerlerinde diyabet indüklendikten 21 gün sonra antioksidan özellikli öjenol ve kuersetin uygulanan gruplarda anlamlı bir değişim bulunmamıştır. 16 kHz'de kuersetin grubundaki eşiklerde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. 24 ve 32 kHz frekanslarında elde edilen eşik değerlerine bakıldığında hem kuersetin hem de öjenol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmektedir.

Diyabetik sıçanlarda yapılan bir çalışmada, ABR'de 8 kHz tone burst uyaranla elde edilen işitme eşiği sonuçlarının click uyaran ile benzer bir eğilim gösterdiği bulunmuştur (83).

Diyabet modelimizdeki sıçanların ABR testinde, 80 dB SPL click uyaran ve 8 kHz frekansında tone burst uyaran ile elde edilen II. dalgaya ait latans kaymaları ve dalga morfolojileri kontrol ve deney gruplarında benzer bulunmuştur.

C57BL/6 farelerinde STZ ile T1 DM benzeri diyabet modelinde 1, 3 ve 5. aylarda kontrol ve diyabet grubunda 4, 8, 16 ve 32 kHz frekanslarındaki uyaranlar ile yapılan ABR testinde sadece 1. ayda 4 kHz uyaranda diyabet grubunun kontrol grubuna göre işitme eşiği yüksek bulunmuştur (78).

STZ+NA T2 DM modeli oluşturturduğumuz sıçanlarda diyabet indüksiyonundan 49 gün sonra yapılan ABR sonuçlarımıza göre diyabet grubunda kontrol grubuna göre işitme eşikleri 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

İnsanlarda da olduğu gibi diyabet komplikasyonlarının etkisi herkeste aynı değildir. Bulgularımızda bazı hayvanların diyabete bağlı işitme komplikasyonundan aynı oranda etkilenmediği, sağ ve sol kulak eşik değerlerinin benzer ama aynı değerlerde olmadığı görülmüştür.

ABR dalgalarının 6 - 32 kHz aralığında farklı frekanslardaki analizinde, 16 kHz frekansındaki tone burst uyaran ile elde edilen dalga morfolojisinin en net ve belirgin olduğu bildirilmiştir (79).

ABR bulgularımıza bakıldığında kontrol ve deney gruplarında (diyabet, öjenol ve kuersetin grupları) eşik belirlemede ve 80 dB SPL'de elde edilen dalgaların morfolojilerinde, diğer frekanslardaki (8, 24 ve 32 kHz) tone burst ve click uyaranla elde edilen dalgalara göre en net ve belirleyici frekansın 16 kHz olduğu gözlenmiştir.

Orta yaş CBA/CaJ farelerinde STZ indüklü T1 DM ve yüksek yağlı diyet ile T2 DM oluşturulan bir araştırmada, 6 aylık bir süre boyunca işitme yetenekleri prospektif olarak değerlendirilmiştir. Her iki diyabet türü için ABR'de eşik yükselmeleri bulunmuş ancak diyabetin indüksiyonundan 2 ay sonra başlayarak en çok eşik yükselmesi T2 DM'de belirlenmiştir (82).

Mikroanjiyopati veya periferik nöropati bulgusu olmayan 63 T2 DM hastası kontrol grubu (37 kişi) ile karşılaştırıldığında serumlarında protein oksidasyon ürünleri, nitrik oksit ve enzimatik antioksidan aktivitesi (GSH-Px, SOD) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu bulgular diyabete bağlı oksidatif stres ile işitme kaybı arasında bir ilişkinin varlığını ortaya koymaktadır (80).

DM'de hiperglisemi, endotel disfonksiyonu ve periferik nöropati dahil olmak üzere vasküler komplikasyonlara katkıda bulunan oksidatif stres ve proenflamatuvar değişikliklere neden olmaktadır. Diyabetik sıçanların öjenolün besin takviyesiyle tedavisine yönelik yapılan bir araştırma sonucuna göre, antioksidan ve antienflamatuvar özelliklerine bağlı olarak sinir ve vasküler endotel fonksiyonunda yararlı etki göstermiştir (24).

Diyabetik nöropati nöronların normal boyutunda ve yoğunluğunda değişime neden olarak nöronların işlevlerini bozmaktadır. Kuersetin verilen sıçanlarda yapılan bir çalışmada kuersetinin nöron ve glia hücrelerinin yoğunluğunu ve kütlelerini koruduğu bulunmuştur (31). Ayrıca diyabetik sıçanlarda hafıza disfonksiyonunu azalttığı da bildirilmiştir (32).

Çalışmamızda kontrol ve deney gruplarında elde edilen işitme eşikleri sonuçlarına bakıldığında antioksidan özellikli kuersetin ve öjenolün özellikle yüksek frekanslardaki (24 ve 32 kHz) diyabet kaynaklı oksidatif hasar sonucu işitme kaybında koruyucu rollerinin olduğu ispatlanmıştır.

STZ ile indüklenmiş T1 DM ile genetik T2 DM'li farelere antioksidan özellikli kırmızı Kore ginsenginin işitme üzerine etkisi araştırılmıştır: 8 hafta sonra yapılan ABR testinde her iki diyabet modelinde de işitme eşiklerinde kontrollere kıyasla artış bulunmuştur. Kırmızı ginsengin T2 DM fare modelinde işitme eşiği artışını baskıladığını ve işitsel sinir fonksiyonlarını iyileştirdiğini gösterirken, T1 DM fare modelinde ise eşiklerde hiçbir iyileşme gözlenmemiştir. Benzer şekilde ginseng verilen T2 DM modelinde dalga latanslarının kaymasını baskılamasına rağmen T1 DM modelinde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (84).

