



**ZEYTİN YAPRAĞI ETİL ALKOL EKSTRESİ VE BUNDAN
İZOLE EDİLEN OLEUROPEİNİN EMÜLSİYON
FORMÜLASYONLARININ DİYABETİK RATLAR ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ahmet Gökhan AĞGÜL

Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU

Doktora Tezi-2017

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

**ZEYTİN YAPRAĞI ETİL ALKOL EKSTRESİ VE
BUNDAN İZOLE EDİLEN OLEUROPEİNİN EMÜLSİYON
FORMÜLASYONLARININ DİYABETİK RATLAR
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ahmet Gökhan AĞGÜL

**Biyokimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU**

**ERZURUM
2017**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**ZEYTİN YAPRAĞI ETİL ALKOL EKSTRESİ VE BUNDAN İZOLE
EDİLEN OLEUROPEİNİN EMÜLSİYON
FORMÜLASYONLARININ DİYABETİK RATLAR ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ahmet Gökhan AĞGÜL

Tez Savunma Tarihi : 03.11.2017

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Meltem ÇETİN (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Yasin BAYIR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Naim UZUN (Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Esra DİLEK (Erzincan Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Mehmet TAN
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi
ERZURUM-2017**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIV
TABLolar DİZİNİ.....	XVII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DM'nin Tanımı	3
2.2. DM'nin Epidemiyolojisi	3
2.3. DM'nin Tanısı.....	6
2.3.1. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)	7
2.3.2. Açlık Plazma Glukozu (APG)	7
2.3.3. Hemogloblin A1c (HbA1c).....	8
2.4. Prediyabet Tanısı	9
2.5. DM'nin Sınıflandırılması.....	9
2.5.1. IDDM.....	10
2.5.1.1. Tip 1 Diyabetin Semptomları	10
2.5.2. NIDDM.....	11
2.5.2.1. Tip 2 Diyabet Risk Faktörleri	11
2.5.2.2. Tip 2 Diyabetin Semptomları	12
2.5.3. Gestasyonel Diyabet (GDM)	12
2.5.4. Spesifik Nedenlere Bağlı Diyabet.....	14
2.6. DM'nin Komplikasyonları.....	15

2.6.1. DM'nin Akut Komplikasyonları.....	15
2.6.1.1. Diyabetik Ketoasidoz (DKA)	15
2.6.1.2. Hiperglisemik Hiperosmolar Durum (HHD).....	16
2.6.1.3. Laktik Asidoz.....	16
2.6.1.4. Hipoglisemi.....	17
2.6.2. DM'nin Kronik Komplikasyonları	17
2.6.2.1. Diyabetik Retinopati	17
2.6.2.2. Diyabetik Nöropati	18
2.6.2.3. Diyabetik Ayak	18
2.6.2.4. Diyabetik Nefropati	18
2.6.2.5. Kardiyovasküler Hastalıklar	19
2.6.2.6. Periodontitis.....	19
2.7. Diyabetin Önlenmesi ve Tedavisi.....	20
2.7.1. Eğitim.....	20
2.7.2. Egzersiz.....	21
2.7.3. Düzenli Beslenme	21
2.7.4. Oral Antidiyabetikler ve İncretinmimetikler	21
2.7.5. İnsülin Tedavisi.....	21
2.8. İnsülin	22
2.9. Oksidatif Stres.....	24
2.9.1. Oksidatif Stres ve Diyabet Üzerine Etkisi	24
2.10. Serbest Radikaller	26
2.10.1. Serbest Radikallerin Etkileri.....	26
2.10.1.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidleri Üzerine Etkileri.....	26
2.10.1.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	28

2.10.1.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri.....	28
2.10.1.4. Serbest Radikallerin DNA ve Nükleik Asitler Üzerine Etkileri	28
2.11. Antioksidanlar.....	29
2.12. Botanik Bilgiler.....	29
2.12.1. Zeytin Yaprağı (<i>Olea europae L.</i>)	29
2.12.2. <i>Olea europae L.</i> 'nin Fenolik Madde İçeriği	30
2.12.2.1. Oleuropein	31
2.13. Emülsiyon	34
2.13.1. Emülsiyonların Üstünlükleri.....	36
2.13.2. Emülsiyonların Sakıncaları	36
2.13.3. Emülgatörler	37
2.13.3.1. Emülgatörlerin Sınıflandırılması	37
2.13.4. Emülsiyonların Hazırlanması	38
2.14. Deneysel Diyabet Modelleri	39
3. MATERYAL VE METOT.....	41
3.1. Hayvanlar ve Diyet	41
3.2. STZ ile Diyabet Modeli Oluşturma	41
3.3. Zeytin Yaprağından Etil Alkol Ekstresinin Hazırlanması	42
3.4. <i>Olea europaea L.</i> 'den Oleuropeinin İzolasyonu.....	44
3.4.1. Oleuropeinin UV-Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini.....	44
3.4.2. Oleuropeine Ait Kalibrasyon Doğrusunun Elde Edilmesi.....	44
3.4.3. Analitik Yöntem Validasyonu	45
3.4.4. Oleuropeinin Çözünürlük Çalışması.....	46
3.5. Emülsiyonların Hazırlanması	47
3.5.1. Oleuropein İçermeyen Emülsiyonların (BE) Hazırlanması.....	47

3.5.2. Oleuropein/Ekstre İçeren Emülsiyonların Hazırlanması	47
3.5.3. Emülsiyonların Görüntülerinin Alınması ve Damlacık Büyüklüklerinin Tespiti.	47
3.6. Deneysel Tasarım	47
3.7. Ekstre, Oleuropein ve Formülasyonların Uygulanması.....	48
3.8. Sıçanların Kan Glukoz Seviyelerinin Belirlenmesi	51
3.8.1. Kan Ölçüm Cihazının Çalışma Prensibi	52
3.9. Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Belirlenmesi	52
3.10. Karaciğer Doku Homojenatlarının Hazırlanması	52
3.11. Kan Örneklerinin Hazırlanması	53
3.12. Biyokimyasal Ölçüm	53
3.12.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini	54
3.12.1.1. SOD Deney Prensibi.....	54
3.12.1.2. SOD Tayini İçin Kullanılan Reaktifler.....	54
3.12.1.3. SOD Standart Solüsyonunun Hazırlanması.....	55
3.12.1.4. SOD Ölçümü.....	55
3.12.1.5. SOD Aktivitesinin Hesaplanması	56
3.12.2. Glutatyon (GSH) Tayini	56
3.12.2.1. GSH Deney Prensibi.....	56
3.12.2.2. GSH Tayini İçin Kullanılan Reaktifler.....	57
3.12.2.3. GSH Standart Solüsyonunun Hazırlanması.....	57
3.12.2.4. GSH Ölçümü.....	58
3.12.2.5. GSH Seviyesinin Hesaplanması	58
3.12.3. Malondialdehit (MDA) Tayini.....	59
3.12.3.1. MDA Deney Prensibi.....	59
3.12.3.2. MDA Tayini İçin Kullanılan Reaktifler.....	59

3.12.3.3. MDA Standart Solüsyonunun Hazırlanması.....	59
3.12.3.4. MDA Ölçümü	60
3.12.3.5. MDA Seviyesinin Kolorimetrik Hesaplanması	61
3.12.4. Protein Tayini	61
3.12.4.1. Protein Deney Prensibi	61
3.12.4.2. Protein Tayini İçin Kullanılan Reaktifler	61
3.12.4.3. Protein Ölçümü İçin Standart Solüsyonun Hazırlanması	61
3.12.4.4. Protein Ölçümü	62
3.12.4.5. Protein Seviyesinin Hesaplanması	62
3.13. Deneyde Kullanılan Kimyasallar	63
3.14. Deneyde Kullanılan Cihazlar	63
3.15. İstatistiksel Analiz.....	65
4. BULGULAR.....	66
4.1. Oleuropeinin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR Sonuçları.....	66
4.2. Oleuropeinin UV-Spektrofotometrik Yöntemle Tayini.....	67
4.2.1. Oleuropeine Ait Kalibrasyon Doğrusunun Elde Edilmesi.....	67
4.3. Analitik Yöntem Validasyonu Bulguları	68
4.4. Oleuropeinin Çözünürlük Çalışmasına Ait Bulgular	68
4.5. Emülsiyonların Damlacık Büyüklüğüne ve Görüntülerine Ait Bulgular	69
4.6. Oleuropeinin ve Oleuropein İçeren Emülsiyonun Sıçanlar Üzerine Etkisi	71
4.6.1. Sıçanların Ağırlıkları	71
4.6.2. Grupların Kan Glukoz Seviyeleri	72
4.6.3. Grupların AST ve ALT Seviyeleri.....	73
4.6.4. Grupların SOD Aktiviteleri, GSH ve MDA Seviyeleri	76
4.7. Ekstrenin ve Ekstre İçeren Emülsiyonun Sıçanlar Üzerine Etkisi.....	82

4.7.1. Sıçanların Ağırlıkları	82
4.7.2. Grupların Kan Glukoz Seviyeleri	83
4.7.3. Grupların AST and ALT Seviyeleri.....	84
4.7.4. Grupların SOD aktiviteleri, GSH ve MDA seviyeleri.....	87
5. TARTIŞMA.....	92
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	100
KAYNAKLAR	102
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	117
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	118
EK-3. ETİK ALT KURUL ONAY FORMU.....	119

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans ve Doktora eğitimimin her aşamasında bilgilerinden ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimin planlanmasında, yürütülmesinde ve hazırlanmasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, bu çalışmanın ortaya çıkmasında büyük emeği olan, gösterdiği özveri ve anlayışdan dolayı değerli hocam sayın Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU'na;

Yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen ve her türlü imkanı sağlayan sayın Prof. Dr. Meltem Çetin'e, sayın Prof. Dr. Zekai HALICI'ya, sayın Doç. Dr. Yasin BAYIR'a, sayın Doç. Dr. Elif ÇADIRCI'ya, bu çalışmayı 2015/80 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen eşime ve aileme teşekkür ederim.

Ahmet Gökhan AĞGÜL

ÖZET

Zeytin Yaprağı (*Olea europaea* L.) Etil Alkol Ekstresi ve Bundan İzole Edilen Oleuropeinin Emülsiyon Formülasyonlarının Diyabetik Ratlar Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Amaç: Bu çalışma, streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanlarda zeytin yaprağı (*Olea europaea* L.)'nın etanol ekstresinin ve bundan izole edilen oleuropeinin emülsiyon formülasyonlarının etkilerini incelemek için tasarlanmıştır.

Materyal ve Metot: Diyabetik sıçanlar zeytin yaprağının etanol ekstresinin (330 ve 500 mg/kg) ve oleuropeinin (150 ve 225 mg/kg) emülsiyon formülasyonlarının 4 hafta boyunca günlük tek doz sıvı formda oral uygulanması ile tedavi edildi. Deneyin sonunda, SOD aktivitelerini, GSH ve MDA seviyelerini belirlemek için sıçanlardan karaciğer doku örnekleri alındı. Ayrıca AST, ALT ve glukoz seviyelerini belirlemek için sıçanlardan kan örnekleri alındı.

Bulgular: Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun iki farklı dozdaki uygulamalarından sonra, tedavi edilen diyabetik sıçanların SOD aktivitelerinde ve GSH seviyelerinde istatistiksel olarak önemli bir artma ve MDA seviyelerinde istatistiksel olarak önemli bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Ayrıca AST ve ALT seviyelerinde de istatistiksel olarak önemli bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulaması düşük dozda oleuropein içeren emülsiyon uygulamasından daha etkili olduğu bulundu ($p<0.05$). Ayrıca yüksek dozda oleuropeini ya da yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonunu alan diyabetik sıçanların glukoz seviyelerinde önemli bir düşme gözlemlendi ($p<0.05$). Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulamasından sonra, tedavi edilen diyabetik sıçanların GSH seviyelerinde ve SOD aktivitelerinde önemli bir artma ve MDA seviyelerinde önemli bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Ayrıca yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulaması tedavi edilen diyabetik sıçanların AST ve ALT seviyelerini düşürdü ($p<0.05$), fakat bu düşme normal değerlere yakın değildi.

Sonuç: Sonuçlar zeytin yaprağı etanol ekstresinin emülsiyon formülasyonunun antidiyabetik etkisinin onun antioksidan aktivitesinden dolayı olabileceğini ve bu ekstreden izole edilen oleuropeinin emülsiyon formülasyonunun antidiyabetik etkisinin onun hipoglisemik etkisinden ve yaygın olarak diyabetle ilişkili olan oksidatif stresi baskılayan antioksidan aktivitesinden dolayı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, diyabet, emülsiyon, oleuropein, streptozotosin, zeytin yaprağı (*Olea europaea* L.).

ABSTRACT

Investigating The Effects of Emulsion Formulations of Olive Leaf (*Olea Europaea* L.) Ethanol Extract and Oleuropein Isolated from The Extract in Diabetic Rats

Aim: This study was designed to investigate the effects of emulsion formulations of olive leaf (*Olea europaea* L.) ethanol extract and oleuropein isolated from the extract in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats.

Material and Method: Diabetic rats were treated with oral administrations of the emulsion formulations of the olive leaf ethanol extract (330 and 500 mg/kg b.w.) and oleuropein (150 and 225 mg/kg b.w.) in liquid form daily at a single dose for 4 weeks. At the end of the experimental period, the liver tissue samples of rats were also taken to determine of SOD activities, GSH and MDA levels. Also, the blood samples of rats were taken to determine of AST, ALT and glucose levels.

Results: After the oral administrations of oleuropein or the emulsion containing oleuropein, at two different doses, a statistically significant increase in SOD activities and GSH levels and a statistically significant decrease in MDA levels of the treated diabetic rats were observed ($p < 0.05$). Also, a statistically significant decrease in their AST and ALT levels were observed ($p < 0.05$). The oral administration of the emulsion containing oleuropein at the high dose was found to be more effective than that of the low dose ($p < 0.05$). In addition, a significant decrease in glucose levels of the diabetic rats receiving oleuropein at high dose or the emulsion containing oleuropein at high dose was observed ($p < 0.05$). After the oral administration of the emulsion containing the extract at the high dose, a significant increase in GSH levels ($p < 0.05$) and SOD activities ($p < 0.05$) and a significant decrease in MDA levels ($p < 0.05$) of the treated diabetic rats were observed. Also, the oral administration of the emulsion containing the extract at the high dose significantly decreased AST and ALT levels of the treated diabetic rats, but the decreases are not close to normal levels.

Conclusion: The results indicate that the antidiabetic effect of the emulsion formulation of olive leaf ethanol extract may be due to its antioxidant activity, and the antidiabetic effect of the emulsion formulation of oleuropein isolated from the extract may be due to its hypoglycemia effect and antioxidant activity restraining the oxidative stress which is widely associated with diabetes.

Keywords: Antioxidant, diabetes mellitus, emulsion, oleuropein, olive leaf (*Olea europaea* L.), streptozotocin.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADD	: Amerikan Diyabet Derneği
ALT	: Alanin Aminotransferaz
APG	: Açlık Plazma Glukozu
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi
BGT	: Bozulmuş Glukoz Toleransı
¹³C-NMR	: ¹³ C Nükleer Manyetik Rezonans
CAT	: Katalaz
dk	: Dakika
DD-E	: Ekstrenin düşük dozunun (330 mg/kg) oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup
DD-EE	: Ekstre içeren emülsiyonun düşük dozunun (330 mg/kg) oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup
DD-OL	: Oleuropeinin düşük dozunun (150 mg/kg) oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup
DD-OLE	: Oleuropein içeren emülsiyonun düşük dozunun (150 mg/kg) oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup
DK	: Diyabetik kontrol grubu
DKA	: Diyabetik ketoasidoz
dL	: Desilitre
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPP-4	: Dipeptidil peptidaz-4
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü

DTNB	: 5,5'-ditiyo-bis-2 nitrobenzoik asit
DTPA	: Dietilen penta asetik asit
E	: Ekstre
EE	: Ekstre içeren emülsiyon
EGTA	: Etilen glikol tetra asetik asit
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EK	: Emülsiyon kontrol grubu
g	: Gram
GDM	: Gestasyonel diyabet
GIP	: Gastrik inhibitör peptid
GLP-1	: Glukagon benzeri peptid-1
GR	: Glutasyon redüktaz
GLUT-2	: Glukoz taşıyıcısı-2
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Yükseltgenmiş glutasyon
GST	: Glutasyon s-transferaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
¹H-NMR	: ¹ H Nükleer manyetik rezonans
HEPES	: 4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit
HbA1c	: Hemoglobin A1C
IDDM	: Tip I Diabetes Mellitus
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
kg	: Kilogram
LD	: Lineer doğru

LPO	: Lipid peroksidasyonu
MES	: 2-(N-morfolino) etansülfonik asit
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
μL	: Mikrolitre
MPx	: Miyeloperoksidaz
NIDDM	: Tip II Diabetes Mellitus
NO[•]	: Nitrik oksit
NO₂[•]	: Nitrojen dioksit
O^{2•-}	: Süperoksit anyon radikali
¹O₂	: Singlet oksijen
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
OH[•]	: Hidroksil radikali
OL	: Oleuropein
OLE	: Oleuropein içeren emülsiyon
OLK	: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı grup
RNA	: Ribonükleik asit
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SK	: Sağlıklı kontrol grup
SOD	: Süperoksit dismutaz
STZ	: Streptozotosin
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri

TBT	: Tıbbi beslenme tedavisi
TNB	: 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit
TURDEP	: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji
UDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
YD-E	: Ekstrenin yüksek dozunun (500 mg/kg) oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup
YD-EE	: Ekstre içeren emülsiyonun yüksek dozunun (500 mg/kg) oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup
YD-OL	: Oleuropeinin yüksek dozunun (225 mg/kg) oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup
YD-OLE	: Oleuropein içeren emülsiyonun yüksek dozunun (225 mg/kg) oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. İnsülinin zincir yapısı (A) ve preproinsülinin oluşumu (B).....	23
Şekil 2.2. Araşidonik asidin otooksidasyonunun öne sürülen mekanizması.....	27
Şekil 2.3. Oleuropein molekülünün kimyasal yapısı.....	32
Şekil 2.4. Hidroksitirosol ve elenolik asit moleküllerinin kimyasal yapısı	33
Şekil 2.5. Emülsiyon oluşumunun şematik gösterimi	35
Şekil 2.6. STZ'nin yapısı	39
Şekil 3.1. Streptozotosin ile diyabet modeli oluşturma	42
Şekil 3.2. Zeytin yaprağından etanol ekstresinin hazırlanması	43
Şekil 3.4. Doğruluğu hesaplamak için kullanılan eşitlik	45
Şekil 3.5. Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyon uygulamalarını gösteren şema..	49
Şekil 3.6. Ekstre ve ekstre içeren emülsiyon uygulamalarını gösteren şema	49
Şekil 3.7. Biyokimyasal ölçüm şeması	53
Şekil 3.8. SOD ölçüm şeması	54
Şekil 3.9. SOD aktivitesini hesaplamak için kullanılan eşitlik.....	56
Şekil 3.10. GSH ölçüm şeması	56
Şekil 3.11. GSH seviyesini belirlemek için kullanılan eşitlik	58
Şekil 3.12. MDA-TBA oluşum mekanizması	59
Şekil 3.13. MDA seviyesini hesaplamak için kullanılan eşitlik	61
Şekil 3.14. Protein seviyesini hesaplamak için kullanılan eşitlik.....	63
Şekil 4.1. Oleuropeinin yapısı	66
Şekil 4.2. Oleuropeine ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi	67
Şekil 4.3. Emülsiyon formülasyonlarına ait mikroskop görüntüleri.	70
Şekil 4.4. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren	

emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası ağırlıkları	71
Şekil 4.5. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası kan glukoz seviyeleri.....	72
Şekil 4.6. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası AST seviyeleri	74
Şekil 4.7. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası ALT seviyeleri.....	75
Şekil 4.8. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası SOD aktiviteleri.....	78
Şekil 4.9. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası GSH seviyeleri.....	79
Şekil 4.10. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası MDA seviyeleri	81
Şekil 4.11. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası kan glukoz seviyeleri.....	82
Şekil 4.12. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası kan glukoz seviyeleri.....	83
Şekil 4.13. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası AST seviyeleri	85
Şekil 4.14. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası ALT seviyeleri.....	86
Şekil 4.15. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası SOD aktiviteleri.....	88
Şekil 4.16. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası GSH seviyeleri.....	89