Deneyssel çalışmamızda kontrol ve deney gruplarında 80 dB SPL'de click uyaran ile 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarında elde edilen II. dalganın latanslarına ilişkin değerlendirmede, click ve 16 kHz frekansındaki uyaranların II. dalga latans değerlerinde diyabet grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık mevcuttur ($p<0,05$).

Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının ayrı ayrı 80 dB SPL'de 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki II. dalga latans değerleri her bir grupta frekanslara göre değerlendirildiğinde, tümünde istatistik anlamlılık bulunmuştur ($p<0,001$).

Kontrol, diyabet, öjenol ve kuersetin gruplarının ayrı ayrı 8, 16, 24 ve 32 kHz frekanslarındaki işitme eşikleri değerlendirilmiştir. Tüm gruplarda en düşük eşik değere 16 Hz, sonra 8 kHz, 24 kHz ve en yüksek eşik değere 32 kHz'in sahip olduğu gözlenmiştir. 24 ve 32 kHz eşik değerlerindeki istatistiksel anlamlılıklara bakıldığında deney hayvanlarında ABR ile işitmenin değerlendirilmesinde yüksek frekansların (24 ve 32 kHz) belirleyici olduğu görülmektedir.

T1 DM genellikle KMY'de bir azalma ile ilişkilidir ancak T2 DM osteoporozda KMY değişimi belirgin değildir. T1 DM osteoporoz ile karşılaştırıldığında T2 DM'nin osteoporoz patogenezi daha karmaşıktır ve T2 DM insidansı T1 DM insidansından daha yüksektir. Tüm bu nedenler ile birlikte yayınlarda STZ+NA T2 DM modelinde kemik yapısında ve morfometrisinde etkisi üzerine araştırmaların olmaması nedeniyle de çalışmamızda STZ+NA T2 DM deneysel hayvan modeli kullanılmıştır.

Ma ve arkadaşları tarafından STZ ve HFD ile oluşturdukları diyabet modelinden elde ettikleri sıçan femurlarında Mikro BT analizleri yapılmıştır. Femurlarda diyabetin trabeküler kemik mikromimarisindeki defisitlerle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca trabeküler kemik hacmi/trabeküler doku hacmi (BV/TV), trabeküler sayı (Tb.N) ve trabeküler kalınlık (Tb.Th) değerlerinde azalma, trabeküler boşluklarda artma (Tb.Sp; $p<0.05$) ve trabeküler şekildeki değişiklikler (SMI; $p<0.05$) olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar diyabetik sıçanlarda kemik kırılabilirliğinin belirgin olarak arttığını ve kemikte yapısal mukavemet ve sertlikte önemli bir düşüş olduğunu göstermektedir (89).

Perez ve arkadaşları obeziteye bağlı diyabet modelinde Mikro BT ile femur analizi sonuçlarında; KMY değerlerinde kontrol grubuna göre bir değişiklik bulamamışlardır. Benzer şekilde Tb.Sp, Tb.N ve Ct.Th değerlerindeki değişimi de istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır. BV/TV ile SMI değerlerinin diyabet grubunda azaldığını göstermişlerdir (100).

T2 DM benzerlik gösteren ZDF sıçan tibiyalarında Mikro BT analizinde ise KMY, Tb.N, Tb.Sp ve Tb.Th sonuçlarının kontrole göre anlamlı olarak değişmediğini, BV/TV, Tb.Th ve Ct.Th sonuçlarının ise diyabetik grupta kontrol grubuna göre azaldığını göstermişlerdir (101).

Femur Tb.Th değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Kuersetin grubu da diyabet grubuna göre artmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Femur SMI değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre artmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Kuersetin grubu da diyabet grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

Femur Tb.BV/Tb.Tv değerlerine bakıldığında diyabet grubu değerleri kontrol grubuna göre azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Öjenol ve kuersetin grupları da kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Femur Mikro BT analiz bulgularımız Ma, Perez ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmanın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

STZ indüklü farelerde yapılan bir araştırmada T1 DM sonucunda, diyabetik kemiğin kontrole göre kortikal yapı ve trabeküler mikromimarisinde azalma olmuştur. Diyabetin süresi arttıkça insülin eksikliğinin kemik yapısını etkileyebileceği bildirilmiştir (90). Diyabetik farelerde kuersetinin antioksidan etkisiyle osteopeniye karşı kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir (33).

Femur Tb.Th ile Tb.BV/Tb.TV ve SMI değerlerine birlikte bakıldığında diyabet grubunda kontrol grubuna göre değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kuersetin, bu değerlerin hepsinde antioksidan rolü gereği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Öjenol ise Tb.BV/Tb.Tv değerlerinde antioksidan etkisini göstermiştir.

KMY, Ct.Th, Tb.N ve Tb.Sp değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Diyabetik fareler, kontrol farelerinden daha az ağırlığa sahiptir ve bu farklılığın mekanik adaptasyonun dolaylı sonucu olarak, kemik boyutunda ve yapısal mukavemetinde bir azalmaya neden olabilir. Sonuçların altında yatan nedenin bu olabileceğini düşünmekteyiz. Zaten T2 DM’de KMY tartışmalı bir konu olduğundan bizim çalışmamızda da anlamlılık bulunamamıştır.

Diyabetik kemik kaybını azaltmak için antioksidanların osteoprotektif etkileri mevcuttur. STZ indüklü sıçanlarda yapılan bir çalışmada kemik metabolizmasında, yoğunluk ve mimari yapısında bozukluğa karşı antioksidan özellikli morinin pozitif etkisi bulunmuştur (92).