Şekil 4.17. Konrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası MDA seviyeleri 90



TABLÖLER DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. UDF'nin dünya geneli 2015 ve 2040 yılı tahminleri.....	5
Tablo 2.2. UDF'nin ülkemizdeki 2015 yılı tahminleri	6
Tablo 2.3. Diyabetin tanı kriterleri.....	7
Tablo 2.4. Glisemi ve A1c ilişkisi.....	8
Tablo 2.5. BGT'nin tanı kriterleri	9
Tablo 2.6. BAG'ın tanı kriterleri.....	9
Tablo 2.7. Diyabetin sınıflandırması.....	10
Tablo 2.8. GDM'nin tanı kriterleri.....	14
Tablo 2.9. Hamilelikte diyabet tanı kriterleri	14
Tablo 2.10. <i>Olea europae L.</i> 'nin bilimsel sınıflandırılması ve binominal adı	30
Tablo 2.11. Zeytin yaprağı ekstraktında bulunan fenolik maddelerin miktarları	31
Tablo 3.1. Boş emülsiyonun hazırlanması	47
Tablo 3.2. Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyon uygulamaları	50
Tablo 3.3. Ekstre ve ekstre içeren emülsiyon uygulamaları	51
Tablo 3.4. SOD ölçümü için standart hazırlama	55
Tablo 3.5. SOD deney şeması	55
Tablo 3.6. GSH standart hazırlama	57
Tablo 3.7. GSH deney şeması	58
Tablo 3.8. MDA standart hazırlama.....	60
Tablo 3.9. MDA deney şeması.....	60
Tablo 3.10. Protein ölçümü için standartların konsantrasyonları	62
Tablo 3.11. Protein deney şeması	62
Tablo 3.12. Deneyde kullanılan cihazlar ve modelleri	63

Tablo 3.12. Deneyde kullanılan cihazlar ve modelleri (devamı)	64
Tablo 4.1. Oleuropein analitik yönteminin gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri	68
Tablo 4.2. Emülsiyon formülasyonlarına ait damlacık büyüklüğü sonuçları	69
Tablo 4.3. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası AST ve ALT seviyeleri.....	73
Tablo 4.4. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası SOD aktiviteleri, GSH ve MDA seviyeleri.....	77
Tablo 4.5. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası AST ve ALT seviyeleri.....	84
Tablo 4.6. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası SOD aktiviteleri, GSH ve MDA seviyeleri.....	87

1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM) insülin hormonunun mutlak ya da göreceli eksikliği veya etkisizliği sonucu gelişen ve dünya çapında mortalite ve morbititesi yüksek olan hiperglisemi ile karakterize çok yaygın endokrin, kronik ve metabolik bir durumdur.¹⁻³ DM, uzun yıllardır bilinmesine rağmen kesin tedavi yönteminin henüz geliştirilememiş olması ve görülme sıklığının fazla olması onu ilgi çekici bir araştırma konusu yapmaktadır.

Diyabetik bireylerde serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonu (LPO)'nun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bilinmektedir.⁴ Oksidatif stres genellikle antioksidanlar ve prooksidanlar arasındaki dengesizliğin prooksidanlar lehine olması olarak tanımlanır.⁵ Oksidatif stresin azalması ve tedavisi üzerine etki gösteren koruyucu mekanizmaların varlığı oldukça önemlidir. Bunlar arasında antioksidanlar serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı direnç gösteren savunma mekanizmalarıdır.⁵ Diyabetin neden olduğu oksidatif hasarı önlemek amacıyla doğal antioksidanlara artan bir talep vardır. Zeytin; yağı, meyvesi ve yaprakları yüksek antioksidan aktiviteye sahip doğal antioksidanlardandır.^{3, 6, 7} Zeytin yaprağının tedavi edici özellikte olduğu eski zamanlardan beri bilinmektedir.⁸ Zeytin yaprağının diyabet ve komplikasyonlarını önlemede anahtar bir rol oynadığı literatürde açıkça belirtilmiştir.⁹ Yapılan çalışmalarda streptozotosin (STZ) ile diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda zeytin yaprağı etanol ekstresinin kan glukoz artışını engellediği ve antidiyabetik bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.^{9, 10}

Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde bitkisel çay ya da ekstrakt şeklinde kullanılan zeytin yaprağı hipoglisemik ve antioksidan özelliklere sahip oleuropein, hidroksitirosol ve tirosol gibi birçok biyoaktif bileşik içermektedir.^{3, 11, 12} Zeytin yaprağı başlıca

flavonoidler, sekoiridoitler ve triterpenler olmak üzere üç farklı etkili madde grubuna ait bileşikler içerir.¹³ Zeytin yaprağının en etkili aktif bileşeni sekoiridoit grubunun doğal bir ürünü olan oleuropeindir.¹³⁻¹⁶ Oleuropein; antidiyabetik,³ hipoglisemik,^{3, 16} antioksidan,¹⁶ antienflamatuar,¹⁷ antimikrobiyal¹⁸ ve antikanser¹⁹ gibi birçok etkisinin incelendiği birçok araştırma bulunmaktadır.

Oleuropein zeytin yaprağı ekstresinde bulunan doğal bir fenolik bileşiktir.²⁰ Zeytin yapraklarının dışında argan yağı ve çalı görünümündeki küçük bir ağaç olan kurtbağrı yapraklarında da bulunmaktadır.^{21, 22} Oleuropein sindirim sırasında oksidasyon ve enzimatik reaksiyonlara duyarlıdır. Oral yoldan alınan oleuropein ince bağırsakta kaldığı sürece miktarı azalabilir ve gastro-intestinal yolda zayıf bir biyoyararlanım gösterebilir.²³ Bu yüzden oleuropeinin biyoyararlanımını ve emilimini artırmak için emülsiyon sistemlerine ihtiyaç olduğu ileri sürülmektedir.²⁴

Emülsiyonlar birbiriyle karışmayan iki sıvıdan birinin diğeri içerisinde dağılmasıyla oluşan homojen görünümlü heterojen sistemlerdir.²⁵ Bu sistemler oral uygulama amacıyla gıda ve ilaç endüstrisinde hidrofilik ve/veya hidrofobik özellikteki maddeler için uygun taşıyıcı sistemlerdir.^{26, 27} Bazı maddeler oral yoldan alındığında ağızda hoş olmayan bir tat bırakabilirler.²⁸ Bu durum özellikle bebekler ve çocuklar tarafından sağlıklı gıdaların seçilmesine olan uyumu azaltabilir. ^{29, 30} Bu yüzden bu maddelerin istenmeyen özelliklerini mümkün olduğunca azaltmak amacıyla taşıyıcı sistemlerin kullanılması oldukça önemlidir.^{24, 28, 31}

Bu çalışmada STZ ile diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda, doğal antioksidan olan zeytin (*Olea europaea L.*) yaprağının etanol ekstresinin ve bundan izole edilen oleuropeinin emülsiyon formülasyonlarının diyabet ve komplikasyonlarının neden olduğu oksidatif stresin azalması ve tedavisi üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DM'nin Tanımı

Diyabet, genetik ve immün yapının neden olduğu bir seri patolojik olaylar sonucu, pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun mutlak ya da göreceli eksikliği veya etkisizliği sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmalarında bozukluklara yol açan, uzun vadeli komplikasyonlara neden olan hiperglisemi ile karakterize çok yaygın kronik bir durumdur.^{1, 2}

DM, kanda artmış glukoz seviyeleri ile kendini gösterir. Glukozu enerjiye dönüştürmek için kan dolaşımından vücut hücrelerine taşımak gerekir. Bu taşıma insülin hormonu aracılığı ile olur. Diyabetli bir bireyde insülin hormonunun eksikliği veya etkisizliği kan glukoz seviyesinin normalin çok üstünde (hiperglisemi) olması anlamına gelir. Bu durum vücudun birçok dokusunda hasara neden olur ve hayatı tehdit eden sağlık komplikasyonlarının gelişimine yol açar.²

2.2. DM'nin Epidemiyolojisi

Diyabet 21. yüzyılın en büyük küresel sağlık problemlerinden biridir. Birçok ülke hala diyabetin sosyal ve ekonomik etkilerinden habersizdir. Bu durum diyabetin görülme sıklığının kaçınılmaz olarak artmasına öncülük etmekte ve tedavi için etkili stratejilerin geliştirilmesinde büyük bir bariyer oluşturmaktadır. 2000 yılından bu yana, Uluslararası Diyabet Federasyonu (UDF) kapsamlı bir şekilde diyabeti detaylandırmış ve diyabetin her ülkeyi, her yaş grubunu ve dünya çapındaki her ekonomiyi nasıl etkilediğini ve etkileyeceğini yapmış olduğu araştırmalarla incelemiştir.

UDF verilerine göre, toplam harcamaların büyük kısmını oluşturan diyabet ve ilişkili komplikasyonların tedavisinin küresel sağlık harcamaları ile birlikte sağlık masrafları %12 oranıyla artmaya devam etmektedir. Artan kentleşme ve yaşam tarzı değişikliklerinin yanısıra beklenen nüfus artışı ile gelecekte sağlık harcamalarında önemli

bir artmanın olacağı ön görülmektedir.² UDF tarafından yayınlanan ‘Yedinci Diyabet Atlası’nda yeralan verilere göre, 2015 yılında yaklaşık 415 milyon kişinin diyabetli olduğu, 2040 yılında ise yaklaşık 642 milyon kişinin diyabetli olacağı tahmin edilmektedir. 2015 yılında her 11 kişiden birinin diyabet olduğu, 2040 yılında ise her 10 kişiden birinin diyabet olacağı tahmin edilmektedir. Ayrıca dünya genelinde yetişkin olan her 2 kişiden birine diyabet tanısı konulmamıştır.² Dünya genelinde diyabetli erkek sayısının diyabetli kadın sayısına göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kentsel bölgelerde yaşayan diyabetli birey sayısının kırsal bölgelerde yaşayanlara kıyasla daha fazla olduğu tahmin edilmektedir.²

Tip 1 diyabet diğer diyabet tiplerine kıyasla daha az görülmesine rağmen, her yıl %3 oranında artmakta ve özellikle çocuklarda görülmektedir. Çocuklarda endişe verici bir oranda tip 1 diyabet gelişmekte (her yıl 15 yaş altı yaklaşık 86 bin çocukta tip 1 diyabet gelişmekte) ve 2015 yılında yarım milyondan fazla (542 bin) çocuğun tip 1 diyabetle yaşadığı tahmin edilmektedir. 2015 yılında her 7 doğumdan birinde gestasyonel diyabet gelişmektedir. Ayrıca 2015 yılında BGT’si olan 318 milyon yetişkinin olduğu tahmin edilmekte ve bu da bu bireylerin gelecekte diyabete yakalanma riskini artırmaktadır. Yaşadığı bölgede kendi gelenek ve kültürlerine bağlı yerli halkın bazı kesimleri özellikle gebelik diyabeti için daha yüksek prevalans oranına sahiptir. Bazı yerli kadınlarda GDM gelişme riski yerli olmayan kadınlara kıyasla daha fazladır.²

Dünya genelinde diyabetin görülme sıklığı hızla artmakta ve diyabetli bireylerin yaklaşık %80’inin düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşadığı tahmin edilmektedir. Sırbistan, Karadağ, Makedonya, Bosna Hersek diyabet prevalansının en yüksek olduğu ülkeler arasındadır. Yüksek gelirli ülkelerde ise diyabetli birey sayısının fazla olduğu görülmektedir. Özellikle ABD, Çin, Rusya ve Japonya gibi ülkeler diyabetli bireylerin sayıca en fazla olduğu ülkelerdir.²

UDF'nin diyabet ile ilgili 2015 ve 2040 yılı tahminleri Tablo 2.1'de verilmiştir.²

Tablo 2.1. UDF'nin dünya geneli 2015 ve 2040 yılı tahminleri²

Dünya genelinde	2015 yılı	2040 yılı
Nüfus		
Dünya nüfusu (toplam)	7.3 milyar	9 milyar
Yetişkin nüfusu (20-79 yaş)	4.72 milyar	6.16 milyar
Çocuk nüfusu (0-14 yaş)	1.92 milyar	-
Diyabet (20-79 yaş)		
Dünya diyabet prevalansı	%8.8	%10.4
Diyabetli birey sayısı	415 milyon	642 milyon
Diyabete bağlı ölüm sayısı	5 milyon	-
Diyabete bağlı sağlık harcamaları (20-79 yaş)		
Toplam sağlık harcamaları (2015, USD)	673 milyar	802 milyar
Gebelikte hiperglisemi (20-49 yaş)		
Canlı doğum oranı	%16.2	-
Canlı doğum sayısı	20.9 milyon	-
Bozulmuş glukoz toleransı (BGT) (20-79 yaş)		
Dünya BGT prevalansı	%6.7	%7.8
BGT gelişen birey sayısı	318 milyon	481 milyon
Tip 1 diyabet (0-14 yaş)		
Tip 1 diyabetli çocuk sayısı	542 bin	-
Her yıl teşhis edilen tip 1 diyabetli çocuk sayısı	86 bin	-

UDF verilerine göre, 2015 yılında ülkemizde 20-79 yaş arası diyabet prevalansının %12.5 olup, diyabetli birey sayının 6.3 milyon olduğu bildirilmektedir. Ayrıca 20-79 yaş arası diyabet tanısı konulmamış birey sayısının 2.7 milyon, diyabetli bir birey için yapılan sağlık harcamasının 846 bin Amerikan doları, 20-79 yaş arası diyabete bağlı ölüm sayısının yaklaşık olarak 52 bin, tip 1 diyabetli çocuk sayısının yaklaşık olarak 10 bine yakın olduğu bildirilmektedir.²

UDF'ye göre, ülkemizdeki 2015 yılı tahminleri Tablo 2.2'de gösterilmiştir.²

Tablo 2.2. UDF'nin ülkemizdeki 2015 yılı tahminleri²

Türkiye'de	2015 yılı
Diyabet prevalansı (20-79 yaş)	%12.5
Diyabetli birey sayısı (20-79 yaş)	6.3 milyon
Tanı konulmamış diyabetli birey sayısı	2.7 milyon
Diyabete bağlı ölüm sayısı (20-79 yaş)	52 bin
Tip 1 diyabetli çocuk sayısı (1000'de)	9.5
Diyabetli bir birey için yapılan sağlık harcaması	846 bin (USD)

Ülkemizde yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji-II (TURDEP-II) çalışmasının sonuçlarına göre; ülke genelinde 20 yaş üzerinde 16.696 kadın ve 9.327 erkek olmak üzere toplamda 26.023 kişi incelenmiş, 20 yaşından büyük bireylerde diyabet prevalansı %7.2, BGT oranı ise %6.7 olarak belirlenmiştir. Ayrıca diyabetin yaşla birlikte arttığı ve ülkemizde kırsal yerleşim bölgelerine kıyasla kentsel yerleşim bölgelerinde yaşayanlarda daha sık görüldüğü saptanmıştır. Dünya genelinde diyabetli bireylerin %46'sını henüz tanı konulmamış vakalar oluşturduğu bilinmektedir. Türkiye'de ise diyabetli bireylerin %45.5'inin diyabetli olduklarından haberdar olmadığı ileri sürülmektedir.³²

2.3. DM'nin Tanısı

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu verilerine göre, açlık plazma glukozu (APG) ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) ölçümleri ile diyabet ve prediyabet tanısı konmaktadır. Yapılan ölçümler mutlaka tekrarlanmalı ve diğer bir ölçümle doğrulanmalıdır. Yapılan testlerin birkaç ay sonra (3-6 ay) tekrarlanması önerilmektedir.

Amerikan Diyabet Derneği (ADD), Birleşmiş Milletler (BM) ve UDF'ye göre diyabet tanı kriterleri Tablo 2.3'te gösterilmiştir.^{2, 33, 34}

Tablo 2.3. Diyabetin tanı kriterleri^{2, 33, 34}

-
- APG ≥ 7.0 mmol/L (126 mg/dL)
 - OGTT'den 2 saat sonraki plazma glukozu ≥ 11.1 mmol/L (200 mg/dL)

Yukarıdaki kriterlerden biri veya daha fazlası varsa bireye diyabet tanısı konulmaktadır.

2.3.1. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)

OGTT, DSÖ tarafından tavsiye edilmektedir ve BGT'si olan kişileri tanımanın tek yoludur. OGTT, APG'si 6.1-6.9 mmol/L (110-125 mg/dL) olan bireylerde glukoz tolerans durumunu belirlemek için kullanılmalıdır. Bu testin standart koşullar altında yapılması, test öncesi ve test sonrası değişikliklerin en aza indirilmesi açısından önemlidir. Bireylere teste başlamadan 3 gün öncesinden günde en az 150 g karbonhidrat içeren normal bir diyet uygulanır. Birey test sırasında fiziksel aktiviteden kaçınmalı, oturur pozisyonda bulunmalı, herhangi bir şey yememeli ve içmemelidir. Erişkinlerde 75 g glukoz (susuz veya monohidrat), çocuklarda maksimum 75 g'ı geçmeyecek şekilde 1.75 g/kg glukoz, gebelerde 100 g glukoz (25 g/100 mL) ile standart OGTT yapılır. OGTT özellikle gestasyonel diyabet tanısında önemlidir ve hamilelerde gebeliğin 24-28. haftasında uygulanmaktadır. Test bireyin 8-10 saatlik gece açlığından sonra sabah erken saatlerde yapılmalıdır. Teste başlamadan önce bireyin açlık kan glukozu ölçülür ve 5 dk içinde hazırlanan glukoz solüsyonu bireye içirilir. Glukoz yüklemesinden sonra 120 dk içinde her 30 dk'da bir glukoz ölçümü yapılmalıdır. 120. dk'da kan şekeri 140 mg/dL ve üzerinde olanlar yüksek risk altındadır. OGTT, DSÖ tarafından açlık kan glukoz konsantrasyonu 6.1-7.0 mmol/L (110-125 mg/dL) olan hastalara önerilmektedir.³³

2.3.2. Açlık Plazma Glukozu (APG)

Postprandiyal 2. saat ve 75 g standart glukoz yüklenmesinden sonraki 2. saat plazma örneklerinde açlık kan glukoz ölçümü yapılır ve diyabetin tanısı ve

değerlendirilmesi için kullanılır. APG konsantrasyonlarının referans aralıkları erişkinlerde 74-106 mg/dL (4.5-5.9 mmol/L), çocuklarda 60-100 mg/dL (3.5-5.6 mmol/L)'dir.³³

2.3.3. Hemoglobin A1c (HbA1c)

HbA1c günün her saatinde yapılabilen, açlık gibi herhangi bir özel durum gerektirmeyen ve tek bir ölçümle 2-3 ay önceki ortalama plazma glukoz seviyesini gösteren bir seçenektir. HbA1c diyabetli kişilerde glisemik kontrolü belirlemek, diyabet tanısı konulmamış kişilerde ise glukoz toleransını değerlendirmek için önemli bir parametredir.³⁵

Tablo 2.4. Glisemi ve A1c ilişkisi³⁵

A1c (%)	Ortalama Glisemi (mg/dL)	A1c (%)	Ortalama Glisemi (mg/dL)
5	100	9	240
6	135	10	275
7	170	11	310
8	205	12	345

Bunlara rağmen, HbA1c ölçümü birçok ülkede yaygın olmadığı gerçeği de unutulmamalıdır. Çünkü HbA1c ölçümünde sorunlu olan yönler vardır. HbA1c'nin ölçüm hassasiyeti plazma glukozunun ölçüm hassasiyetine benzerdir. Fakat HbA1c ölçümlerinde küresel bir tutarsızlık vardır.