Antioksidan özellikli öjenol ve kuersetinin gerek STZ+NA T2 DM modelinde gerekse diyabetin kemik komplikasyonları üzerine etkilerinin araştırılmamış olması nedeniyle çalışmamızda kullanılmıştır. Bu iki antioksidan özellikli maddenin sıçan femurunda Tb.Th ile Tb.BV/Tb.Tv ve SMI parametrelerinde kontrol ve diyabet gruplarına göre olumlu etkileri bulunmuştur.

Diyabetin iskelet üzerine etkilerine dair çalışmalar olmasına rağmen, biyokimyasal ve görüntüleme çalışmaları çelişkili bulgular üretmektedir. Bunun nedeninin büyük ölçüde diyabetin karmaşık patofizyolojisine, incelenen iskelet bölgelerinin çeşitliliğine, kemik kütlesini ölçmek için kullanılan tekniklerin çokluğuna ve farklı çalışmalarda diyabetin süresi, şiddeti ve tedavisindeki değişikliklere bağlı olması muhtemeldir.

Gelecekteki çalışmalarda diyabet metabolizmasının farklı yönlerinin, iyileştirilmiş glisemik kontrolün ve diyabet için kemiğe özgü tedavilerin etkisinin açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Kemik kalitesinin değerlendirilmesi, KMY'nin standart ölçümlerini ve kollajen glikozilasyonu gibi yeni yaklaşımların geliştirilmesini içermelidir. Diyabetin kemiği nasıl etkilediğini daha iyi anlamak, artan diyabetli popülasyonda kemik sağlığını koruma ve kırılmalarını önlemeyi geliştireceğini düşünmekteyiz.

Öjenol, birçok farmakolojik aktiviteye sahip bir fenilpropanoid olup anti-hiperglisemik aktivitesi henüz tam olarak araştırılmamıştır. Obeziteye bağlı diyabetik hayvanlarda yapılan bir çalışmada öjenolün glikoz homeostazında rolü olduğu öne sürülmüştür (95).

Flavonoid, birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilen fitokimyasalların en önemli sınıflarından biridir. Diyabet tedavisi ve komplikasyonlarını yönetme potansiyeline sahip önemli bir flavonoid olan kuersetin, çok çeşitli meyve ve sebzelerde bulunduğu ve bu nedenle insan diyetine dahil edilebildiği için kullanılabilirlik ve maliyeti açısından diyabetin destek tedavisinde önerilmektedir. Meyve ve sebzelerde bulunan bir bileşen olan kuersetin ile ilgili yapılan bir çalışmada, STZ indüklü diyabet üzerindeki etkisini değerlendirmek için 45 gün boyunca iki farklı dozda (50 ve 80 mg/kg vücut ağırlığı) uygulanmıştır. Kuersetinin diyabetik sıçanlara oral yoldan verilmesi sonucunda kan glikozu, plazma tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri ve lipid hidroperoksit seviyelerinde azalmaya neden olmuştur. Bu sonuçlar özellikle düşük dozda (50 mg/kg) kuersetinin, diyabet kaynaklı oksidatif strese bağlı etkileri düzelttiğini göstermektedir (96).

Çalışmamızda kuersetinin diyabet komplikasyonları üzerine antioksidan rolü hemen hemen tüm bulgularımıza bakıldığında görülmektedir. Öjenolün antioksidan etkisi kuersetinle benzer olup pek çok veride etkili olduğu bulunmuştur. Buradan yola çıkarak öjenolün de kuersetin gibi diyabetin destek tedavisinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Bulgularımız STZ+NA indüklü sıçanlarda oluşturulan deneysel T2 DM modelinde diyabete bağlı gelişen işitme kaybı komplikasyonunun bozulmuş işitsel beyin sapı yanıtları ile ilişkili olduğunu gösteren önceki raporlarla uyum içerisinde.

Ayrıca bulgularımız diyabetin oksidatif strese bağlı komplikasyonu sonucundaki işitme kaybının gelişmesinin önlenmesi açısından öjenol ve kuersetinin birer nöroprotektif ilaç olarak değerlendirilmesinde klinik öncesi araştırmaya katkıda bulunabilir.

STZ+NA T2 DM modelinde, deneysel diyabetik nöropati oluşturulmuş olup diyabetik süreçte rol oynayan oksidatif hasarın, işitsel uyarılmış potansiyeller ile fenolik bileşiklerden olan öjenol ve kuersetinin antioksidan özellikleri dolayısıyla işitme üzerine olumlu etkisi bulunmuştur.

DM, dokuları ve fizyolojik fonksiyonlarını moleküler ve biyokimyasal düzeylerde etkileyebilen sistemik bir hastalıktır. T2 DM de gelişen hiperglisemi kaynaklı oksidatif strese bağlı komplikasyonların kemik ve işitsel sistem üzerine etkilerinin iyi anlaşılmasının, daha erken klinik müdahale ve önlem sağlayan klinik testlerin geliştirilmesine, tanı ve tedavide kullanılmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