Ayrıca HbA1c ölçümü anemi, hemoglobin anormallikleri ve üremi gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Özellikle anemi ve hemoglobinopatilerin sık görüldüğü ülkelerde HbA1c ölçümü büyük bir sorun olabilir. Bu hususlar göz önüne alındığında, diyabet teşhisinde HbA1c'nin rolünün henüz kesinleşmediği ve tanı testi olarak önerilemeyeceği gerçeği unutulmamalıdır.³³

2.4. Prediyabet Tanısı

Diyabet tanısı için yeterli olmayan yüksek kan şekeri seviyesine sahip bireylerin BGT'sine veya bozulmuş açlık glukozuna (BAG) sahip olduğu söylenir. Bu durum bazen prediyabet olarak adlandırılır. Prediyabet, ileride diyabet gelişme riskinin yüksek olduğunun bir göstergesidir.² Glukoz tolerans bozukluğu olan kişilerde tip 2 diyabet gelişim riski yüksektir. BGT, tip 2 diyabetle ilgili birçok karakteristiği bünyesinde barındırır, ayrıca ilerleyen yaş ve vücudun ürettiği insülini kullanamaması ile ilişkilidir. Sağlıklı diyet, fiziksel aktivite ve yaşam tarzını destekleyen müdahaleler ile glukoz tolerans bozukluğu olan kişiler tip 2 diyabet geliştirmeye devam etmez. Yaşam tarzı müdahalesi BGT'si olan birçok kişide glukoz toleransının normale dönmesini sağlamıştır.² DSÖ ve UDF'ye göre BGT ve BAG tanı kriterleri ayrı tablolarda olmak üzere Tablo 2.5'te ve Tablo 2.6'da gösterilmiştir.³³

Tablo 2.5. BGT'nin tanı kriterleri

-
- APG < 7.0 mmol/L (126 mg/dL)
 - OGTT' den 2 saat sonraki plazma glukozu 7.8-11.1 mmol/L (140-200 mg/dL)
- Yukarıdaki kriterlerin birlikte var olması durumunda bireyde BGT gelişir.
-

Tablo 2.6. BAG'ın tanı kriterleri

-
- APG 6.1-6.9 mmol/L (110-125 mg/dL)
 - OGTT'den 2 saat sonraki plazma glukozu < 7.8 mmol/L (140 mg/dL)
- Yukarıdaki kriterlerin birlikte var olması durumunda bireyde BAG gelişir.
-

2.5. DM'nin Sınıflandırılması

Diyabet için birçok sınıflandırma yapılmasına rağmen, DM hakkındaki bilgilerin giderek artması sınıflandırmanın ve tanı kriterlerinin yeniden gözden geçirilmesini

gerektirmiştir. DM dört ana başlık altında incelenmiştir.^{1, 2, 34}

Tablo 2.7. Diyabetin sınıflandırması

-
- Tip 1 Diabetes Mellitus (IDDM)
 - Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM)
 - Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)
 - Spesifik nedenlere bağlı Diabetes Mellitus
-

2.5.1. IDDM

İnsüline bağımlı diyabet veya genç tipi diyabet olarak da adlandırılan tip 1 diabetes mellitusta vücudun savunma sistemi pankreasın insülin üreten β -hücrelerine saldırarak otoimmün hasara neden olur. Bu durumda vücut ihtiyacı olan insülini üretemez. Bunun nedeni tam olarak bilinmemektedir.² Bu tip diyabette mutlak insülin eksikliği vardır.¹ Diyabetli bireylerin yaklaşık %5-10'u tip 1 diyabetiktir.³⁴ Her yaştan insanda görülmekle birlikte genellikle çocuklarda ve genç yetişkinlerde görülmektedir. Tip 1 diyabetli bireyler kan glukoz seviyelerini kontrol altına almak amacıyla hergün insülin kullanmak zorundadırlar. Yeteri kadar insülin yoksa vücut yağ yakmaya başlar. Bunun sonucunda vücutta keton cisimleri birikir. Tedavi edilmezse vücutta zehirlenmelere neden olur. Diyabetik ketoasidoz (DKA) denilen bu durum tip 1 diyabetin ilk bulgusu olabilir. Bu bireylerin insülin olmadan yaşamlarını sürdürebilmeleri zordur ve tip 1 diyabet insülin yetersizliğinden dolayı erken ölümlere neden olur. Tip 1 diyabet gelişiminde genetik yatkınlığın, enfeksiyonların ve nedeni bilinmeyen birçok çevresel faktörün rol oynadığı düşünülmektedir.²

2.5.1.1. Tip 1 Diyabetin Semptomları

Tip 1 diyabetin semptomları; ²

- Anormal derecede susuzluk (polidipsi) ve ağız kuruluğu
- Sık idrara çıkma (poliüri)

- Enerji eksikliği ve aşırı yorgunluk
- Sürekli açlık hali (polifaji)
- Hızlı kilo kaybı
- Görme bulanıklığı

2.5.2. NIDDM

İnsüline bağımlı olmayan diyabet veya ergin tipi diyabet olarak da adlandırılan tip 2 diabetes mellitus diyabetin en yaygın formudur. Diyabetli bireylerin yaklaşık %90'ı tip 2 diyabetiktir. Genellikle yetişkinlerde görülmektedir. Fakat son dönemlerde genç erişkinlerde ve çocukluklarda da tip 2 diyabet vakaları görülmeye başlamıştır. Bu tip diyabette iki metabolik defekt söz konusudur. İnsülinin etkisinin veya sekresyonunun azalması ve insülin etkisindeki bozukluk nedeniyle insülin rezistansı (direnci) gelişmesidir. İnsülin sekresyonu da insülin direncini kompanse edemez. Pankreasın beta hücrelerinin sayısı, bu hücrelerde insülinin depo edilmesi ve bu hücrelerden insülin salınımı normaldir. Kandaki insülin düzeyi biraz azalmış, normal ya da yüksek olabilir. Asıl bozukluk, insülinin etkilediği hedef hücrelerde insülin reseptörlerinin sayıca az olması ya da insülin etkinliğinin azalması ve insüline karşı direnç gelişmesinden kaynaklanmaktadır. Hem insülin direnci hem de eksikliği yüksek kan glukoz seviyelerine neden olur. Bunun sonucu olarak insülin kan glukozunu normal düzeyde tutamaz, glukoz hücrelere yeterince giremez ve dolayısıyla hücreler glukozu kullanamaz. Tip 2 diyabetli bireyler durumlarından çok uzun süre haberdar olamazlar. Tip 2 diyabet yıllarca farkedilmeden devam edebilir. Çünkü semptomlar genellikle tip 1 diyabetten daha az belirgindir ve çok daha uzun süre içinde gelişir.²

2.5.2.1. Tip 2 Diyabet Risk Faktörleri

Bu diyabet formunun temel nedenleri bilinmemesine rağmen, birçok önemli risk faktörü vardır. Tip 2 diyabet gelişmesinde hem genetik hem de çevresel etmenler oldukça

önemlidir. Ailede diyabet öyküsü, yaşam tarzı, obezite ve yaşlanma gibi faktörlerin yanı sıra, tip 2 diyabetin bilinen en önemli risk faktörleri aşırı kilo alma, fiziksel aktivite azlığı ve düzensiz beslenmedir.^{1, 2, 34}

2.5.2.2. Tip 2 Diyabetin Semptomları

Tip 2 diyabet semptomları;²

- Aşırı susuzluk (polidipsi)
- Sık idrara çıkma (poliüri)
- Bulanık görme
- Kilo kaybı

2.5.3. Gestasyonel Diyabet (GDM)

Gebelik sırasında herhangi bir zamanda ilk tespit edilen hiperglisemi ya gestasyonel diabetes mellitus ya da hamilelikte diabetes mellitusun göstergesidir. Kan glukoz seviyeleri hafif yükselmiş olan kadınlar GDM olarak sınıflandırılırken, kan şekeri önemli derecede artmış olanlar ise hamilelikte diyabet olarak sınıflandırılırlar.³⁶ Hamile kadınların yaklaşık %7'sinde görülen GDM, genellikle gebeliğin 24. haftasından sonra plsentia hormonlarının insülin dencini arttırmasına bağlı olarak gelişir ve gebeliğin 24. haftasından itibaren görülme eğilimindedir.

Hamilelik süresince hiperglisemi belirtileri nadir görülür, artmış susuzluk ve sık idrara çıkma dışında normal gebelik belirtilerinden ayırt edilemez. Bu nedenle oral glukoz tolerans testi ile tarama testi yapılması önerilir. Oral glukoz tolerans testi yüksek risk altında olan hamile kadınlar için erken dönemlerde ve diğerleri için ise hamileliğin 24. ve 28. haftaları arasında yapılmalıdır. Hamilelik sırasında hiperglisemi olan kadınlar gebelik süresince büyük bir risk altındadır. Bu hastaların çok yüksek tansiyona sahip olup, vajinal doğumları zor ve risklidir. Hamilelik döneminde kan glukozunun kontrolü bu riskleri azaltabilir. Sağlıklı diyet, hafif egzersiz ve kan glukoz değerlerinin izlenmesi ile kan

glukoz seviyeleri kontrol edilebilir. GDM normalde doğumdan sonra kaybolur. Ancak GDM tanısı konmuş olan kadınlar sonraki hamilelik dönemlerinde gestasyonel diyabet ve ilerleyen yıllarda tip 2 diyabet gelişme riski altındadırlar. GDM tanısı konmuş annelerden doğan bebeklerin gençlik ve erken yetişkinlik dönemlerinde tip 2 diyabet olma ihtimali yüksektir.^{1, 2, 36}

GDM tanı kriterleri Tablo 2.8’de ve hamilelikte diyabet tanı kriterleri Tablo 2.9’da gösterilmiştir.³⁶

Tablo 2.8. GDM’nin tanı kriterleri

• APG 5.1-6.9 mmol/L (92-125 mg/dL) • OGTT’den 1 saat sonraki plazma glukozu ≥ 10.0 mmol/L (180 mg/dL) • OGTT’den 2 saat sonraki plazma glukozu 8.5-11.0 mmol/L (153-199 mg/dL)
Yukarıdaki kriterlerden biri veya daha fazlası varsa birey gestasyonel diyabettir.

Tablo 2.9. Hamilelikte diyabet tanı kriterleri

• APG ≥ 7 mmol/L (126 mg/dL) • OGTT’den 2 saat sonraki plazma glukozu ≥ 11.1 mmol/L (200 mg/dL) • Diyabet semptomlarının varlığında herhangi bir andaki plazma glukozu ≥ 11.1 mmol/L (200 mg/dL)
Yukarıdaki kriterlerden biri veya daha fazlası varsa birey hamileyken diyabettir.

2.5.4. Spesifik Nedenlere Bağlı Diyabet

Bazı genetik mutasyonlar, pankreasta ileri düzeyde hasar oluşturan herhangi bir hastalık, insülinin etkisini azaltan ya da ters etki gösteren bazı hormonların aşırı salgılandığı durumlar, pankreasın beta hücrelerinde hasara neden olan bazı toksinler ve insülin salgısını bozan ilaçların kullanımı sonucu ortaya çıkan diyabet formudur.¹ Nadir görülen bir diyabet tipidir. Yeni doğan diyabeti ve gençlerde görülen erişkin başlangıçlı

diyabeti genetik mutasyon sonucu ortaya çıkan monogenik diyabete örnek verilebilir. Çocuklarda görülen diyabetin yaklaşık %4-13'ü monogenik diyabetten kaynaklanmaktadır. Hormon bozuklukları (örn. Akromegali) ve pankreas hastalıkları (örn. Pankreatit) gibi nedenlerden dolayı ortaya çıkan diyabet ise ikincil diyabet formudur. Bu diyabet tipleri bu gruba dahil edilmiştir.²

2.6. DM'nin Komplikasyonları

Diyabetli insanlar diyabetli olmayan insanlara göre yaşamı tehdit eden sağlık sorunlarından dolayı büyük bir risk altındadır. Kontrol altına alınmamış ve yüksek seyreden kan glukozu uzun vadede çeşitli komplikasyonların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Sürekli yükselen glukoz seviyeleri kalp ve kan damarlarını, gözleri, böbrekleri ve sinirleri etkileyen ciddi hastalıklara neden olabilir. Ayrıca diyabetli bireyler diğer bireylere göre daha fazla enfeksiyon gelişme riski altındadır. Lipit, protein ve karbonhidrat metabolizma bozuklukları ile seyreden diyabet uzun vadede retinopati, nöropati, nefropati, diyabetik ayak ve kalp-damar hastalıkları gibi komplikasyonların meydana gelme riskini artırmaktadır. Diyabet nerdeyse tüm gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalık, körlük, böbrek yetmezliği ve alt ekstremitte amputasyonunun önde gelen bir nedenidir. Diyabette görülen komplikasyonlar akut komplikasyonlar ve kronik komplikasyonlar olmak üzere iki şekilde incelenmektedir.²

2.6.1. DM'nin Akut Komplikasyonları

2.6.1.1. Diyabetik Ketoasidoz (DKA)

DKA diyabet nedenli akut metabolik bir komplikasyondur. Mutlak insülin eksikliği ya da azlığı, enfeksiyon, travma gibi etkenler DKA'nın en önemli nedenleri arasındadır. Dengenin insülin aleyhine bozulması sonucu vücut glukozu kullanmak yerine yağ yakmaya başlar ve vücutta yağ metabolizmasının yan ürünleri olan keton cisimleri (beta hidroksi bütirik asit, asetoasetik asit ve aseton) birikir. Bunun sonucunda

DKA oluşur. İnsülin keşfinden önce, DKA ölüm oranının neredeyse %100'e yakın olmasına rağmen, günümüzde DKA ölüm oranı yetişkinlerde %1'den daha azdır. Fakat gelişmekte olan ülkelerde, yaşlı diyabetli bireylerde ve diyabete eşlik eden farklı hastalıkları olan bireylerde ölüm riskinin DKA ile arttığı bir gerçektir.^{37, 38} Son yıllarda DKA ölüm oranında dikkate değer bir düşme olmasına rağmen, tip 1 diyabetli bireylerin neredeyse %40'ında DKA vardır.³⁹ Tip 2 diyabette nadir görülmesine rağmen, tip 1 diyabetin ilk bulgusu olabilir. Mide bulantısı, kusma, karın ağrısı, çok su içme, sık idrara çıkma bulguları ile kendini gösteren DKA, bilinç bulanıklığı ve komaya kadar ilerleyebilir.¹ Diyabetik hastalarda en çok rastlanılan hiperglisemik bir durum olan DKA acil bir müdahale gerektirir.⁴⁰

2.6.1.2. Hiperglisemik Hiperosmolar Durum (HHD)

HHD ileri derecede hiperglisemi, hiperosmolarite, bilinç bulanıklığı veya kaybı ile karakterize akut metabolik bir sendromdur. Diyabetik bireylerde ketoasidoz olmaksızın aşırı hiperglisemi ile birlikte dehidratasyon gelişebilir. Bu durum yaşamı tehdit eden hiperglisemik hiperosmolar nonketotik sendroma neden olabilir. Tedavisi DKA ile benzerdir.¹ HHD'nin görülme sıklığı DKA dan 10 kat daha fazladır. Özellikle tip 2 diyabetli bireylerde görülmektedir. Diyabetik bireylerde her yaşta görülmesine rağmen, çoğunlukla ileri yaşlarda ortaya çıkar.⁴¹

2.6.1.3. Laktik Asidoz

Diyabetik bireylerde dokulara oksijen dağılımı ve kullanımının yetersizliğinden kaynaklanan ve ağır hipoksi durumlarında nadir olarak görülen metabolik asidoz biçimidir.¹ Plazmada artmış laktat konsantrasyonu laktik asidoz olarak adlandırılır. Fizyolojik olarak laktik asit kaslarda üretildikten sonra, dolaşıma katılarak karaciğere ulaşır. Burada glukozu dönüştürerek döngüyü tamamlar. Laktik asitin karaciğer tarafından dolaşımdan çekilmesi azaldığında kanda laktat birikiminde artma olur ve denge bozulur.

Laktik asidoza yol açan pek çok neden vardır. Laktik asidoz hipoksik koşullarda oluşabildiği gibi nonhipoksik koşullarda da oluşabilir. Dokulara erişen oksijen miktarının azalması oksidatif fosforilasyonun bozulmasına ve ATP sentezinin azalmasına neden olur. Bu durumda hücreler yaşamak için enerji üretmek amacıyla anaerobik glikolizi kullanırlar. Burada son ürün laktik asittir. Laktik asitin klirensi böbrekler tarafından sağlanmaktadır.⁴²

2.6.1.4. Hipoglisemi

Hipoglisemi kan glukoz seviyesinin 50 mg/dL'nin altına düşmesi olarak tanımlanan biyokimyasal bir tanı olup, insülinle tedavi edilen bireylerde en sık görülen komplikasyondur. Diyabetik bireylerde insülinin fazlaca kullanılması, insülin duyarlılığının artması, insülin klirensinde azalma, yetersiz gıda alımı, aşırı egzersiz, epinefrin ve glukagon cevabının bozulması, beta bloker kullanımı, yüksek dozda sulfonilüre kullanımı veya bu ilaçların vücuttan atılımlarının azalması gibi sebeplerle hipoglisemi gelişebilir. Sağlıklı bireylerde plazma glukozu 60-70 mg/dL'nin altına düştüğünde terleme, taşikardi, çarpıntı, titreme, sinirlilik, huzursuzluk gibi semptomlar gelişir. Plazma glukozu 50 mg/dL'nin altına düştüğünde ise baş ağrısı, görme bulanıklığı, amnezi, konuşma bozukluğu, koma ve konfüzyon gibi belirtiler ortaya çıkar. Ayrıca uzamış hipoglisemi kalıcı beyin hasarına neden olabilir. Bu durumlar bireyin hayatını tehdit edebilir. Bu nedenle erken tanı ve tedavi oldukça önemlidir.⁴³

2.6.2. DM'nin Kronik Komplikasyonları

2.6.2.1. Diyabetik Retinopati

Diyabetli bireylerde görme bozukluğuna ya da körlüğe neden olabilecek göz rahatsızlıkları görülebilir. Kan glukoz seviyelerinin kalıcı olarak yüksek olması diyabetik retinopatinin ana nedenidir. Kan glukoz seviyesi kontrol altına alındığında retinopati riski büyük ölçüde azalır. Diyabetik bireylerin yaşam kalitesini en çok düşüren neden diyabetik

retinopatinin yol açtığı görme kaybıdır. Diyabetli bireylerde retinayı besleyen kan damarları hasara uğrar ve ileriki aşamalarda bireyde kalıcı görme kaybına neden olur. Bu durumda birçok bireyde geri dönüş olmamaktadır. Erken tespit ve tedavi körlüğü önleyebilir. Retinopati gelişmeden önce diyabetli bireylerin göz taraması yaptırması oldukça önemlidir.²

2.6.2.2. Diyabetik Nöropati

Diyabetik bireylerde kan glukozunun uzun süre yüksek seyretmesi sinir hasarına neden olabilir. Bu durum özellikle ayaklardaki duyu sinirlerinde görülmekle birlikte, vücuttaki herhangi bir sinirde de hasara yol açabilir. Bu hasar ağrıya, karıncalanmaya ve his kaybına neden olabilir. Ayrıca fark edilemeyen yaralanmalara, ülserasyona, ciddi enfeksiyonlara ve bazı durumlarda amputasyonlara neden olabilir, sindirim, idrara çıkma ve diğer birçok fonksiyonlarla ilgili sorunların yanı sıra erektil disfonksiyonuna da yol açabilir.²

2.6.2.3. Diyabetik Ayak

Sinir hasarının yanı sıra kan damarlarında oluşan hasarlardan dolayı diyabetli bireylerin ayaklarında zayıf bir kan dolaşımı görülür. Bu problemler ülserasyon, enfeksiyon ve amputasyon riskini artırır. Diyabetli bireylerde amputasyon görülme riski normal sağlıklı bireylerden 25 kat daha fazladır.⁴⁴ Uygun bir tedavi yöntemiyle amputasyonların büyük bir kısmı önlenabilir. Bu riskler göz önüne alınarak diyabetli bireylerin düzenli olarak ayaklarını muayene ettirmeli önemlidir. Tedavide multidisipliner yaklaşım gereklidir, korunmada; eğitim, ayakların detaylı muayenesi, vasküler değerlendirme şarttır.²

2.6.2.4. Diyabetik Nefropati

Diyabet kronik böbrek hastalığının önde gelen nedenlerinden biridir. Küçük kan damarlarındaki hasarlardan dolayı gelişen böbrek yetersizliği ve/veya disfonksiyonu ile

karakterize bir komplikasyondur. Kan basıncının ve kan glukozunun normal değerlerde tutulması diyabetik nefropati riskini büyük ölçüde azaltır. Diyabetli bireylerde böbrek hastalığının (nefropati) görülme sıklığı diyabetli olmayan bireylere kıyasla daha fazladır.²

2.6.2.5. Kardiyovasküler Hastalıklar

Kardiyovasküler hastalık diyabetli bireyler arasında ölüm ve sakatlığın en yaygın nedenidir. Diyabetle birlikte görülen kardiyovasküler hastalıklar; anjina (boğaz enfeksiyonu), miyokard infarktüsü, inme, periferik damar hastalığı, konjestif kalp yetmezliği gibi özel durumları içerir. Hipertansiyon, hiperkolesterolemi, hiperglisemi ve diğer risk faktörleri kardiyovasküler komplikasyonların gelişme riskini artırır.

Kuzey Amerika, Batı Avrupa, Avustralya ve Japonya'da diyabetli insanların çoğu 50 yaşın üstündedir ve kalp rahatsızlığı açısından çok yüksek bir risk altındadır. Afrika'da ve Orta Asya'da yaşayan insanlar yaşa göre standardize edilmiş kardiyovasküler hastalık mortalitesi açısından dünyada en yüksek orana sahiptir ve yükselen ekonomik büyüme diyabet, obezite ve yüksek kolesterol oranları ile ilişkilendirilir. Ancak veri ve standardizasyon eksikliği nedeniyle diyabetli bireylerde kalp hastalığının küresel yükünü tahmin etmek zordur. Dünyada sadece 41 ülke diyabetli bireylerde kalp rahatsızlığı konusunda kaliteli verilere sahiptir ve bu ülkelerde bile kalp ve damar hastalığına sahip bireyler bulunmaktadır.²

2.6.2.6. Periodontitis

Diyabet ağız sağlığını tehdit edebilir. Glukoz kontrolü sağlanamayan diyabetli bireylerde, diş çevresindeki dokunun iltihaplanma riski artmaktadır. Bu da periodontitis diş kaybının önemli bir nedeni olup, artmış kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilidir. Diyabetli bireylerde periodontit tedavisi çok önemlidir. Çünkü ağız içi muayenesi ve optimal ağız hijyeni ile diş kaybı önlenabilir, glukoz kontrolü sağlanabilir ve bu sağlıklı bir diyeti kolaylaştırabilir.²

2.7. Diyabetin Önlenmesi ve Tedavisi

Günümüzde diyabetin önlenmesi için kullanılacak etkin bir yöntem bulunmamaktadır. Diyabetin ilaçla tedavisinin yanı sıra eğitim, yaşam tarzı değişikliği, beslenme düzeni ve egzersiz önemli bir yer tutmakta ve dünyada diyabet gelişim riskinin ve diyabetin görülme sıklığının azaltılmasında önemlidir. Diyabetin tedavisinde kan glukoz seviyesinin normal ya da normale yakın değerlerde seyretmesi, komplikasyonların önlenmesi, kilo kontrolünün sağlanması, bireyin yaşam kalitesinin iyileştirilmesi ve risk faktörlerinin kontrol altına alınması tedavide önemlidir.²

UDF'nin yapmış olduğu araştırmalara göre diyabetin önlenmesi için uygulanması gereken altı altın kural vardır.²

Bunlar;

- Dış ortamın spor için uygunluğu
- Sağlıklı gıdalara erişim
- İçilebilir suya erişim
- Okullarda sağlıklı seçimler konusunda eğitim
- Uygulanan önleme politikaları
- Sağlıklı seçimler hakkında ulaşılabilir bilgiler

2.7.1. Eğitim

Diyabetli bireylerin normal ve kaliteli bir yaşam sürdürebilmesi için en etkili tedavi yöntemlerinden biri eğitimidir. Diyabet tanısı konulduğunda bireyler diyabet merkezine sevk edilmeli ve glisemi kontrolü sağlandıktan sonra hekim, hemşire ve beslenme uzmanının vereceği eğitim programlarına dahil edilmelidir.

Diyabetin kontrolü ve tedavinin başarısı için diyabetli bireye psikososyal destek verilmesinin yanı sıra diyabetin nedenleri, beklenmeyen durumlarla başa çıkma, komplikasyonları tanıma ve önleme, ilaç/insülin kullanımı, sağlıklı beslenme, egzersizin

önemi, kan glukoz düzeylerinin takibi, tıbbi bakım ve kendi kendine kontrol gibi konularda eğitim verilmesi önemlidir.^{34, 45}

2.7.2. Egzersiz

Egzersiz diyabet kontrolünün önemli bir bölümüdür. Bireysel özelliklere uygun fiziksel aktivitelerin vücudumuzda olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir.³⁴

2.7.3. Düzenli Beslenme

Sağlıklı gıdalara erişim, düzenli ve dengeli beslenme diyabetin önlenmesinde ve yönetiminde önemli bir role sahiptir.³⁴ Tıbbi Beslenme Tedavisi (TBT) temel ilkelerin en önemli bölümünü oluşturur.¹

Diyabetli birey kan glukoz seviyesini kontrol altında tutmak için glisemik indeksin kan şekeri üzerine olan etkisini ve önemini kavramalıdır. Birey öğün atlamadan ne kadar karbonhidrat tüketmesi gerektiğini bilmelidir.⁴⁵

2.7.4. Oral Antidiyabetikler ve İncretinmimetikler

Günümüzde Tip 2 diyabetli bireyler tarafından tercih edilmesi gereken ilk etkin madde metformindir. Metformin monoterapi için en uygun oral antidiyabetiktir.⁴⁶ Tiazolidindion (glitazon), sulfonilüreler ve glinidler diyabetli bireyler tarafından kullanılan diğer oral antidiyabetik maddelerdir (ajanlardır). Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri (sitagliptin, vildagliptin, saksagliptin, linagliptin ve alogliptin) ise yeni geliştirilen antihyperglisemik ajanlardır.⁴⁶

2.7.5. İnsülin Tedavisi

İnsülin pankreasın langerhans adacıklarından salgılanan polipeptit yapıda bir hormondur. İnsülin glukozun vücut hücrelerine girmesine izin verir, böylece içeri giren glukoz enerjiye dönüştürülerek hücreler tarafından kullanılır. Tip 1 diyabetli bireyler günlük alınması gereken insülin olmadan hayatlarını devam ettiremezler. Tip 2 diyabet veya gestasyonel diyabet gelişen bazı bireyler de insülin tedavisine ihtiyaç duyarlar.² Tip

2 diyabetli birey diyabet tanısı konduktan sonraki 10 yıl içerisinde insüline gereksinim duyabilir.⁴⁵

İnsülin türleri ‘hızlı, kısa, orta ve uzun etkili insülinler’ olmak üzere etki süreleri bakımından değişkenlik gösterirler. İnsülinler ayrıca insan insülinleri ve analog insülinler olarak da gruplandırılırlar. Tedavide kullanılacak olan insülin sıklıkla deri altı enjeksiyon şeklinde insülin enjektörleri veya insülin kalemleri kullanılarak uygulanırlar.¹ Son zamanlarda yapılan çalışmalarda emülsiyon sistemleri aracılığı ile insülinin oral yoldan uygulanması amaçlanmış ve bu çalışmalar hayvan çalışmaları ile desteklenmiştir.^{47, 48}

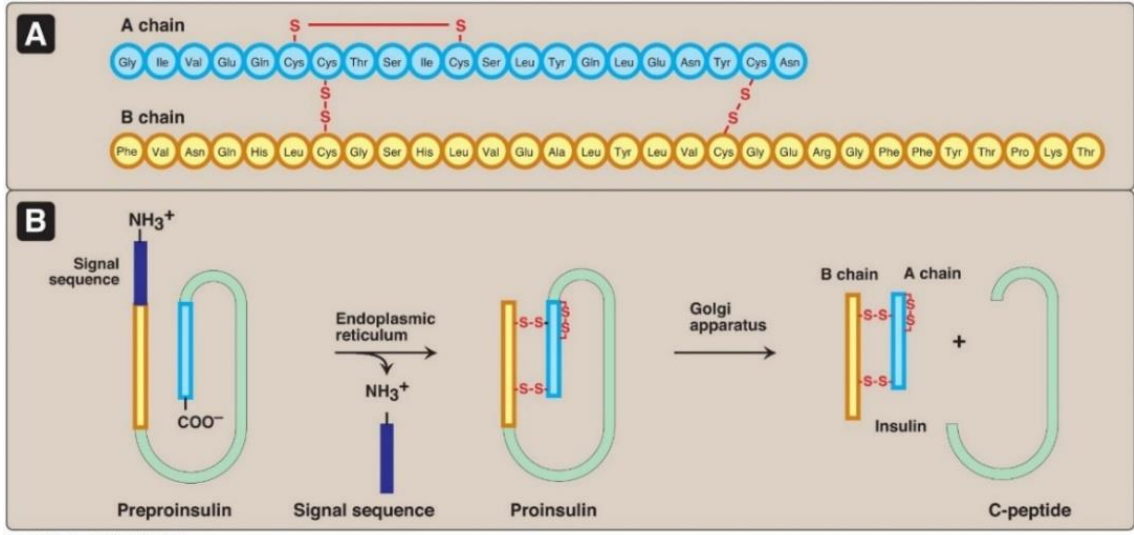
2.8. İnsülin

İnsan insülin geni, 11. kromozomun kısa olanında yer almaktadır. İnsülinin prekürsörü olan preproinsülin sinyal peptidinin ayrılmasından sonra proinsüline dönüşür, daha sonra 31 aminoasitten oluşan C-peptidi molekülden ayrılır ve geriye kalan kısım biyolojik aktiviteye sahip olan insülin molekülünü oluşturur.

İnsülinin molekül ağırlığı 5808 daltondur. İnsülin 21 aminoasitten oluşan A ve 30 aminoasitten oluşan B olmak üzere iki adet amino asit zincirinden meydana gelen toplamda 51 amino asitten oluşan bir polipeptid zinciridir.

A zincirinin 7. aminoasiti ile B zincirinin 7. aminoasiti arasında (A_7-B_7) ve A zincirinin 20. aminoasiti ile B zincirinin 19. aminoasiti arasında ($A_{20}-B_{19}$) bulunan disülfid bağlarının yanı sıra A zincirinin 6. ve 11. aminoasitlerini birbirine bağlayan bir tane de zincir içi disülfid bağı bulunmaktadır (A_6-A_{11}). Biyolojik aktivitesi henüz aydınlatılamamış olan C peptidi pankreasın beta hücrelerinden insülin ile birlikte kana sekrete edilir. Daha sonra portal dolaşıma geçerek karaciğere ulaşır ve parçalanmadan böbrekler aracılığı ile dolaşımdan uzaklaştırılır.⁴³

İnsülinin zincir yapısı (A) ve preproinsülininden insan insülininin oluşumu (B) Şekil 2.1’de gösterilmektedir.⁴²



Şekil 2.1. İnsülinin zincir yapısı (A) ve preproinsülinde oluşumu (B)⁴²

İnsan pankreası günde ortalama 40 ± 8 ünite insülin üretmektedir. Diyabetli olmayan sağlıklı bireylerde insülin fizyolojik olarak bazal ve bolüs olmak üzere iki farklı şekilde salgılanmaktadır. Bazal salgılanma egzogen uyarı olmaksızın açlıkta olan salgılanmadır. Bolüs salgılanma ise ağız yoluyla besin alındığında insülin sekresyonunun gerçekleşmesidir. İnsülin salgılanmasının en önemli uyarıyı glukozdur. İnsülin sekresyonunun diğer uyarıları; mannoz, lösin, vagal uyarılar ve sülfonilüre gibi antidiyabetik ilaçlardır. Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1), gastrik inhibitör polipeptid (GIP) ve beta adrenerjik uyarılar ve kolesistokinin, sekretin ve gastrin gibi enterik hormonlar insülin salgılanmasını artırıcı özelliğe sahiptirler. İnsülin sekresyonu; glukoz, aminoasit ve yağ asitlerinin serum konsantrasyonları tarafından belirlenmektedir. İnsülin sekresyonu ayrıca inkretinler adı verilen insülin sekrete ettirici hormonlar tarafından da düzenlenmektedir. Katekolamin ve somatostatin gibi hormonlar ve diyazoksid, fenitoin, vinblastin ve kolşisin gibi ilaçlar insülin salgılanmasını inhibe ederler. Endojen insülinin yarı ömrü 3-5 dk'dır. Karaciğer, böbrek ve plasentada yer alan insülinaz enzimleri tarafından katabolize edilmektedir.⁴³

2.9. Oksidatif Stres

Oksidatif stres serbest radikal oluşumu ve antioksidan savunma sistemi arasındaki kritik dengenin bozulması sonucu ortaya çıkan oksidatif hasarın durumunu tanımlamak için kullanılır.⁴⁹

Fizyolojik düzeylerdeki serbest radikaller endojen antioksidan sistemler tarafından temizlenir. Fakat savunma sistemleri her zaman mükemmel değildir. Oksidatif stres antioksidan savunma sistemlerinden ağır basarsa, oksidatif hasarlar meydana gelebilir.⁵⁰ Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde. Bu dengenin bozulması biyolojik sistemlerde proteinler, karbonhidratlar, lipidler ve nükleik asitler gibi moleküllere hasar verebilir ve metabolizmada olumsuz etkiler oluşturabilir. Travma, enfeksiyon, ısı yaralanması, toksinler ve aşırı egzersiz nedeniyle yaralanan dokularda kısa süreli oksidatif stres oluşabilir. Bu hasarlı dokular fagositlerde radikal üreten ksantin oksidaz, lipogenaz ve siklooksijenaz gibi enzimlerin aktivasyonunu, serbest demir ve bakır iyonlarının salıverilmesini sağlar veya oksidatif fosforilasyondaki elektron taşıma zincirinde bir bozulmaya neden olur. Böylece serbest radikal üretiminde artma olur. Oksidatif stresin fazla olması lipidlerin ve proteinlerin oksidasyonuna yol açabilir ve bu da lipid ve proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında değişikliklere neden olabilir.⁵¹

Oksidatif stresin birçok hastalığın etiyolojisinde ve patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle diyabet gibi yaşam tarzıyla ilişkili hastalıkları önlemenin yollarını belirlemek için oksidatif stres konulu çalışmalar son derece önem taşımaktadır.