- 1- Yumuk V, editor. *Joslin's Diabetes Mellitus*. 14. Baskı. İstanbul. İstanbul Tıp Kitabevi; 2008.
- 2- Özata M, editor. *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*. 2. Baskı. İstanbul. İstanbul Tıp Kitabevi; 2011.
- 3- IDF *Diabetes Atlas - 8th Edition*. International Diabetes Federation 2017 Atlas (İnternette). Erişim 18.07.2018, <http://diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html>
- 4- Türk Diyabet Cemiyeti. *Turdep-2 Sonuçlarının Özeti*. (İnternette) 2013, Kasım. Erişim 18.07.2018, <http://www.diabetcemiyeti.org/c/turdep-2-sonuclarinin-ozeti>
- 5- WHO. *Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/ IDF consultation*. World Health Organization, 2006.
- 6- American Diabetes Association. *Classification and Diagnosis of Diabetes*. *Diabetes Care*. 2017; 40(Supplement 1): S11-S24;
- 7- Satman İ. İnsülin Tedavisi. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics*. 2015; 8(2):67-75.
- 8- Imamura F, O'Connor L, Ye Z, Mursu J, Hayashino Y, Bhupathiraju SN, ve ark. Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and fruit juice and incidence of type 2 diabetes: systematic review, meta-analysis, and estimation of population attributable fraction. *BMJ*. 2015; 351:h3576.
- 9- Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Després JP, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2010; 33(11):2477-2483.
- 10- Anna V, van der Ploeg HP, Cheung NW, Huxley RR, Bauman AE. Sociodemographic correlates of the increasing trend in prevalence of gestational diabetes mellitus in a large population of women between 1995 and 2005. *Diabetes Care*. 2008; 31(12):2288-2293.
- 11- Fetita LS, Sobngwi E, Serradas P, Calvo F, Gautier JF. Consequences of fetal exposure to maternal diabetes in offspring. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(10):3718-3724.
- 12- Kadayıfçılar S. Diyabetik hastada göz bulguları. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics*. 2015; 8(1):28-37.

- 13- Çetinarslan B. Diabetes Mellitusta Böbrek. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics* 2015; 8(1):22-27
- 14- Atmaca A. Diyabetik Nöropati: Periferik nöropatiler. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics*. 2015; 8(1):38-44.
- 15- Çetinkalp Ş. Diabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları ve Patobiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics*. 2015; 8(1):12-16.
- 16- Karşıdağ K. Beta Hücre Disfonksiyonu. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics* 2015; 8(2):9-14.
- 17- Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D ve ark. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*. 1998; 47(2):224-229.
- 18- Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2012; 237(5):481-490.
- 19- Lazo de la Vega-Monroy ML, Fernandez-Mejia C. İçinde Morales-Gonzalez JA, editor. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases- A Role for Antioxidants*. IntechOpen; 2013. pp. 209-232.
- 20- Watson R, Preedy V, editor. *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*. Academic Press; 2009.
- 21- Vinayagam R, Jayachandran M, Xu B. Antidiabetic Effects of Simple Phenolic Acids: A Comprehensive Review. *Phytother Res*. 2016; 30(2):184-199.
- 22- Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2009; 2(5):270-278.
- 23- Jaganathan SK, Supriyanto E. Antiproliferative and Molecular Mechanism of Eugenol-Induced Apoptosis in Cancer Cells. *Molecules*. 2012; 17:6290-6304.
- 24- Nangle MR, Gibson TM, Cotter MA, Cameron NE. Effects of eugenol on nerve and vascular dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Planta Med*. 2006; 72(6):494-500.
- 25- Srinivasan S, Sathish G, Jayanthi M, Muthukumaran J, Muruganathan U, Ramachandran V. Ameliorating effect of eugenol on hyperglycemia by attenuating the key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 2014; 385(1-2):159-168.

- 26- Mnafigui K, Kaanich F, Derbali A, Hamden K, Derbali F, Slama S ve ark. Inhibition of key enzymes related to diabetes and hypertension by Eugenol in vitro and in alloxan-induced diabetic rats. *Arch Physiol Biochem*. 2013; 119(5):225-233.
- 27- Sanae F, Kamiyama O, Ikeda-Obatake K, Higashi Y, Asano N, Adachi I ve ark. Effects of eugenol-reduced clove extract on glycogen phosphorylase b and the development of diabetes in db/db mice. *Food Funct*. 2014; 5(2):214-219.
- 28- Jeong KJ, Kim do Y, Quan HY, Jo HK, Kim GW, Chung SH. Effects of eugenol on hepatic glucose production and AMPK signaling pathway in hepatocytes and C57BL/6J mice. *Fitoterapia*. 2014; 93:150–162.
- 29- Jeong SM, Kang MJ, Choi HN, Kim JH, Kim JI. Quercetin ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia and improves antioxidant status in type 2 diabetic db/db mice. *Nutr Res Pract*. 2012; 6(3):201–207.
- 30- Fang XK, Gao J, Zhu DN. Kaempferol and quercetin isolated from *Euonymusalatus* improve glucose uptake of 3T3-L1 cells without adipogenesis activity. *Life Sci*. 2008; 82 (11–12):615–622.
- 31- Ferreira PE, Lopes CR, Alves AM, Alves EP, Linden DR, Zanoni JN ve ark. Diabetic neuropathy: an evaluation of the use of quercetin in the cecum of rats. *World J Gastroenterol*. 2013; 19(38):6416–6426.
- 32- Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, Bhutada C, Tawari S, Dixit P ve ark. Ameliorative effect of quercetin on memory dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurobiol Learn Mem*. 2010; 94(3):293–302.
- 33- Liang W, Luo Z, Ge S, Li M, Du J, Yang M ve ark. Oral administration of quercetin inhibits bone loss in rat model of diabetic osteopenia. *Eur J Pharmacol*. 2011; 670(1):317–324.
- 34- Elbe H, Vardi N, Esrefoglu M, Ates B, Yologlu S, Taskapan C. Amelioration of streptozotocin-induced diabetic nephropathy by melatonin, quercetin, and resveratrol in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2015; 34(1):100–113.
- 35- Ajay M, Achike FI, Mustafa AM, Mustafa MR. Effect of quercetin on altered vascular reactivity in aortas isolated from streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006; 73(1): 1–7.
- 36- Eid HM, Nachar A, Thong F, Sweeney G, Haddad PS. The molecular basis of the antidiabetic action of quercetin in cultured skeletal muscle cells and hepatocytes. *Pharmacogn Mag*. 2015; 11(41):74–81.

- 37- Panicker SR, Sreenivas P, Babu MS, Karunagaran D, Kartha CC. Quercetin attenuates Monocyte Chemoattractant Protein-1 gene expression in glucose primedaortic endothelial cells through NF-kappaB and AP-1. *Pharmacol Res.* 2010; 62(4):328–336.
- 38- Zhao LR, Du YJ, Chen L, Liu ZG, Pan YH, Liu JF ve ark. Quercetin protects against high glucose-induced damage in bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Int J Mol Med.* 2014; 34(4):1025–1031.
- 39- Kunasegaran T, Mustafa MR, Murugan DD, Achike FI. The bioflavonoid quercetin synergises with PPAR- γ agonist pioglitazone in reducing angiotensin-II contractile effect in fructose-streptozotocin induced diabetic rats. *Biochimie.* 2016; 125:131-139.
- 40- Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol.* 2008; 585(2-3):325-337.
- 41- Gaballah HH, Zakaria SS, Mwafy SE, Tahoon NM, Ebeid AM. Mechanistic insights into the effects of quercetin and/or GLP-1 analogue liraglutide on high-fat diet/streptozotocin-induced type 2 diabetes in rats. *Biomed Pharmacother.* 2017; 92:331-339.
- 42- Alam MM, Meerza D, Naseem I. Protective effect of quercetin on hyperglycemia, oxidative stress and DNA damage in alloxan induced type 2 diabetic mice. *Life Sci.* 2014; 109(1):8-14.
- 43- Lai PB, Zhang L, Yang LY. Quercetin ameliorates diabetic nephropathy by reducing the expressions of transforming growth factor- β 1 and connective tissue growth factor in streptozotocin-induced diabetic rats. *Ren Fail.* 2012; 34(1):83-87.
- 44- Vessal M, Hemmati M, Vasei M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2003; 135C(3):357-364.
- 45- Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res.* 2005; 51(2):117-123.
- 46- Dias AS, Porawski M, Alonso M, Marroni N, Collado PS, Gonzalez-Gallego J. Quercetin decreases oxidative stress, NF-kappaB activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr.* 2005; 135(10):2299-2304.

- 47- Torres-Piedra M, Ortiz-Andrade R, Villalobos-Molina R, Singh N, Medina-Franco JL, Webster SP ve ark. A comparative study of flavonoid analogues on streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats: quercetin as a potential antidiabetic agent acting via 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibition. *Eur J Med Chem.* 2010; 45(6):2606-2612.
- 48- Bhadada SV, Vyas VK, Goyal RK. Protective effect of Tephrosia purpurea in diabetic cataract through aldose reductase inhibitory activity. *Biomed Pharmacother.* 2016; 83:221-228.
- 49- Eringa EC, Serne EH, Meijer RI, Schalkwijk CG, Houben AJ, Stehouwer CD ve ark. Endothelial dysfunction in (pre)diabetes: characteristics, causative mechanisms and pathogenic role in type 2 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord.* 2013; 14(1):39-48.
- 50- van den Oever IA, Raterman HG, Nurmohamed MT, Simsek S. Endothelial dysfunction, inflammation, and apoptosis in diabetes mellitus. *Mediators Inflamm.* 2010; 2010:792393.
- 51- Yang G, Lucas R, Caldwell R, Yao L, Romero MJ, Caldwell RW. Novel mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes. *J Cardiovasc Dis Res.* 2010; 1(2):59-63.
- 52- Gökbel H, editor. *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi.* 23. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2011.
- 53- Seikel JA, King DW, Drumright DG. *Anatomy & Physiology for Speech, Language, and Hearing.* 4th ed. New York, USA: Delmar; 2010.
- 54- Belgin E, Şahlı S, editor. *Temel Odyoloji.* 2. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2017.
- 55- Stach BA. *Clinical Audiology: An Introduction.* 2nd ed. New York, USA: Delmar; 2010.
- 56- Muş N, Özdamar N. *İşitsel Beyin Sapı Cevapları.* Ankara: Gülhane Askeri Tıp Akademisi Yayınları; 1996.
- 57- Parham K, Sun XM, Kim D. İçinde Willott JP, editor. Noninvasive assessment of auditory function in mice: auditory brainstem response and distortion product otoacoustic emissions. *Handbook of Mouse Auditory Research: From Behavior to Molecular Biology.* New York: CRC Press; 2001. pp. 37–58.