2.9.1. Oksidatif Stres ve Diyabet Üzerine Etkisi

Birçok hastalıkta serbest oksijen radikal oluşumunun patolojik olarak arttığı bilinmektedir.⁵² Diyabet artmış serbest radikallerinin ve hasar görmüş antioksidan

savunma sisteminin bir göstergesidir. Artan kanıtlar diyabet ve komplikasyonlarının gelişimi ve ilerlemesinde temel bir mekanizma olan oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını göstermektedir.⁵⁰ Kan glukoz düzeyinin açlık veya tokluk sırasında normal kabul edilen değerlerin altında ve üzerinde seyretmesi (akut glisemik dalgalanmalar) oksidatif strese neden olabilir.⁵³ DM’de ortaya çıkan retinopati, nöropati ve nefropati gibi komplikasyonların ve makrovasküler hastalıkların temel nedeni hiperglisemidir. Hiperglisemi ile karakterize olan DM’nin kronik bir durum haline gelmesi, normalde metabolik substrat veya yakıt olarak kullanılan glukozun toksin bir maddeye dönüşmesine neden olur. Diyabet süresince kalıcı hiperglisemik durumlarda serbest radikal düzeylerinin yüksek olması oksidatif stresi arttırabilir.⁵⁰ Hipergliseminin günden güne kötüleşmesi, pankreasın beta hücrelerinin hasar görmesine, fonksiyonlarını yitirmesine ve daha az insülin salgılanmasına neden olur.⁵⁰

Oksidatif stress aktif olarak birçok diyabetik komplikasyonun başlamasından önce meydana gelebilecek hücre hasarına yol açabilir.⁵⁴ Hücre hasarı glukozun otooksidasyonu yolu ile veya membranlarda oksidatif hasara ya da hücrenin işlevselliğinin bozulmasına neden olan non-enzimatik protein glikasyonu aracılığı ile gerçekleşir.⁵⁵ Serbest radikaller; lipid, protein, DNA ve karbonhidratlar gibi hücresel bileşenleri etkileyerek, hücrenin yapı ve bütünlüğünü bozar.⁵⁶ Bu bozuklukların patolojik sonuçları oksidatif strese aracılık eden yollarla doğrudan ilişkilidir.⁵⁰

Diyabette LPO’nun arttığı bilinmektedir. Bunun diyabetik koşullar altında artan serbest radikal seviyesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Malondialdehid (MDA); LPO’nun bir yan ürünüdür ve diyabetik hastalarda oksidan/antioksidan dengesini belirlemede önemli bir belirteçtir. Ayrıca diyabetik bireylerde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerinin azaldığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır.⁵⁷

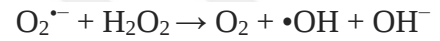
2.10. Serbest Radikaller

Atomik ya da moleküler bir yörüngede bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron bulunduran, kararsız ve oldukça reaktif atomik veya moleküler yapıdaki kimyasal bir tür olarak tanımlanırlar.⁵¹ Biyolojik sistemlerde serbest radikaller normal metabolik süreçlerin seyri sırasında oluşabileceği gibi,⁵⁸ radyasyona maruz kalma, ozon, sigara kullanımı, hava kirliliği, bazı yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) organizmada metabolize edilmesi, endüstriyel kimyasallar gibi dış kaynaklardan da oluşabilir.⁵⁹ Örneğin, stres koşulları altında oluşan aşırı miktarda süperoksit, demir içeren moleküllerden serbest demir salınımını tetikler. Serbest kalan demir Fenton Reaksiyonuna katılabilir ve hidrojen peroksitten hidroksil radikali oluşumunu kolaylaştırabilir.⁶⁰ Ayrıca süperoksit radikali Haber-Weiss reaksiyonuna da katılabilir ve hidroksil radikalini oluşturabilir.⁶¹

Fenton reaksiyonu;⁶⁰



Haber-Weiss reaksiyonu;⁶¹



Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller; hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$), süperoksit anyon radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), hipoklorit (HOCl), nitrik oksit radikali ($\text{NO}^\bullet$), peroksi nitrit radikali ($\text{ONOO}^\bullet$)'dir.⁶² Serbest radikaller hücrelerin DNA, proteinler, karbonhidratlar ve lipidler gibi biyolojik açıdan önemli moleküllerine etki ederler ve onların yapılarını bozarak hücre hasarına ve homeostatik bozulmaya neden olurlar.⁵¹

2.10.1. Serbest Radikallerin Etkileri

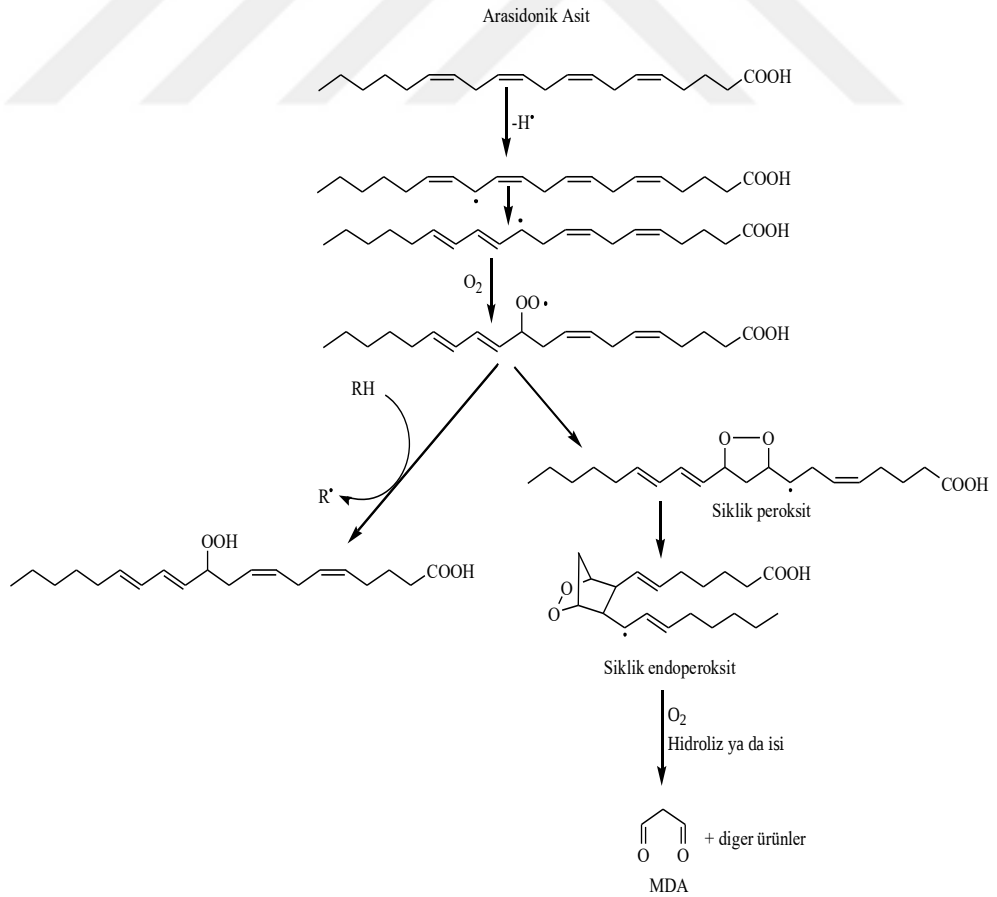
Serbest radikallerin biyolojik sistemlerde bilinen dört etkisi vardır.

2.10.1.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas biyomoleküllerdir. Bir hücrede reaktif bir türün bir metilen ($-\text{CH}_2-$) grubundan bir hidrojen atomunu

uzaklaştırması ile veya bir ya da daha fazla lipide bir reaktif türün eklenmesi ile LPO başlar. Örneğin, bir metilen grubuna bir $\text{OH}^\bullet$ radikalinin eklenmesiyle ya da bir metilen grubundan bir $\text{H}^\bullet$ parçacığının ayrılmasıyla oldukça dayanıksız olan karbon merkezli bir radikal ($^\bullet\text{CH}$) oluşur. Moleküler oksijenin karbon merkezli radikal ile reaksiyon vermesi sonucu peroksil radikali ($\text{ROO}^\bullet$) oluşur. Lipid peroksit radikalleri membran yapısında kendilerine yakın olan diğer yağ asidi yan zincirlerinden bir $\text{H}^\bullet$ parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. LPO'da kararsız olan peroksitler, MDA gibi aldehitlere ayrışır. MDA linolenik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit gibi en az iki çift bağ içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan toksik bir maddedir. MDA ölçümü ile LPO'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir.⁶³

Araşidonik asitin otooksidasyonunun öne sürülen mekanizması Şekil 2.2'de gösterilmektedir.⁶³



Şekil 2.2. Araşidonik asitin otooksidasyonunun öne sürülen mekanizması

2.10.1.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinlerin etkilenme dereceleri içerdikleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Metiyonin, sistein, arginin ve histidin gibi amino asitleri içeren proteinler oksidasyona karşı savunmasızdırlar.⁶⁴ Serbest radikal aracılı protein modifikasyonu enzim proteolizine yatkınlığı artırır. Enzimlerin peptid yapısını bozarak hücresel fonksiyonların gerçekleşmesini olumsuz yönde etkiler. Oksidatif dengenin bozulması enzimlerin aktivitelerini, reseptörleri ve membran transportunu etkileyebilir. Oksidatif olarak hasar gören protein ürünleri oldukça reaktif olan gruplar içerebilir. Bunlar hücre zarının hasar görmesine ve birçok hücresel fonksiyonların gerçekleşmemesine neden olur. Protein oksidasyonu sinyal iletim mekanizmasının, enzim aktivitesinin, ısı stabilitesinin ve proteolize yatkınlığın değişmesini etkiler.⁵¹

2.10.1.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Reaktif türlerin karbonhidratlar üzerine etkisi oldukça önemlidir. Geçiş metallerinin varlığında glukoz bir en-diol radikal anyonuna neden olur. Bu radikal moleküler oksijeni indirger ve süperokist anyonlarının oluşumuna neden olur. Süperoksit anyonu da geçiş metallerinin varlığında hidrojen peroksitle birleşerek son derece tehlikeli bir tür olan hidroksil radikalini oluşturur.⁶⁵

2.10.1.4. Serbest Radikallerin DNA ve Nükleik Asitler Üzerine Etkileri

Süperoksit radikali, nitrik oksit radikali, hidrojen peroksit ya da organik peroksitler fizyolojik olarak 2-deoksiriboz ve ribozla ya da DNA (deoksiribonükleik asit) ve RNA (ribonükleik asit) bazlarının herhangi biriyle reaksiyon vermez. Ancak DNA çok aktif reaktif türlerin saldırısına uğradıktan sonra, süperoksit anyon radikali ve nitrik oksit radikali DNA'da oluşan radikallerle reaksiyona girebilir. Reaktif türlerin saldırıları ile DNA'da oluşan hasarın biyolojik önemi hasarın içeriğine, hasarın genomdaki yerine ve hasarın giderilmesinin ne kadar hızlı olacağına bağlıdır.⁶³ Bunlara ek olarak hidroksil

radikali DNA'nın tüm bileşenleri ile reaksiyona girmektedir. Hem pürin hem de pirimidin bazlarına aynı zamanda deoksiriboz omurgasına hasar verir.⁵⁸

2.11. Antioksidanlar

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak ya da onların oluşumunu engellemek için bir dizi savunma sistemi geliştirilmiştir. Canlı organizmalardaki bu sisteme antioksidan savunma sistemi denilmektedir.⁶⁶ Antioksidanlar; radikal süpürücü, hidrojen verici, elektron verici, peroksit dekompozeri, singlet oksijen söndürücü, enzim inhibitörü, sinerjist ve metal şelatlayıcı ajanlar olarak görev yaparlar. Biyolojik sistemlerde en önemli antioksidanlar; SOD, GSH-Px, CAT, E vitamini (alfa tokoferol) ve C vitamini (askorbik asit)'dir.⁵⁴ Canlılarda antioksidan savunma sistemi enzim yapısında olanlar ve olmayanlar diye iki ana gruba ayrılır. Hem enzimatik hem de nonenzimatik antioksidanlar, ROS'u detoksifiye etmek için hücre içi ve hücre dışı ortamlarda bulunurlar. Enzim yapısında olan antioksidanlar; SOD, CAT, glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidazlar (GSH-Px) ve glutatyon s-tranferaz (GST)'dir.⁶⁷ Enzim yapısında olmayan antioksidanlara ise A, C ve E vitaminleri örnek olarak verilebilir.⁶⁸ Ayrıca enzim yapısında olmayan antioksidanlardan biri de GSH'dir.⁵⁷

2.12. Botanik Bilgiler

2.12.1. Zeytin Yaprağı (*Olea europae* L.)

Dünyanın birçok bölgesinde yetişen zeytin uzun ömürlü ve her mevsim yeşil kalabilen kısa ve bodur bir ağaçtır. Bu bitki üst yüzü tozlu-yeşil alt yüzü ise gümüş-beyazı renkte olan dar ve uzun yapraklara sahiptir.⁶⁹ Dünyanın tropikal ve sıcak ılıman bölgelerinde yetişen, bilinen en eski bitki türlerinden biridir. Zeytin ağacı genellikle Doğu Akdeniz havzasının kıyı bölgelerinde, Güney Doğu Avrupa, Batı Asya, Arap Yarımadası, Hindistan ve Asya'nın komşu kıyı bölgeleri ile Afrika ve İran'ın kuzey bölgelerinde

yetişmektedir.^{70, 71} Onun yapraklı dallarının geçmişte barış ve huzurun geleneksel bir sembolü olduğu bilinmektedir.⁹ Ayrıca zeytin yapraklarının oral yoldan kullanımı ile mide ve bağırsak hastalıklarını, astımı, ishal ve idrar yolu enfeksiyonlarını tedavi etmek, yüksek kan basıncını kontrol altına almak ve çığneme yöntemi ile ağız temizliğini sağlamak için kullanıldığı bilinmektedir.⁷²

Tablo 2.10. *Olea europae L.*'nin bilimsel sınıflandırılması ve binominal adı

Alem	: Plantae
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Takım	: Lamiales
Familya	: Oleaceae
Cins	: Olea
Tür	: Olea Europae
Binominal adı	: <i>Olea europaea L.</i>

2.12.2. *Olea europae L.*'nin Fenolik Madde İçeriği

Fenolik bileşenler metal iyonlarını kenetleme ve serbest radikalleri yakalama gibi fonksiyonel özellikler taşıyan ikincil metabolitlerdir. Bu bileşikler radikallerle hızla reaksiyona girerek fenoksi radikalleri oluştururlar. Oluşan fenoksi radikali, nispeten kararlıdır ve radikalik reaksiyonlar göstermez.⁷³ Zeytin yaprakları fenolik bileşikler gibi yüksek katma değerli ürünlerin yararlı bir kaynağı olarak kullanılabilen ucuz bir hammadde olarak düşünölmektedir.⁷⁴ Zeytin yapraklarında oleuropeosidler (oleuropein ve verbaskozit), flavonlar (luteolin-7-glikozit, apigenin-7-glikozit, diosmetin-7-glikozit, luteolin ve diosmetin), flavonoller (rutin), flavan-3-ols (kateşin) ve ikame fenoller (tirosol, hidroksitirosol, vanilin, vanilik asit ve kafeik asit) gibi beş temel fenolik grup bulunmaktadır.^{18, 75-77} Sırasıyla oleuropein, hidroksitirosol, apigenin-7-glikozit, luteolin-7-glikozit ve verbaskozit zeytin yaprağı ekstralarında en bol bulunan fenolik

bileşiklerdir.⁷⁸ Zeytin bitkisinin türü ve/veya bulunduğu coğrafi konumuna göre içerdiği fenolik bileşikler bitkinin tüm bölümlerinde farklı oranlarda bulunmaktadır. Zeytin yaprakları en yüksek antioksidan aktiviteye sahip doğal ürünlerdir^{3, 6} ve içerdikleri fenolik bileşenler bakımından sağlıklı bir diyetin vazgeçilmez bir unsurudur.⁷ Zeytin yaprağı başlıca flavonoidler, sekoiridoitler ve triterpenler olmak üzere üç farklı bileşik içerir. Zeytin yaprağının en etkili aktif bileşeni sekoiridoit grubunun doğal bir ürünü olan oleuropeindir. Zeytin yaprağı ekstraktında bulunan fenolik maddeler ve miktarları Tablo 2.11’de gösterilmiştir.⁷⁸

Tablo 2.11. Zeytin yaprağı ekstraktında bulunan fenolik maddelerin miktarları⁷⁸

Fenolik Madde	Kuru ağırlık (%)	Fenolik Madde	Kuru ağırlık (%)
Oleuropein	24.54	Diosmetin-7-glikozit	0.54
Hidroksitirosol	1.46	Kafeik asit	0.34
Luteolin-7-glikozit	1.38	Luteolin	0.21
Apigenin-7-glikozit	1.37	Rutin	0.05
Verbaskozit	1.11	Diosmetin	0.05
Tirosol	0.71	Vanilin	0.05
Vanilik asit	0.63	Kateşin	0.04

Zeytin yapraklarında bulunan çok sayıda fenolik bileşik birçok araştırmacının ilgisini çekmekte ve yapılan çalışmalarda yüksek bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmektedir.^{3, 78} Zeytin yapraklarının güçlü antioksidan etkisi zeytin yaprağının yoğun polifenolik içeriğine ve ana bileşeni olan oleuropeine bağlı olabilir.^{20, 79}

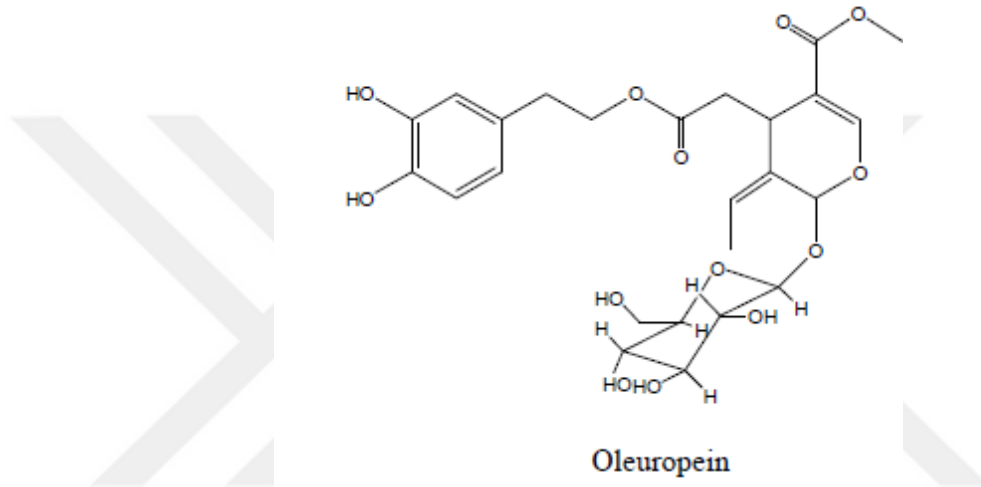
2.12.2.1. Oleuropein

Oleuropein birçok bitkinin yanı sıra *Oleaceae*, *Gentianaceae* ve *Cornaleae* familyalarında bol miktarda bulunan sekoiridoit grubu bir bileşiktir.¹⁵ Zeytin bitkisinin tamamında özellikle zeytin yapraklarında bol miktarda bulunan doğal bir fenolik

bileşiktir.⁸⁰ Oleuropein zeytin yapraklarının dışında argan yağı ve *Oleaceae* familyasından *Ligustrum* cinsini oluşturan çalı görünümünde küçük bir ağaç olan kurtbağrı yapraklarında da bulunmaktadır.⁸¹

Oleuropein ilk kez Bourquelot ve Vintilesco tarafından 1908 yılında keşfedildi ve yapısı Pannizzi, Scarpati ve Oriente tarafından 1960 yılında tanımlandı.^{78, 82}

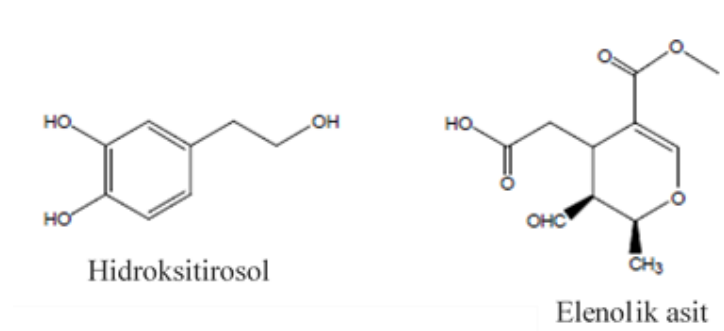
Oleuropein molekülünün kimyasal yapısı Şekil 2.3'te gösterilmiştir.⁸³



Şekil 2.3. Oleuropein molekülünün kimyasal yapısı⁸³

Oleuropein hidrofilik ve hidrofobik kısımların bir arada bulunduğu fenolik bir moleküldür. Hidrofilik baş kısmı glukoz parçasından oluşurken, hidrofobik kuyruk kısmı oleuropein aglikan parçasını içermektedir. Ayrıca yapısında bir de ester bağı bulunmaktadır.²⁴ Oleuropein ayrıca oleaceae familyasındaki sekoiridoit glikozitlerinde yaygın olarak görülen oleosidik bir iskelete sahiptir ve hidroksitirosolün bir esteridir. Yapısında elenolik asit ve glukoz kalıntılarının kombinasyonu da mevcuttur.⁸⁴ Oleuropein sindirim sırasında oksidasyon ve enzimatik reaksiyonlara duyarlıdır. Oleuropein beta glikozidaz enzim etkisiyle glukoz ve oleuropein aglikana hidroliz olduktan sonra esteraz enziminin etkisiyle hidroksitirosol ve elenolik asit gibi biyoaktif bileşenlere parçalanır.^{83, 85, 86}

Hidroksitirosol ve elenolik asit moleküllerinin kimyasal yapısı Şekil 2.4’de gösterilmiştir.⁸³



Şekil 2.4. Hidroksitirosol ve elenolik asit moleküllerinin kimyasal yapısı⁸³

Zeytin meyvesinin ilk dönemlerinde meyvenin karakteristik acı tadından sorumlu olan oleuropein meyveye acı-buruk tat veren bir maddedir.^{87, 88} İşlem görmemiş zeytin meyvesinde ve yaprağında oleuropein miktarı olgunlaşma süresince azalmaktadır. Olgunlaşmanın ilk evrelerinde oleuropein miktarı oldukça fazladır ve meyve kuru ağırlığının yaklaşık %14’üne kadar ulaşmaktadır. Olgunlaşmanın ilerlemesi ile oleuropein miktarı azalmaktadır.⁸⁹ Zeytin meyvesinin olgunlaşma sürecinin ilk evrelerinde oldukça yüksek olan oleuropein miktarı, yeşil olgunlaşma döneminde azalmakta ve siyah olgunlaşma döneminde özellikle eylül-kasım aylarında asgari seviyelere ulaşmaktadır.^{88, 89}

Oleuropeinin kardiyoprotektif,⁹⁰ nöroprotektif,⁹⁰ hepatoprotektif,⁹¹ antibakteriyel,⁹² antienflamatuar,⁹³ antidiabetik³ ve antikanser⁹⁴ gibi birçok etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir. Oleuropein ve onun metabolit ürünü olan hidroksitirosol antoksidan aktiviteleri için ihtiyaç duyulan yapısal gereksinimlere sahiptirler.⁹⁵ Oleuropein ve hidroksitirosolün antioksidan aktivitesi in vivo^{3, 16} ve in vitro^{10, 96, 97} olarak incelenmiş ve birçok araştırmacıya ilham kaynağı olmuştur. Bu biyoaktif moleküller nötrofillerde solunumsal patlama ile oluşan ve hipoklorik asitten türeyen radikallerin inhibüsyonunu sağlar ve aynı zamanda süperoksit anyonlarının oluşumuna ve zararlı

etkilerine karşı direnç gösterirler.

Oleuropein serbest radikal oluşum reaksiyonlarını katalizleyen demir ve bakır gibi iyonları kenetleyerek serbest radikal oluşumunu engelleme yeteneğine sahiptir.⁹⁸ Onun antioksidan potansiyeli esas olarak hidroksil grubunun serbest hidrojeni ile fenoksil radikalleri arasında bir molekül içi hidrojen bağı oluşturulması yolu ile radikal kararlılığı artırma kabiliyeti ile ilgilidir.⁷³ Ayrıca oleuropeinin hepatositlerdeki hücre dışı sinyalini düzenleyen enzimin (kinaz) aktivitesini düşürerek serbest yağ asidine bağlı lipogenezi azalttığı gösterilmiştir.⁹⁹

Oleuropein doğrudan alındığında ağızda hoş olmayan acı bir tat bırakabilir.⁸⁷ Ayrıca oral yoldan alınan oleuropeinin miktarı ince bağırsakta kaldığı sürece azalabilir ve gastro-intestinal yolda zayıf bir biyoyararlanım gösterebilir.²³ Bu yüzden oleuropein gibi tadı hoş olmayan maddelerin oral yolla kullanımlarında istenmeyen tat ve kokuları maskelemek ve bu maddelerin biyoyararlanımını ve emilimini artırmak için emülsiyon sistemlerine ihtiyaç olduğu bildirilmektedir.²⁴

2.13. Emülsiyon

Emülsiyonlar, birbiriyle karışmayan iki sıvıdan birinin diğeri içerisinde dağıtılmasıyla oluşan homojen görünümlü heterojen sistemlerdir.¹⁰⁰⁻¹⁰⁴ Bu sistemler temel olarak biri hidrofilik diğeri lipofilik özellikte olan iki sıvı fazdan ve bu fazlar arasındaki yüzey gerilimini düşüren, arayüzeyde film oluşturan emülgatörden oluşmaktadır (Şekil 2.5). Dağılan damlacıkları oluşturan sıvı faz iç faz, bu damlacıkları taşıyan sıvı faz ise dış faz olarak adlandırılmaktadır. İç fazın dış faz içinde damlacıklar halinde homojen olarak dağıtılması emülgatörler yardımıyla sağlanabilmektedir. Ayrıca, emülsiyonların fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kararlılığını artırmak üzere koruyucu maddeler, kullanım amacına göre tat ve koku düzenleyiciler de ilave edilebilmektedir.¹⁰² Emülsiyonlar oral, topikal, parenteral vb. yollarla uygulanabilmektedir.¹⁰⁰⁻¹⁰⁴

2.13.1. Emülsiyonların Üstünlükleri

Emülsiyonların üstünlükleri;^{100, 102}

- Kötü tat ve kokuya sahip etkin maddelerin oral yolla kullanımlarında istenmeyen tat ve kokular maskelenebilir. Bu şekilde, hint yağı, balık yağı ve yağda çözünen vitaminler (A, E, D, K) yağ/su tipi emülsiyon şeklinde hazırlanarak oral yolla alımları kolaylaştırılabilir.
- Oral yolla kullanımlarında; etkin maddelerin katı ilaç şekillerine göre emilimleri artırılabilir.
- Peptit-protein yapısındaki maddelerin, heparin gibi makromoleküllerin gastrointestinal sistemden emilimleri artırılabilir.
- Geçimsiz maddeleri aynı taşıyıcı sistem içinde taşımak
- Etkin maddenin kimyasal stabilitesi çözeltilere kıyasla artırılabilir.
- Topikal kullanımda ise cilt üzerinde ince bir tabaka oluştururlar ve kolayca ciltten temizlenirler.
- Besleyici emülsiyon formülasyonları i.v. yolla kullanılmak üzere hazırlanmaktadır.
- Teşhis amaçlı yapılan muayenelerde radyoopak emülsiyonlar kullanılabilir.

2.13.2. Emülsiyonların Sakıncaları

Emülsiyonların sakıncaları;¹⁰⁰

- Emülsiyonlar termodinamik açıdan stabil olmayan sistemlerdir.
- Emülsiyon hazırlanırken sıcaklık koşullarına dikkat edilmezse, emülgatör uygun tip ve konsantrasyonda kullanılmazsa faz ayrımı meydana gelebilir.

Emülsiyonlar termodinamik açıdan dayanıksız sistemlerdir. Fiziksel olarak kararlı olan bir emülsiyonda raf ömrü boyunca faz ayrımı olmamalıdır. Emülsiyonlar çalkalama ile eski haline dönebilmeli ve kolaylıkla uygulanabilmelidir.¹⁰⁰

Emülsiyonlarda;

- Faz dönüşümü
- Flokülasyon
- Kremalaşma
- Koalesans (biraraya gelme, yığılma)
- Faz ayrışması gibi kararsızlık durumları görülebilir.^{100, 104}

2.13.3. Emülgatörler

Emülgatör seçimi başarılı bir emülsiyon hazırlanmasındaki en önemli parametredir. Emülgatör seçiminde, emülsiyonun raf ömrü, tipi ve emülgatörün maliyeti dikkate alınır.

Emülgatörün taşıması gereken özellikler:¹⁰⁰

- Polar ve polar olmayan uçlara sahip olmalıdır
- Yüzey etkin olmalı ve yüzey/arayüzey gerilimini düşürmelidir.
- Özellikle oral kullanımlar için toksik olmamasına özen gösterilmelidir
- Düşük miktarlarda bile emülsiyon oluşturabilmelidir
- Yüzeylerarası film oluşturmali ve damlacıkların bir araya gelmesini engellemelidir.

2.13.3.1. Emülgatörlerin Sınıflandırılması

İyonik yüklerine göre:

- Katyonik
- Anyonik
- Noniyonik
- Amfoterik olarak

Arayüzeyde oluşturdukları film tipine göre ise:

- Monomoleküler film oluşturan

- Multimoleküler film oluşturan
- Katı partiküler film oluşturan emülgatörler şeklinde sınıflandırılabilirler. Ayrıca, kimyasal yapılarına göre de sınıflandırılabilirler.¹⁰⁰

Noniyonik yüzey aktif maddeler, sulu ortamda iyonize olmayan emülgatörlerdir. Polihidrik alkollerle uzun zincirli yağ asitlerinin esterleri şeklindedirler veya bunların etilen oksitle esterleridir. Suda iyonize olmazlar. Sorbitan yağ asidi esterleri (“Span”lar) ve polioksietilen sorbitan yağ asidi esterleri (“Tween”ler) yaygın olarak kullanılan emülgatörlerdir. Ayrıca, poloksamerler (polioksietilen/polioksipropilen blok kopolimerler) de son yıllarda yoğun olarak kullanılmaktadır.¹⁰⁰

2.13.4. Emülsiyonların Hazırlanması

Stabil bir emülsiyon hazırlamanın en önemli basamağı emülsifikasyon işlemidir. Bu işlemin başarılabilmesi için doğru emülgatör/emülgatör karışımı ve uygun emülgatör konsantrasyonunun seçilmesi çok önemlidir.¹⁰⁰ Hazırlama sırasında etkili olan diğer faktörler ise sıcaklık, karıştırma şiddeti ve süresi, iki fazın birbirine ilave edilme sırasıdır.

Emülsiyonların hazırlanması için kullanılan yöntemler:¹⁰²

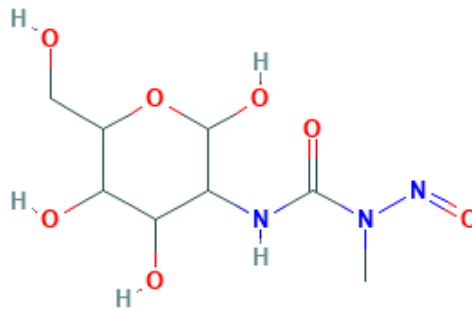
- Kuru zank yöntemi (Kontinental yöntem): Kuru zank yönteminde, emülgatör çözünmediği faza ilave edilir, hızlıca karıştırılır ve primer emülsiyon suyu ilave edilerek aynı yönde çekirdek emülsiyon oluşumunu belirten karakteristik ses duyuluncaya kadar sürekli karıştırılır. Oluşan çekirdek emülsiyonun üzerine geri kalan sulu kısım ilave edilerek emülsiyon hazırlanır.
- Yaş zank yöntemi (İngiliz yöntemi): Emülgatör çözündüğü fazın bir kısmına ilave edilir ve üzerine diğer faz eklenerek çekirdek emülsiyon oluşturulur ve ilk fazın geri kalan kısmı ilave edilerek emülsiyon hazırlanır.
- Şişe yöntemi: Uçucu yağlar yağ fazını oluşturuyorsa şişe yöntemi tercih edilir ve emülgatör hazırlama sırasında oluşur. Küçük damlacık boyutuna sahip

emülsiyonlar elde edilir.

- Eritme yöntemi (mum, yarı katı ve katı maddeleri içeriyorsa): Yağ fazı, erime noktası en yüksek olan maddenin erime noktasının 5-10 °C yukarısına kadar ısıtılır. Su fazı da aynı sıcaklığa getirilir. Daha sonra iki faz karıştırılarak emülsiyon hazırlanır.
- Modern yöntemler (emülsiyonların üretiminde farklı cihazlar/aletlerden [mekanik karıştırıcılar (pervane, türbin tipi karıştırıcılar), homojenizatörler, kolloit değirmenleri, ultrasonik aletler] faydalanılmaktadır.^{100, 102}) şeklinde sınıflandırılabilir.

2.14. Deneysel Diyabet Modelleri

Deneysel diyabet modeli çeşitli hayvan türlerinde özellikle fare, sıçan ve tavşan gibi kemirgen hayvanlarda cerrahi, farmakolojik ve genetik yöntemlerle oluşturulabilir. Bunlar arasında en sık kullanılan yöntem STZ ve alloxan gibi kimyasal ajanların kullanıldığı farmakolojik yöntemdir. STZ sıçanlarda diyabet modeli oluşturmak amacıyla en çok kullanılan kimyasaldır. STZ ($C_8H_{15}N_3O_7$) *Streptomyces achromogenes* tarafından üretilen bir antibiyotiktir. Antineoplastik bir ajan olarak ve deney hayvanlarında diyabeti indüklemek için kullanılan STZ 2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrozoüreido)-D-Glukopiranoz yapısındadır ve ışıktan korunmalıdır. STZ beyaz-açık sarı (kirli beyaz) renkte bir tozdur. Erime noktası 115 °C, molekül ağırlığı 265.222 g/mol'dür.¹⁰⁵ STZ'nin yapısı Şekil 2.6'da gösterilmiştir.¹⁰⁵



Şekil 2.6. STZ'nin yapısı

Yapısında bulunan nitrozürenin genel lipofilik doğasından farklı olarak, glukoza benzer yapısının olması nedeniyle STZ hidrofilik bir yapıya sahiptir. STZ'nin hidrofilik doğası onun hidrofobik membran yapısından geçmesine izin vermez.¹⁰⁶ Onun 2-deoksi glukoz parçası glukoz taşıyıcısı-2 (GLUT-2) vasıtasıyla pankreasın β hücrelerine seçici girişine izin verir.¹⁰⁷ Daha sonra kendiliğinden izosiyanat ve metildiazohidroksit moleküllerine dekompoze olur.^{108, 109} Metildiazohidroksit reaktif karbonyum iyonu (CH_3^+) oluşturmak üzere parçalanır. Karbonyum iyonunun DNA iskeletindeki fosfatlara bağlanması sonucu DNA alkilasyonuna ve beta hücrelerinin geri dönüşümsüz nekrozuna neden olur.¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Oluşan DNA hasarı ADP-ribozilasyonunun aktivasyonuna neden olarak, poly ADP-ribozilasyonu hücrel NAD ve ATP yıkımına yol açar. Yükselmiş ATP defosforilasyonu, ksantin oksidaz için substrat vererek süperoksit radikallerinin oluşumuna yol açar. Oluşan süperoksit radikalleri SOD varlığında H_2O_2 'ye dönüşür ve daha sonra hidroksil radikalleri meydana gelir.¹⁰⁷ Sonuç olarak; STZ'nin diyabetojenik etkisini β hücrelerinde reaktif oksijen radikallerinin üretimine neden olarak gösterdiği bilinmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hayvanlar ve Diyet

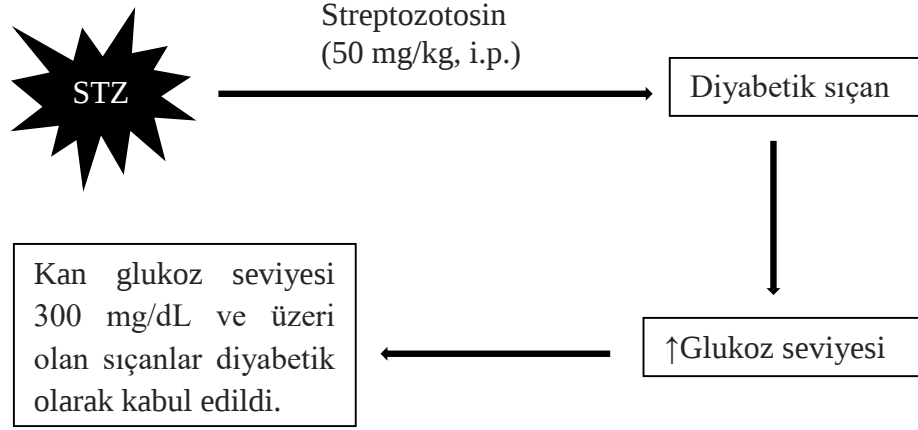
Çalışmamızda kullanılan ağırlıkları yaklaşık 200-210 g arasında değişen *Sprague Dawley* ırkı erkek sıçanlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM)'nden temin edildi. Hayvan deneyleri ve bakımları bu merkezde yapıldı. Sınırsız yem (standart diet) ve içme suyu (musluk suyu) verilen sıçanlar deney boyunca normal oda sıcaklığında (22 ± 2 °C), 12 saat aydınlık/karanlık bir ortamda kendilerine ait kafeslerde gruplar halinde barındırıldı. Tüm deney süresince her hayvan sadece bir kez kullanıldı. Çalışma Ulusal Sağlık Enstitüsü Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı için önerilen klavuz ilkeleri doğrultusunda yürütülmüştür. Bu çalışmanın tüm aşamalarının Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 27.03.2015 tarih ve 36643897-79 sayılı karar ile etik kurallarına uygun olduğu onaylandı.

3.2. STZ ile Diyabet Modeli Oluşturma

STZ enjeksiyonundan önce gruplar halinde barındırılan hayvanlara sadece içme suyu verilerek, 12 saat boyunca aç bırakıldı. 12 saat sonra 10 mM sitrat tamponu (pH: 4.5) içinde taze hazırlanan 50 mg/kg STZ monohidrat çözeltisi buzda bekletildi ve aç bırakılan sıçanlara tek doz (i.p.) olarak kasıktan uygulandı.

STZ uygulamasını ile pankreastan yoğun bir şekilde salgılanan insülin hormonu sıçanlarda öldürücü hipoglisemi oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Bu olasılığını önlemek amacıyla STZ uygulamasından 4-6 saat sonra sıçanların içme suyuna %5'lik $C_6H_{12}O_6$ çözeltisi katıldı ve bu içme suyu 24 saat süreyle sıçanlara verildi. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örnekleri Optium Plus marka glukometre ile sıçanların kan glukoz seviyeleri ölçüldü. Kan glukoz seviyeleri 300 mg/dL ve üzerinde olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi.

STZ ile diyabet modeli oluşturma şeması şekil 3.1’de gşsterilmektedir.¹¹¹



şekil 3.1. Streptozotosin ile diyabet modeli oluřturma¹¹¹

3.3. Zeytin Yapradından Etil Alkol Ekstresinin Hazırlanması

Ülkemizin Doğu Karadeniz Bşlgesindeki Artvin ilinin Yusufeli ilçesinden eylül ayında toplanan zeytin yaprakları temizlendi ve oda sıcaklığında kurutuldu. Kuru yapraklar sıvı azot ile havanda öğütülerek toz haline getirildi. Daha sonra %80’lik etil alkolde 50 °C’de Soxhlet aparatrde şalkalanarak 72 saat boyunca ekstrakte edildi. Her 10 saatte bir ekstre szld ve şzc evaparatrde buharlaştırılarak uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre deneysel kullanım için buzdolabında ± 4 °C’de muhafaza edildi.

Zeytin yaprağından etil alkol ekstresinin hazırlanması Şekil 3.2’de gösterilmektedir.¹¹²



Şekil 3.2. Zeytin yaprağından etanol ekstresinin hazırlanması¹¹²

3.4. *Olea europaea* L.’den Oleuropeinin İzolasyonu

Olea europaea L.’den elde edilen etanol ekstresini (30 g) fraksiyonlarına ayırmak üzere silika jel kolon kromatografisi yapıldı. Bu amaçla 300 g silika jel (Kiesel gel 60, 70-230 mesh, Merck) CH₂Cl₂:MeOH (90:10) çözücü sisteminde süspansiyon haline getirildikten sonra, 4x65 cm ebatlarındaki kolona tatbik edildi. Kuru tatbik yapılmak üzere 30 g ekstre 30 g silika jele emdirildikten sonra kolona yüklendi ve kolon CH₂Cl₂:MeOH (90:10) çözücü sistemiyle elüe edildi. Fraksiyonlar 50 mL hacimler halinde toplanarak, ince tabaka kromatografisi (İTK) ile CH₂Cl₂:MeOH (90:10) çözücü sisteminde kontrol edildi. İTK’da aynı lekeleri içeren fraksiyonlar birleştirildikten sonra, fraksiyonlama işlemi sonlandırıldı. İTK ile yapılan kontrollerde 28-53. fraksiyonlarda temiz bir madde olduğu anlaşıldı, OE-1 (7 g) olarak kodlandı.