- 58- Henry KR. Differential changes of auditory nerve and brain stem short latency evoked potentials in the laboratory mouse. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1979; 46(4):452–459.
- 59- Chen TJ, Chen SS. Generator study of brainstem auditory evoked potentials by a radiofrequency lesion method in rats. *Exp. Brain Res.* 1991; 85(3):537–542.
- 60- Alvarado JC, Fuentes-Santamaria V, Jareno-Flores T, Blanco JL, Juiz JM. Normal variations in the morphology of auditory brainstem response (ABR) waveforms: a study in Wistar rats. *Neurosci Res.* 2012; 73(4):302-311.
- 61- WHO. *Deafness and hearing loss*. World Health Organization (İnternette), 2018 Mart. Erişim 20.07.2018, <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss>
- 62- American Diabetes Association. *Diabetes and Hearing Loss* (İnternette), 2017 Ekim. Erişim 20.07.2018, <http://www.diabetes.org/living-with-diabetes/treatment-and-care/seniors/diabetes-and-hearing-loss.html>
- 63- Hong O, Buss J, Thomas E. Type 2 diabetes and hearing loss. *Disease-a-Month.* 2013; 59:139-146.
- 64- Hong BN, Kang TH. Auditory neuropathy in streptozotocin-induced diabetic mouse. *Neurosci Lett.* 2008; 431(3):268-272.
- 65- Bainbridge KE, Cheng YJ, Cowie CC. Potential mediators of diabetes-related hearing impairment in the U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004. *Diabetes Care.* 2010; 33(4):811-816.
- 66- Sunkum AJ, Pingile S. A clinical study of audiological profile in diabetes mellitus patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2013; 270(3):875-879.
- 67- Teng ZP, Tian R, Xing FL, Tang H, Xu JJ, Zhang BW, Qi JW. An association of type 1 diabetes mellitus with auditory dysfunction: A systematic review and meta-analysis. *Laryngoscope.* 2017; 127(7):1689-1697.
- 68- Dalton DS, Cruickshanks KJ, Klein R, Klein BE, Wiley TL. Association of NIDDM and hearing loss. *Diabetes Care.* 1998; 21(9):1540-1544.
- 69- Duck SW, Prazma J, Bennett PS, Pillsbury HC. Interaction between hypertension and diabetes mellitus in the pathogenesis of sensorineural hearing loss. *Laryngoscope.* 1997; 107(12):1596-1605.
- 70- Nageris B, Hadar T, Feinmesser M, Elidan J. Cochlear histopathologic analysis in diabetic rats. *Am J Otol.* 1998; 19:63–65.

- 71- Vilas Misra, Agarwal CG, Naresh Bhatia, Shukla GK. Bilateral sudden sensorineural deafness with vertigo as the sole presenting symptoms of diabetes mellitus - a case report. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010; 62(2):191–194.
- 72- Lee YR, Hong BN, Her YR, Castaneda R, Moon HW, Kang TH. Amelioration of Auditory Response by DA9801 in Diabetic Mouse. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015; 2015:230747.
- 73- Spoendlin H, Schrott A. Quantitative evaluation of the human cochlear nerve. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1990; 470:61-69; (discussion 69-70).
- 74- Bayazit Y, Yilmaz M, Kepekci Y, Mumbuc S, Kanlikama M. Use of the auditory brainstem response testing in the clinical evaluation of the patients with diabetes mellitus. *J Neurol Sci.* 2000; 181:29–32.
- 75- Diaz de Leon-Morales LV, Jauregui-Renaud K, Garay-Sevilla ME, Hernandez-Prado J, Malacara-Hernandez JM. Auditory impairment in patients with type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res.* 2005; 36:507-510.
- 76- Frisina ST, Mapes F, Kim S, Frisina DR, Frisina RD. Characterization of hearing loss in aged type II diabetics. *Hear Res.* 2006; 211(1-2):103-113.
- 77- Kundu S, Munjal C, Tyagi N, Sen U, Tyagi AC, Tyagi SC. Folic acid improves inner ear vascularization in hyperhomocysteinemic mice. *Hear Res.* 2012; 284(1-2):42-51.
- 78- Fujita T, Yamashita D, Katsunuma S, Hasegawa S, Tanimoto H, Nibu K. Increased inner ear susceptibility to noise injury in mice with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes.* 2012; 61(11):2980-2986.
- 79- Fetoni AR, Eramo SLM, Paciello F, Rolesi R, Samengo D, Paludetti G et al. The redox protein p66shc mediates cochlear vascular dysfunction and transient noise-induced hearing loss. *Sci Rep.* 2016; 6: 25450.
- 80- Aladag I, Eyibilen A, Güven M, Atış O, Erkorkmaz Ü. Role of oxidative stress in hearing impairment in patients with type two diabetes mellitus. *J Laryngol Otol.* 2009; 123(9):957-963.
- 81- Fukushima H, Cureoglu S, Schachern PA, Paparella MM, Harada T, Oktay MF. Effects of type 2 diabetes mellitus on cochlear structure in humans. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006; 132(9):934-938.

- 82- Vasilyeva ON, Frisina ST, Zhu X, Walton JP, Frisina RD. Interactions of hearing loss and diabetes mellitus in the middle age CBA/CaJ mouse model of presbycusis. *Hear Res.* 2009; 249(1-2):44-53.
- 83- Hong BN, Yi TH, Park R, Kim SY, Kang TH. Coffee improves auditory neuropathy in diabetic mice. *Neurosci Lett.* 2008; 441(3):302-326.
- 84- Hong BN, Ji MG, Kang TH. The efficacy of red ginseng in type 1 and type 2 diabetes in animals. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013; 2013:593181.
- 85- Aktürk M. Diyabetik Hastada Eklem ve Kemik Değişiklikleri. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics.* 2015; 8(1):73-77.
- 86- Schwartz AV. Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone? *Calcif Tissue Int.* 2003; 73(6):515-519.
- 87- Brandi ML. Bone health and diabetes. *Medicographia.* 2010; 32:364-369.
- 88- Ayay A, Balcıoğlu E, Yapışlar H, Özdamar S. Diyabetin ve Karnozinin Kemik Yapısı ve Mineral Yoğunluğu Üzerine Etkileri. *Erciyes Üniv Sağ Bil Derg.* 2013; 23:203-209.
- 89- Ma R, Wang L, Zhao B, Liu C, Liu H, Zhu R ve ark. Diabetes Perturbs Bone Microarchitecture and Bone Strength through Regulation of Sema3A/IGF-1/ β -Catenin in Rats. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 41(1):55-66.
- 90- Jeffry SN, Jesse LE, Chan-Hee J, Erik GH, Matthew RM, Gael EC ve ark. Increasing Duration of Type 1 Diabetes Perturbs the Strength-Structure Relationship and Increases Brittleness of Bone. *Bone.* 2011; 48(4):733–740.
- 91- Kawashima Y, Fritton JC, Yakar S, Epstein S, Schaffler MB, Jepsen KJ. Type 2 Diabetic Mice Demonstrate Slender Long Bones with Increased Fragility Secondary to Increased Osteoclastogenesis. *Bone.* 2009; 44(4):648–655.
- 92- Abuhashish HM, Al-Rejaie SS, Al-Hosaini KA, Parmar MY, Ahmed MM. Alleviating effects of morin against experimentally-induced diabetic osteopenia. *Diabetol Metab Syndr.* 2013; 5(1):5.
- 93- Glorie L, Behets GJ, Baerts L, De Meester I, D'Haese PC, Verhulst A. DPP IV inhibitor treatment attenuates bone loss and improves mechanical bone strength in male diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014; 307(5):E447-455.
- 94- Usuki S, Ito Y, Morikawa K, Kise M, Ariga T, Rivner M ve ark. Effect of pre-germinated brown rice intake on diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Metab (Lond).* 2007; 4:25.