3.4.1. Oleuropeinin UV-Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini

Oleuropeinin metanolde stok çözeltisi (200 µg/mL) hazırlanmış ve bu çözeltiden hareketle 5, 10 ve 25 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan seyreltik çözeltilerinin UV spektrumları 200-400 nm dalga boyu aralığında taranmıştır. Maksimum absorbansın elde edildiği dalga boyu (λ_{max}) tespit edilmiştir. Deney süresince, oleuropeinin ışıktan bozulmasını önlemek için karanlık ortamda çalışılmıştır.

3.4.2. Oleuropeine Ait Kalibrasyon Doğrusunun Elde Edilmesi

Oleuropeinin kalibrasyon doğrusunu hazırlamak üzere oleuropeinin metanolde 200 µg/mL’lik stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden hareketle uygun seyreltmeler yapılarak 6 farklı konsantrasyonda (8, 12, 16, 20, 24, 28 µg/mL) ve her bir konsantrasyon için 6’şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanarak absorbansları ölçülmüştür. 6 farklı konsantrasyon ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri grafiğe geçirilmiş ve regresyon analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda kalibrasyon doğrusu ve doğru denklemi elde edilmiştir.

3.4.3. Analitik Yöntem Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu, etkin madde miktar tayininin sonuçlarının güvenilirliği açısından önemlidir ve yöntemin doğru, özgün ve tekrarlanabilir olduğunu garanti altına alır.¹¹³

Doğrusallık

Analizi yapılan etkin madde konsantrasyonları ile elde edilen deney sonuçları arasında doğrusal bir ilişkinin olduğu aralığı saptamak amacıyla gerçekleştirilir.^{113, 114} Oleuropeinin metanoldeki stok çözeltisinden (200 µg/mL) hareketle uygun seyreltmeler yapılarak 6 farklı konsantrasyonda (8, 12, 16, 20, 24, 28 µg/mL) ve her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin absorpsanları ölçülmüştür. Ölçülen absorpsan değerleri ilgili çözelti konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilerek doğru denklemi elde edilmiştir.

Doğruluk ve Kesinlik

Analiz sonuçlarının, gerçek değerlere yakınlık derecesini ortaya koymak ve yöntemin tekrarlanabilirlik derecesini saptamak üzere sırasıyla doğruluk ve kesinlik parametreleri gün içi (intra-assay) ve günler arası (inter-assay) olmak üzere değerlendirilir.^{113, 114} Doğruluğu değerlendirmek üzere aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır.¹¹⁴

$$\text{Doğruluk} = \left(\frac{a-b}{b} \right) * 100$$

a=Analiz sonucu edilen ortalama konsantrasyon (µg/mL)

b=Hazırlanan konsantrasyon (µg/mL)

Şekil 3.4. Doğruluğu hesaplamak için kullanılan eşitlik

Gün içi kesinlik ve doğruluğunun tespiti için kalibrasyon doğrusu aralığında yer alan 3 farklı konsantrasyon (10, 18 ve 26 µg/mL metanol içerisinde hazırlanmış)

seçilmiştir. Her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmış ve aynı gün içinde arka arkaya ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Günler arası kesinlik ve doğruluğun tespiti için de yine aynı konsantrasyonlar seçilerek her bir konsantrasyon için 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmış ve birbirini takip eden 3 gün boyunca absorbansları ölçülmüştür.

Yöntemin kesinliğinin tespiti için, aynı konsantrasyondaki standart çözeltiler için ortalama (X), standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) hesaplanmıştır.

Saptama Sınırı (LOD)

Analizi gerçekleştirilen maddenin, geliştirilen analitik yöntem ile saptanabilecek en küçük konsantrasyonu olarak ifade edilir.¹¹⁵ Düşük konsantrasyonlardaki bir dizi örneğin analiz edilmesiyle belirlenmektedir. Bulunan sonuçların standart sapması ile kalibrasyon doğrusu eğiminin oranlanması ve bu oranın 3.3 ile çarpılmasıyla hesaplanır.

Miktar Tayini Sınırı (LOQ)

Geliştirilen analitik yöntem ile belirli bir doğruluk ve kesinlik sağlanarak tayin edilebilecek en düşük analit miktarıdır.¹¹⁵ Bu amaçla, düşük konsantrasyonlardaki bir dizi örneğin analiz edilmesi ve elde edilen sonuçların standart sapması ile kalibrasyon doğrusu eğiminin oranlanması ve bu oranın 10 ile çarpılmasıyla hesaplanır.

3.4.4. Oleuropeinin Çözünürlük Çalışması

Oleuropeinin çözünürlük çalışması kapsamında; su, ayçiçek yağı, zeytin yağı, propilen glikol, etil oleat, PEG 400, Tween 80 ve Span 80 kullanılmıştır. Her numune için bir flakon içerisine ilgili çözücünden 5 mL konulmuş ve üzerine ayrı olarak tartılmış 100'er mg oleuropein ilave edilmiştir. 600 rpm'de 72 saat karıştırma uygulanmıştır. Karıştırma işlemi sonunda her bir örnek 3500 rpm'de 30 dk santrifüjlenip 0.45 µm'lik filtrelerden süzölmüş ve süzöntülerin absorbansları ölçölerek oleuropein çözünürlükleri karşılaştırılmıştır.

3.5. Emülsiyonların Hazırlanması

3.5.1. Oleuropein İçermeyen Emülsiyonların (BE) Hazırlanması

Emülsiyon Tablo 3.1’de verilen formülasyon kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlama sulu faz, yağ fazı üzerine çok noktalı manyetik karıştırıcı üzerinde 600 rpm hızda karıştırma işlemi devam ederken damla damla olacak şekilde ilave edilmiştir. Damlatma sonrası 1 saat daha karıştırılarak emülsiyon hazırlanmıştır.

Tablo 3.1. Boş emülsiyonun hazırlanması

Bileşen	Kullanılan Kimyasallar	Miktar
Yağ	Zeytin yağı	180 mg
Emülgatör	Tween 80	648 mg
Yardımcı Emülgatör	PEG 400	72 mg
Su	Saf su (pH 5’e ayarlanmış)	17.4 g

3.5.2. Oleuropein/Ekstre İçeren Emülsiyonların Hazırlanması

Tablo 3.1’de verilen formülasyona (su fazına) oleuropein [2 mL’inde 30 mg (OE-1) ve 45 mg olacak (OE-2) şekilde] veya ekstre (2 mL’inde 66 mg (EE-1) ve 100 mg (EE-2) olacak şekilde] eklenmiştir. Hazırlama işlemi Bölüm 3.5.1’de olduğu gibi tekrarlanmıştır. Oleuropein içeren emülsiyonlar OE-1 ve OE-2; ekstre içeren emülsiyonlar ise EE-1 ve EE-2 olarak ifade edilmiştir.

3.5.3. Emülsiyonların Görüntülerinin Alınması ve Damlacık Büyüklüklerinin Tespiti

Hazırlanan emülsiyonların görüntüleri optik mikroskop kullanılarak alınmıştır. Taze hazırlanan emülsiyonların damlacık büyüklüğü saf su ile seyreltilmeleri sonrası 25 °C’de Mastersizer 2000 (Malvern Ins. Ltd. UK) cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

3.6. Deneysel Tasarım

Deneyde *Sprague Dawley* ırkı erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanların bir kısmı ön çalışma için kullanıldı, diğerleri ise her grupta 9 denek olacak şekilde 15 gruba ayrıldı.

Gruplar (Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları için);

Grup 1: SK: Sağlıklı kontrol grubu

Grup 2: DK: Diyabetik kontrol grubu

Grup 3: EK: Diyabetik sıçan + Boş emülsiyon

Grup 4: OLK: Sağlıklı sıçan + Oleuropein (225 mg/kg)

Grup 5: DD-OLE: Diyabetik sıçan + Oleuropein içeren emülsiyon (150 mg/kg)

Grup 6: YD-OLE: Diyabetik sıçan + Oleuropein içeren emülsiyon (225 mg/kg)

Grup 7: DD-OL: Diyabetik sıçan + Oleuropein (150 mg/kg)

Grup 8: YD-OL: Diyabetik sıçan + Oleuropein (225 mg/kg)

Gruplar (Ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları için);

Grup 9: SK: Sağlıklı kontrol grubu

Grup 10: DK: Diyabetik kontrol grubu

Grup 11: EK: Diyabetik sıçan + Boş emülsiyon

Grup 12: DD-EE: Diyabetik sıçan + Ekstre içeren emülsiyon (330 mg/kg)

Grup 13: YD-EE: Diyabetik sıçan + Ekstre içeren emülsiyon (500 mg/kg)

Grup 14: DD-E: Diyabetik sıçan + Ekstre (330 mg/kg)

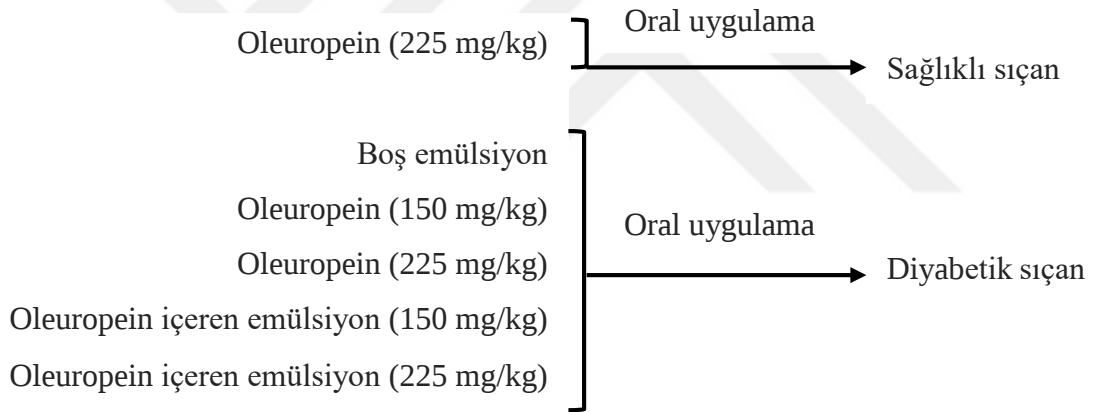
Grup 15: YD-E: Diyabetik sıçan + Ekstre (500 mg/kg)

3.7. Ekstre, Oleuropein ve Formülasyonların Uygulanması

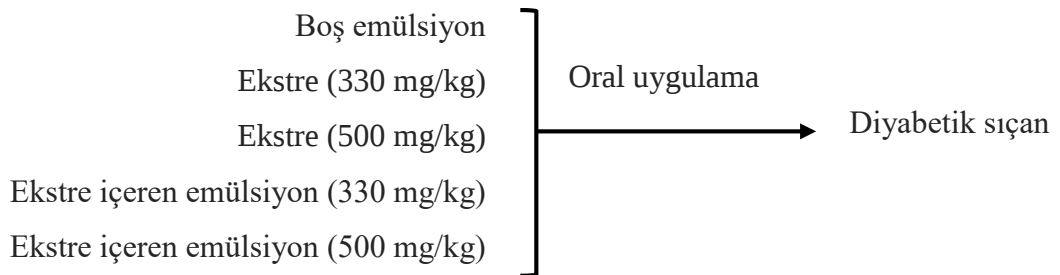
Sıçanların vücut ağırlıkları belirlendi ve vücut ağırlıkları yaklaşık 200-210 g olan sıçanlar deneye alındı. Oleuropein ve ekstre içeren emülsiyonların uygulama hacimleri ve boş emülsiyonun uygulama hacmi her hayvan için 2 mL olarak ayarlandı. Oleuropein ve ekstrenin uygulama hacimleri ise distile su ile 2 mL'ye tamamlandı. Zeytin yaprağı etanol ekstresinin ve bu ekstreten izole edilen oleuropeinin farklı dozlarının emülsiyon formülasyonları hazırlandı ve sıçanlara oral yoldan 30 gün süreyle günde tek sefer uygulandı.

Bu sistemle gerçekleştirilen çalışmada sağlıklı ve diyabetik kontrol gruplarına deney boyunca sadece yem ve içme suyu verildi. Emülsiyon kontrol gruplarına boş emülsiyon, oleuropeinin düşük ve yüksek dozlarını içeren emülsiyon gruplarına sırasıyla 150 ve 225 mg/kg dozda oleuropein içeren emülsiyon, düşük ve yüksek doz oleuropein gruplarına ise sırasıyla 150 ve 225 mg/kg oleuropein intragastrik gavajla oral yoldan uygulandı. Ekstrenin düşük ve yüksek dozunu içeren emülsiyon gruplarına sırasıyla 330 mg/kg ve 500 mg/kg ekstre ihtiva eden emülsiyon, düşük ve yüksek doz ekstre gruplarına ise sırasıyla 330 mg/kg ve 500 mg/kg ekstre intragastrik gavajla oral yoldan uygulandı.⁹

Oleuropein, ekstre ve bunları içeren emülsiyonların oral uygulamalarını gösteren şema Şekil 3.5'te ve Şekil 3.6'da verilmektedir.



Şekil 3.5. Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyon uygulamalarını gösteren şema



Şekil 3.6. Ekstre ve ekstre içeren emülsiyon uygulamalarını gösteren şema

Bu uygulamalar için hazırlanan deneysel tasarım Tablo 3.2 ve Tablo 3.3’de verilmektedir.

Tablo 3.2. Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyon uygulamaları

Gruplar	Deney süreci			
	1/2. Gün (12 saat)	2. gün	5. gün	34. gün
Sağlıklı kontrol grubu (SK)	Aç bırakıldı	Sitrat tamponu	Tedavi yok	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Diyabetik kontrol grubu (DK)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Tedavi yok	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Emülsiyon kontrol grubu (EK)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Tedavi yok Boş emülsiyon	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Oleuropein kontrol grubu (OLK)	Aç bırakıldı	Sitrat tamponu	Oleuropein (225 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup (DD-OLE)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Oleuropein içeren emülsiyon (150 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup (YD-OLE)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Oleuropein içeren emülsiyon (225 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup (DD-OL)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Oleuropein (150 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup (YD-OL)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Oleuropein (225 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			

Tablo 3.3. Ekstre ve ekstre içeren emülsiyon uygulamaları

Gruplar	Deney süreci			
	1/2. gün (12 saat)	2. gün	5. gün	34. gün
Sağlıklı kontrol grubu (SK)	Aç bırakıldı	Sitrat tamponu	Tedavi yok	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Diyabetik kontrol grubu (DK)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Tedavi yok	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Emülsiyon kontrol grubu (EK)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Tedavi yok Boş emülsiyon	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup (DD-EE)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Ekstre içeren emülsiyon (330 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup (YD-EE)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Ekstre içeren emülsiyon (500 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup (DD-E)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Ekstre (330 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			
Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup (YD-E)	Aç bırakıldı	STZ (50 mg/kg)	Ekstre (500 mg/kg)	
		Standart yem		
	İçme suyu			

3.8. Sıçanların Kan Glukoz Seviyelerinin Belirlenmesi

Deney boyunca her 7 günde bir sıçanların kuyruk veninden alınan kan örneklerinden kan glukoz seviyeleri belirlendi. Kan örnekleri Optium Plus kan glukoz monitörü ile değerlendirildi. Kan glukoz seviyeleri mg/dL cinsinden ifade edildi.

3.8.1. Kan Ölçüm Cihazının Çalışma Prensibi

Bu çalışmada Optium Plus kan glukoz monitörü ile ölçüm yapıldı. Ölçüm cihazlarının çalışma prensibi genellikle aynıdır. Kan örnekleri uygun striplere eklenir. Kandaki glukoz çalışma elektrodundaki enzim tarafından okside olur. Sonra çalışma ve referans elektrod arasında voltaj uygulanır ve çalışma ve referans elektrod arasındaki akım ölçülür. Bu akım dedektöre 20-600 mg/dL arasında bir değer yansıtır. Bu sayede kan glukoz ölçümü gerçekleştirilmiş olur.

3.9. Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Belirlenmesi

Sıçanların vücut ağırlıkları deney boyunca her hafta kaydedildi.

3.10. Karaciğer Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Deneyin sonunda yüksek doz tiyopental uygulaması sonucu ötenazi edilen tüm sıçan gruplarından karaciğer doku örnekleri alındı ve %0.9'luk sodyum klorür (NaCl) çözeltisinde yıkandıktan sonra petri kaplarına koyuldu. Her bir doku örneği için ayrı bir petri kabı kullanıldı. Örnekler önce bir gün boyunca buzdolabında -20 °C'de, daha sonra -80 °C'de gerekli biyokimyasal çalışmalar için muhafaza edildi. Daha sonra sıçanlardan alınan karaciğer dokuları sıvı azot varlığında havanda öğütülerek toz haline getirildi.

SOD tayini için, her bir doku örneği 1mM etilen glikol tetra asetik asit (EGTA), 210 mM mannitol ve 70 mM süktroz içeren 20 mM HEPES (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit) (pH:7.2) tamponunda buzlu ortamda homojenize edildi. Homojenatlar 1.500 x g'de 4 °C' de 5 dk santrifüj edildi.

GSH tayini için, her bir doku örneği 1 mM etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) içeren 50 mM MES (2-(N-morfolino) etansülfonik asit) ya da fosfat tamponunda (pH: 6-7) buzlu ortamda homojenize edildi. Homojenatlar 10.000 x g'de 4 °C'de 15 dk santrifüj edildi.

MDA tayini için, her bir doku örneği RIPA tamponunda buzlu ortamda sonikatör

kullanılarak (40 V'de 15 s) homojenize edildi. Homojenatlar 1.600 x g'de 4 °C'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen tüm süpernatantlar analiz numunesi olarak kullanıldı.

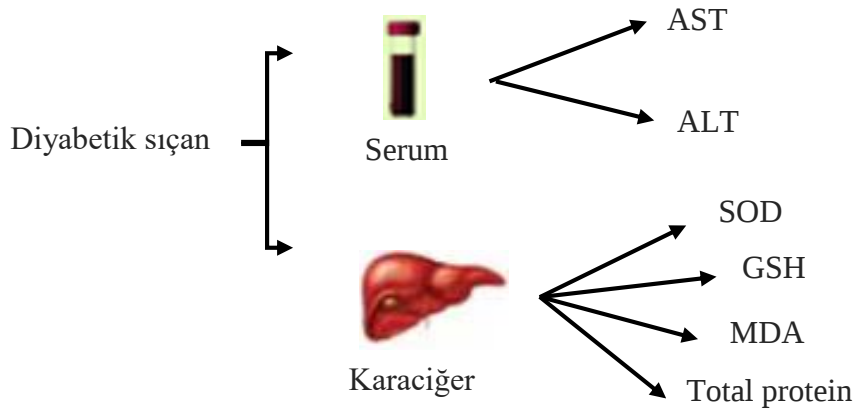
3.11. Kan Örneklerinin Hazırlanması

Deneyin sonunda ötenazi edilen tüm sıçan gruplarından alınan intrakardiyak kan örnekleri plazma ve serum biyokimya tüplerine aktarıldı. 22±2 °C'de 5-10 dk bekletildikten sonra 3.000 x g'de 10 dk soğutmalı santrifüjde santrifüj edildi. Plazma ve serum kısımları pasteur pipet kullanılarak temiz bir polipropilen tüp içine aktarıldı. Elde edilen serum ve plazma örnekleri bir gün boyunca -20 °C'de, daha sonra -80 °C'de biyokimyasal çalışmalar için muhafaza edildi.