- 95- Sartorius T, Peter A, Schulz N, Drescher A, Bergheim I, Machann J ve ark. Cinnamon Extract Improves Insulin Sensitivity in the Brain and Lowers Liver Fat in Mouse Models of Obesity. *PLoS ONE*. 2014; 9(3): e92358.
- 96- Mahesh T, Menon VP. Quercetin allievates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res*. 2004;18(2):123-127.
- 97- Whishaw IQ, Kolb B, editör. *The Behavior of the Laboratory Rat*. New York, USA: Oxford University Press; 2005.
- 98- Sharp PE, LaRegina MC. *The Laboratory Rat*. Florida, USA: CRC Press LLC; 1998
- 99- Rubini R, Biasiolo F, Fogarolo F, Magnavita V, Martini A, Fiori MG. Brainstem auditory evoked potentials in rats with streptozotocin induced diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 1992; 16:19-25.
- 100- Perez Castrillon JL, Riancho Moral JA, De Luis D, Caeiro Rey JR, Guede Rodríguez D, González Sagrado M ve ark. Structural study using micro-CT of the femur of Goto-Kakizaki rats, experimental model for non-overweight type 2 diabetes. *Rev Osteoporos Metab Miner*. 2011; 2:95-100
- 101- Pereira M, Gohin S, Lund N, Hvid A, Smitham PJ, Oddy MJ ve ark. Sclerostin does not play a major role in the pathogenesis of skeletal complications in type 2 diabetes mellitus. *Osteoporos Int*. 2017; 28:309-320.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2016/ 26

31/ 03/ 2016

Sayın Prof. Dr. Işıl ALBENİZ
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi

Karar No 2016/ 26

Başvuru : 22.02.2016

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen, Doktora Öğrencisi Aycan BAŞ'a ait "Deneysel Diyabetik Nöropatide Rol Oynayan Oksidatif Hasarın İşitsel Uyarılmış Potansiyeller ile Fenolik Bileşiklerin Etkisinin Değerlendirilmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	37
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	15 Nisan 2016/31 Aralık 2016	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Prof.Dr. İlhan İLKILIÇ
Üye

Doç.Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ

Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak.Yük. Müh.
Üye

Avukat Selma DEMİR

Üye

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Yazar Aycan Baş

DENEYSEL DİYABETİK NÖROPATİDE ROL OYNAYAN
OKSİDATİF HASARIN İŞİTSEL UYARILMIŞ POTANSİYELLER
İLE FENOLİK BİLEŞİKLERİN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

%7

BENZERLİK ENDEKSİ

%4

İNİT ERNET
KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%3

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

<%1

2

Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

<%1

3

marmaramedicaljournal.org

İnternet Kaynağı

<%1

4

www.istanbulsaglik.gov.tr

İnternet Kaynağı

<%1

5

www.turkiyeklinikleri.com

İnternet Kaynağı

<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Aycan	Soyadı	BAŞ
Email	aycanbas@gmail.com	Tel	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Biyofizik AD	2018
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Biyofizik AD	2011
Lisans	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü	2008
Lise	Biga Mehmet Akif Ersoy Lisesi (YDA)	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Öğretim Görevlisi	Altınbaş Üniversitesi (Önceki Adı: İstanbul Kemerburgaz Üniversitesi)	2014 - devam
2.	Öğretim Görevlisi	İstanbul Aydın Üniversitesi	2012 - 2014

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

1- Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

- Işıl Albeniz, Özlem Demir-Coşkun, Leyla Türker-Şener, Aycan Baş, Oktar Asoğlu, Rüstem Nurten. CD38 expression as response of hematopoietic system to cancer. *Oncology Letters*. 2011; 2: 659-664
- Işıl Albeniz, Leyla Türker-Şener, Aycan Baş, İbrahim Kalelioğlu, Rüstem Nurten. Isolation of hematopoietic stem cells and the effect of CD38 expression during the early erythroid progenitor cell development process. *Oncology Letters*. 2012; 3: 55-60

2- Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

- Aycan Baş, Gürcan Albeniz, Leyla Türker-Şener, Işıl Albeniz. Investigation of Bone Structure by Micro Computerized Tomography in Experimental Diabetes Models. Turkish Journal of Molecular Biology & Biotechnology. 2017; 1:65
- Selime Ünal ve Aycan Baş. Engellilik Sosyolojisi Bağlamında Yardımcı Portatif Cihaz Kullanımının Sosyal Dışlanma Perspektifinden Değerlendirilmesi. II. Uluslararası Gençlik Araştırmaları Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı Sayfa 98- Sözlü Sunumlar
- Şükriye Karadayı, Duygu Tunçman-Genç, Aycan Baş and Beytullah Karadayı. The Use of Radiological Imaging Techniques in Estimation of Age at Forensic Sciences. "4th International Conference on Computational and Experimental Science and Engineering (ICCESEN 2017). Abstract Book - Oral Presentations (No-794)
- Duygu Tunçman-Genç and Aycan Baş. Radiation Dose and Hearing Loss: Hearing Loss Risks due to Radiation Dose in Radiotherapy Treatment. "4th International Conference on Computational and Experimental Science and Engineering (ICCESEN 2017). Abstract Book -Poster Presentations (No-793)
- Söyler, S., Baş, A. (2018). Investigation of Vocational School of Health Students' Internet Addiction Level. 4. International Journal of Health Administration and Education Congress (Sanitas Magisterium) Sarajevo/Bosnia and Herzegovina. Abstract Book, Page 37. Oral Presentatitons
- Söyler, S., Baş, A. (2018). Determination of Health Insurance Problems of Hearing Aid Sales and Application Centers. 4. International Journal of Health Administration and Education Congress (Sanitas Magisterium), Sarajevo/Bosnia and Herzegovina. Abstract Book, Page 53. Oral Presentatitons

3-Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

- Leyla Türker-Şener, Aycan Baş, İbrahim Kalelloğlu, Suzan Adın Çınar, Işıl Albeniz. Hematopoetik Kök Hücre İzolasyonunda ALDH Etkinliğinin Önemi. *İst Tıp Fak Derg.* 2017; 80:2

4-Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

- Aycan Baş, Leyla Türker Şener, Işıl Albeniz, Rüstem Nurten. Kanserli olgularda B ve T lenfositlerinin CD38 ile ilişkisi. 2010 - 22. Ulusal Biyofizik Kongresi. Cilt:11 Sayfa: 29- Poster Sunumları
- Leyla Türker Şener, Aycan Baş, Suzan Adın Çınar, Özlem Coşkun, Işıl Albeniz, Rüstem Nurten. Ehrlich asit tümör hücrelerinin BALB/c fare lenfositleri üzerindeki CD38 değişimine etkisi. 2010 - 22. Ulusal Biyofizik Kongresi. Cilt: 11 Sayfa: 28- Poster Sunumları

- Leyla Türker Şener, Aycan Baş, Bilge Özarman, Suzan Adın Çınar, Işıl Albeniz, Rüstem Nurten. Kök hücre izolasyonunda ALDH etkinliğinin önemi. 2011 - 23.Ulusal Biyofizik Kongresi. Sayfa:5- Sözlü Sunumlar
- Aycan Baş, Işıl Albeniz, Rüstem Nurten. Ehrlich asit tümörlü BALB/c'lerden izole edilen B ve T lenfositlerinin CD38 etkinliği. 2011 - 23.Ulusal Biyofizik Kongresi. Sayfa:27- Poster Sunumları
- Aycan Baş, Suzan Adın Çınar, Işıl Albeniz. Deneysel hayvan modelinden elde edilen T lenfositlerinin akım sitometri ile CD38 etkinliğinin belirlenmesi. 17-18 Kasım 2011- III. Detae Günleri Bildiri Kitapçığı Poster 09.
- Leyla Türker-Şener, Aycan Baş, Suzan Adın-Çınar, Bilge Özerman Edis, Işıl Albeniz, Rüstem Nurten. Hematopoetik Kök Hücrelerin Eritroid Seriyeye Farklılaştırılmaları Sırasında CD38 Seviyesi Değişimi. 2012. 24.Ulusal Biyofizik Kongresi. Konferans ve Bildiri Özetleri Sayfa:91- Poster Bildirileri
- Aycan Baş, Leyla Türker-Şener, Suzan Adın-Çınar, Oktar Asoğlu, Nevin Yalman, Işıl Albeniz, Rüstem Nurten. İnsan B ve T Lenfositlerinin İzolasyonu ve CD38 Enzim Etkinliklerinin Karşılaştırılması. 2012. 24.Ulusal Biyofizik Kongresi Konferans ve Bildiri Özetleri. Sayfa:22- Sözlü Sunumlar
- Aycan Baş, Leyla Türker-Şener, Suzan Adın-Çınar, Işıl Albeniz, Rüstem Nurten. Kanserli Olgularda Yardımcı ve Sitotoksik T Lenfositlerinin CD38 Değerlerinin Karşılaştırılması. 2013. 25.Ulusal Biyofizik Kongresi Konferans ve Bildiri Özetleri. Poster Sunumları (05).
- Leyla Türker-Şener, Aycan Baş, Gamze Yılmaz, Işıl Albeniz. Fenolik Bileşik Olan Eugenolün Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi (xCelligence) kullanılarak MDA-MB-231 Meme Kanser Soyu Hücreler Üzerine Antiproliferatif Etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.2014. Cilt:6, Sayfa:57. Poster Sunumları (20).

5-Ulusal & Uluslararası Projeler

- 2009 – 2011. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi - 9781 numaralı Yüksek Lisans Tez Projesi: Farklı Kanser Türlerinde B ve T Lenfositlerinin İzolasyonu ve CD38 Enzim Etkinliklerinin Karşılaştırılması.
- 2016 – 2018. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi - 22448 numaralı Doktora Tez Projesi: Deneysel Diyabetik Nöropatide Rol Oynayan Oksidatif Hasarın İşitsel Uyarılmış Potansiyeller İle Fenolik Bileşiklerin Etkisinin Değerlendirilmesi.