3.12. Biyokimyasal Ölçüm

Elde edilen serum örneklerinden Aspartat aminotransferaz (AST) ve Alanin aminotransferaz (ALT) biyokimyasal parametreleri Atatürk Üniversitesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda Roche Cobas c501 otoanalizörü ile analiz edildi. Karaciğer homojenatlarından elde edilen süpernatantlardan SOD (katalog no: 706002) aktiviteleri, GSH (katalog no: 703002), MDA (katalog no: 10009055) ve protein (katalog no: 704002) seviyeleri Cayman firmasından temin edilen ELISA kitleri ile ölçüldü.

Biyokimyasal ölçüm şeması Şekil 3.7'de özetlenmiştir.

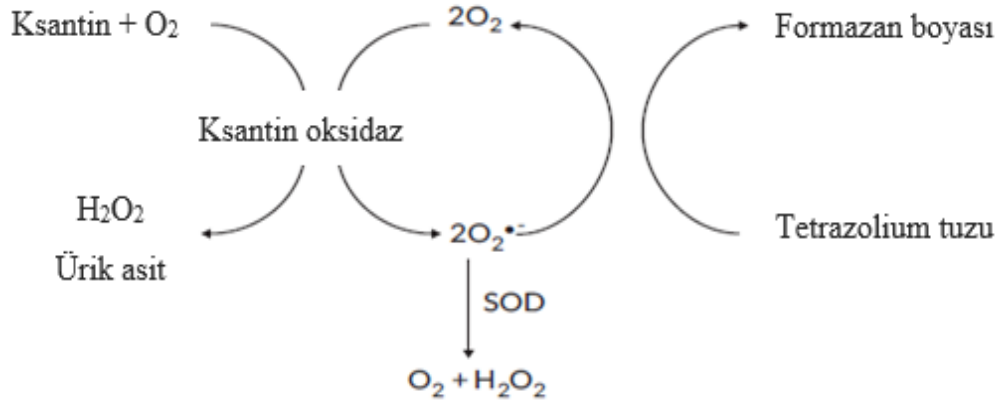


Şekil 3.7. Biyokimyasal ölçüm şeması

3.12.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

3.12.1.1. SOD Deney Prensibi

Cayman SOD Ölçüm Kiti Şekil 3.8’de gösterilen prensibe dayanmaktadır.¹¹⁶



Şekil 3.8. SOD ölçüm şeması¹¹⁶

3.12.1.2. SOD Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

Ölçüm Tamponu (10X): Konsantre ölçüm tamponundan 3 mL alındı ve 27 mL saf su ile dilüe edildi. Bu tampon çözeltisi radikal dedektörü seyreltmek için kullanıldı.

Örnek Tamponu (10X): Konsantre örnek tamponundan 2 mL alındı ve 18 mL saf su ile dilüe edildi. Bu tampon çözeltisi SOD standartlarını hazırlamak ve deneyde kullanılan SOD numunelerini ve ksantin oksidazı seyreltmek için kullanıldı.

Radikal Dedektör (tetrazolium tuz çözeltisi): Radikal dedektörden 50 µL alındı ve 19.95 mL ölçüm tamponu ile dilüe edildi. Çözelti alüminyum folyo ile kaplanarak ışıktan korundu. Hazırlanan çözelti 2 saat için stabildir.

SOD Standart (bovin eritrosit SOD (Cu/Zn)): Bu enzim standart hazırlamak için kullanıldı. Deney boyunca en fazla 2 kere çözünüp kullanılabilir.

Ksantin Oksidaz: Ksantin oksidazdan 50 µL alındı ve 1.95 mL seyreltik örnek tamponu ile dilüe edildikten sonra buzda bekletildi. Çözeltinin tekrar dondurulup çözülmemesi gerekir ve bir saat içinde kullanılmalıdır.

3.12.1.3. SOD Standart Solüsyonunun Hazırlanması

SOD stok solüsyonu hazırlamak için 20 µL SOD standartı 1.98 mL örnek tamponu ile seyreltildi. A'dan G'ye kadar harflendirilmiş (7 adet) temiz deney tüplerine Tablo 3.4'te gösterildiği gibi SOD stok çözeltisinden ve örnek tampondan eklendi.

Tablo 3.4. SOD ölçümü için standart hazırlama

TÜP	SOD Stok (µL)	Örnek Tampon (µL)	Son SOD aktivitesi (U/mL)
A	0	1000	0
B	20	980	0.025
C	40	960	0.05
D	80	920	0.1
E	120	880	0.15
F	160	840	0.2
G	200	800	0.25

3.12.1.4. SOD Ölçümü

Tablo 3.5'de gösterilen deney şemasına uygun olarak SOD ölçümü yapıldı.

Tablo 3.5. SOD deney şeması

	Kör	Numune	Standart
Standart	-	-	10 µL
Süpernatant	-	10 µL	-
Radikal dedektör	210 µL	200 µL	200 µL
10 dk çalkalayıcıda bekletildi - Reaksiyonu başlatmak için ksantin oksidaz ilave edildi			
Ksantin oksidaz	20 µL	20 µL	20 µL
- Plate çalkalayıcıda dikkatli bir şekilde karıştırılarak 2 dk bekletildi - Plate üstü kapalı olarak oda sıcaklığında 20 dk inkübe edildi - ELISA cihazı kullanılarak 460 nm'de okuma yapıldı			

3.12.1.5. SOD Aktivitesinin Hesaplanması

Her standart ve örnek için ortalama absorbans hesaplandı. Lineer bir doğru (LD) elde etmek için A'nın absorbans değeri kendisine ve diğer tüm standart ve örneklerin absorbans değerlerine bölündü. Tipik bir standart eğri çizildi.

Her örnek için lineer doğrunun yerine kullanılan standart eğrinin lineer regresyonundan elde edilen eşitliği kullanarak örneklerin SOD aktivitesi hesaplandı. Bir ünite süperoksit radikalının %50 dismutasyonunu göstermek için gerekli olan enzimin miktarı olarak tanımlandı. SOD aktivitesi, sitokrom c ve ksantin oksidazın birkaç ölçümü kullanılarak standardize edildi.

SOD aktivitesinin hesaplanması için aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır.¹¹⁶

$$\text{SOD (U/mL)} = \left(\frac{(\text{örnek LD}) - (y\text{-girişim})}{\text{eğim}} \right) * \frac{0.23 \text{ mL}}{0.01 \text{ mL}}$$

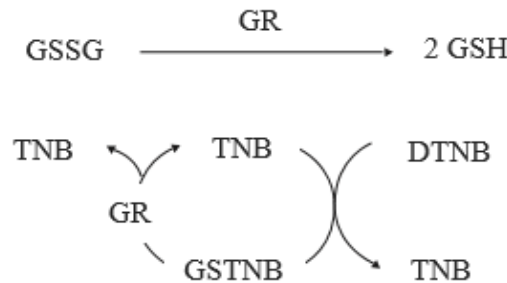
Şekil 3.9. SOD aktivitesini hesaplamak için kullanılan eşitlik

Daha sonra sonuçlar mg protein değerlerine bölünerek SOD aktivitesi U/mg protein olarak hesaplandı.

3.12.2. Glutasyon (GSH) Tayini

3.12.2.1. GSH Deney Prensibi

Cayman GSH Ölçüm Kiti Şekil 3.10'da gösterilen prensibe dayanmaktadır.¹¹⁷



Şekil 3.10. GSH ölçüm şeması¹¹⁷

3.12.2.2. GSH Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

GSH MES Tamponu (2X): 0.06 µL MES tamponu 0.06 µL saf su ile dilüe edildi.

GSSG Standart: GSSG standartları kitte kullanıma hazır olarak bulunmaktadır.

GSH Co-factor Karışımı: Bu karışım 0.5 mL saf su ile iyice karıştırılarak dilüe edildi.

GSH Enzim Karışımı: Karışımdan 0.2 mL alınarak 2 mL MES tamponu ile iyice karıştırıldı.

GSH DTNB: GSH DTNB iyice karıştırılarak 0.5 mL saf su ile dilüe edildi. Hazırlanan bu karışım 10 dk içinde kullanılmalıdır.

GSH Ölçüm Tamponu (Kokteyl): MES tamponundan 11.25 mL, seyreltik Co-factor karışımından 0.45 mL, seyreltik enzim karışımından 2.1 mL, seyreltilmiş DTNB'den 0.45 mL ve saf sudan 2.3 mL alınıp, 20 mL'lik bir şişede karıştırılarak kokteyl hazırlandı. Kokteyl hazırlandıktan sonra 10 dk içinde kullanılmalıdır.

3.12.2.3. GSH Standart Solüsyonunun Hazırlanması

A'dan H'ye kadar harflendirilmiş deney tüplerine (8 tane) Tablo 3.6'da gösterildiği şekilde MES Tamponu ve GSSG Standartı eklendi.

Tablo 3.6. GSH standart hazırlama

Tüp	GSSG Standart (µL)	MES Tamponu (µL)	Eşdeğer total GSH (µL)
A	0	500	0
B	5	495	0.5
C	10	490	1.0
D	20	480	2.0
E	40	460	4.0
F	80	420	8.0
G	120	380	12.0
H	160	340	16.0

3.12.2.4. GSH Ölçümü

Tablo 3.7’de gösterilen deney şemasına uygun olarak GSH ölçümü yapıldı.

Tablo 3.7. GSH deney şeması

	Kör	Numune	Standart
Standart	-	-	50 µL
Süpernatant	-	50 µL	-
• Plate koruyucu ile 8 dk kapatıldı • Bu esnada kokteyl hazırlandı • Koruyucu kaldırıldı			
Kokteyl	200 µL	150 µL	150 µL
• Plate koruyucu ile tekrar kapatıldı ve karanlık bir ortamda çalkalayıcıda dikkatli bir şekilde karıştırılarak inkübe edildi • ELISA cihazı ile 405 nm’de 25 dk’da 1 ölçüm alınacak şekilde okuma yapıldı			

3.12.2.5. GSH Seviyesinin Hesaplanması

Tüm ölçümler için ortalama absorbans değeri hesaplandı. Standart A’nın absorbans değeri kendisinden ve diğer bütün değerlerden çıkartıldı. Bu doğrulanmış absorbans değerini göstermektedir.

Total GSH konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak her standartın doğrulanmış absorbans değerleri kullanıldı. Standart eğiminden her bir örneğin total GSH değerleri hesaplandı. GSH seviyesinin hesaplanması için aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır.¹¹⁷

$$\text{Total GSH } (\mu\text{M}) = \frac{(\text{405 nm'deki absorbans}) - (\text{y-girişim})}{\text{eğim}}$$

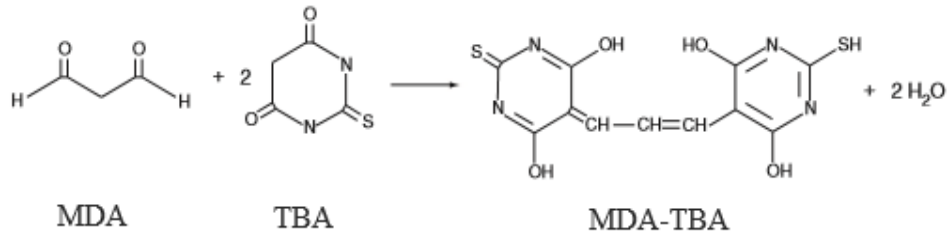
Şekil 3.11. GSH seviyesini belirlemek için kullanılan eşitlik

Daha sonra sonuçlar mg protein değerlerine bölünerek GSH seviyesi nmol/mg protein olarak hesaplandı.

3.12.3. Malondialdehit (MDA) Tayini

3.12.3.1. MDA Deney Prensibi

Cayman TBARS Ölçüm Kiti (10009055) Şekil 3.12’de gösterilen prensibe dayanmaktadır.¹¹⁸



Şekil 3.12. MDA-TBA oluşum mekanizması¹¹⁸

3.12.3.2. MDA Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

Tiyobarbitürik Asit: 2 g Tiyobarbitürik asit (TBA) renkli reaktifin hazırlanması için kullanıldı.

TBA Asetik Asit: TBA asetik asitten 40 mL alındı ve yavaş bir şekilde 160 mL’lik saf suya ilave edildi. Bu solüsyon renkli reaktifin hazırlanmasında kullanıldı.

TBA Sodyum Hidroksit (10X): TBA NaOH’ dan 20 mL alındı ve 180 mL saf su ile dilüe edildi. Bu solüsyon renkli reaktifin hazırlanmasında kullanıldı.

TBA MDA Standart: Bu çözelti standart eğri oluşturmak için kullanıldı.

TBA SDS Solüsyonu: Sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltisi kullanıma hazır olarak bulunmaktadır. Kullanılmadan önce oda sıcaklığında 1 saat süreyle bekletilmelidir.

Renkli Reaktif: TBA’dan 530 mg alındı ve üzerine 50 mL seyreltik TBA asetik asit ve 50 mL seyreltik TBA NaOH eklendi. TBA tamamen çözününceye kadar karıştırıldı. Solüsyon 24 saat içinde kullanılmalıdır.

3.12.3.3. MDA Standart Solüsyonunun Hazırlanması

125 µM MDA stok solüsyonu elde etmek için 250 µL MDA standartı 750 µL saf

su ile dilüe edildi. A'dan H'ye kadar harflendirilmiş deney tüplerine (8 tane) Tablo 3.8'de gösterildiği şekilde 125 µM MDA stok solüsyonu ve saf su eklendi.

Tablo 3.8. MDA standart hazırlama

Tüp	MDA (µL)	Saf su (µL)	MDA konsantrasyonu (µM)
A	0	1000	0
B	5	995	0.625
C	10	990	1.25
D	20	980	2.5
E	40	960	5.0
F	80	920	10.0
G	200	800	25.0
H	400	600	50.0

3.12.3.4. MDA Ölçümü

Tablo 3.9'da gösterilen deney şemasına uygun olarak MDA ölçümü yapıldı.

Tablo 3.9. MDA deney şeması

	Kör	Numune	Standart
Standart	-	-	100 µL
Süpernatant	-	100 µL	-
SDS	-	100 µL	100 µL
RIPA tamponu	200 µL	-	-
Renkli reaktif	4 mL	4 mL	4 mL

- Tüpler 1 saat boyunca su banyosunda kaynar su içinde bekletildi
- Reaksiyonu sonlandırmak için tüpler buz banyosunda 10 dk inkübe edildi
- 10 dk sonra tüpler 1600 x g'de 4 °C'de 10 dk santrifüj edildi
- Tüpler 30 dk oda sıcaklığında bekletildi ve her tüpten 150 µL alındı ve plateye yüklendi
- ELISA cihazı kullanılarak 532 nm'de okuma yapıldı

3.12.3.5. MDA Seviyesinin Kolorimetrik Hesaplanması

Tüm ölçümler için ortalama absorbans değeri hesaplandı. Standart A'nın absorbans değeri kendisinden ve diğer tüm değerlerden çıkarıldı. Bu doğrulanmış absorbans gösterir. Her standartın doğrulanmış absorbans değeri MDA konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak kullanıldı. Her bir örneğin MDA değerini belirlemek için standart eğriden yararlanıldı.

MDA seviyesinin hesaplanması için aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır.¹¹⁸

$$\text{MDA } (\mu\text{M}) = \frac{(\text{532 nm'deki absorbans}) - (y\text{-girişim})}{\text{eğim}}$$

Şekil 3.13. MDA seviyesini hesaplamak için kullanılan eşitlik

Daha sonra sonuçlar mg protein değerlerine bölünerek MDA seviyesi nmol/mg protein olarak hesaplandı.

3.12.4. Protein Tayini

3.12.4.1. Protein Deney Prensipli

Cayman Protein Ölçüm Kiti (704002) total protein miktarını ölçmek için mikropalak tabanlı kolorimetrik bir yöntemdir. Protein numuneleri su ile seyreltildikten sonra, seyreltilmiş numuneden 100 µL alınır ve plaklara pipetlenir. Üzerine 100 µL tahlil reaktifi eklenir ve 5 dk inkübe edilir. Daha sonra 595 nm'de absorbans ölçümü yapılır.¹¹⁹

3.12.4.2. Protein Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

Tahlil reaktifi: Tahlil reaktifinden 7.5 mL alınır ve 50 mL saf su ile seyreltilir.

BSA standart: BSA standart %0.05 sodyum azit ile %0.9'luk tuz çözeltisi içinde 10 mg/mL olan bir stok konsantrasyonuna sahiptir. Bu stok standarttan 4 µL alınır, 996 µL saf su ile seyreltilir. Bu solüsyonun konsantrasyonu 40 µg/mL'dir.

3.12.4.3. Protein Ölçümü İçin Standart Solüsyonun Hazırlanması

A'dan H'ye kadar harflendirilmiş deney tüpleri (8 tane) alınır. H tüpüne 200 µL

A'dan G'ye kadar olan diğer tüplere ise 250 µL saf su eklenir. Standarttan 800 µL alınıp H tüpüne eklenir ve iyice karıştırılır. H tüpünden 750 µL alınır G tüpüne aktarılıp standart seyreltilir ve iyice karıştırılır. Sonra G tüpünden 750 µL alınarak F tüpüne aktarılır ve iyice karıştırılır. E tüpünden B tüpüne kadar olan diğer tüpler için aynı işlemler tekrarlanır. A tüpü standart eğri için kör numunesi olarak kullanılır.

Tablo 3.10. Protein ölçümü için standartların konsantrasyonları

TÜP	Son konsantrasyon (µg/mL)	TÜP	Son konsantrasyon (µg/mL)
A	0.0	E	13.5
B	5.6	F	18.0
C	7.5	G	24.0
D	10.1	H	32.0

3.12.4.4. Protein Ölçümü

Tablo 3.11'de gösterilen deney şemasına uygun olarak protein ölçümü yapılır.

Tablo 3.11. Protein deney şeması

Kuyu	BSA Standart	Numune	Tahlil Reaktifi
Standart	100 µL	-	100 µL
Numune	-	100 µL	100 µL
- Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi - ELISA cihazı kullanılarak 595 nm'de okuma yapıldı			

3.12.4.5. Protein Seviyesinin Hesaplanması

Kör numunesi için ortalama absorbans değeri hesaplandı ve diğer absorbans değerlerinden çıkarıldı. Her standart için ortalama absorbans değeri alındı. Her bir örneğin protein değerini belirlemek için standart eğriden yararlanıldı.

Protein seviyesinin hesaplanması için aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır.¹¹⁹

$$\text{Protein } (\mu\text{g/mL}) = [A * (\text{numune abs})^2 + B * (\text{numune abs}) + C] * \text{dilüsyon katsayısı}$$

Şekil 3.14. Protein seviyesini hesaplamak için kullanılan eşitlik

3.13. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

STZ Sigma-Aldrich (Amerika) firmasından, zeytin yağı Tariş (Türkiye) firmasından, Propilen Glikol Doğa İlaç (Türkiye) firmasından, PEG 400 Pekkim (Türkiye) firmasından, Biyokimyasal ölçüm kitlerinde bulunan kimyasallar Cayman (Almanya) firmasından, deneyde kullanılan diğer kimyasallar ise Merck (Almanya) firmasından temin edildi.

3.14. Deneyde Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.12 çalışmamızda kullanılan cihazlar ve modellerini göstermektedir.

Tablo 3.12. Deneyde kullanılan cihazlar ve modelleri

Cihazlar	Modeli
Buzdolabı (-86 °C)	Nuaire NU-9483E, USA
Chemwell	Awareness Technology, USA
Çoklu Manyetik Karıştırıcı (WisestirR MS-MR4)	Wisd Lab. Instruments, Almanya
Çoklu Manyetik Karıştırıcı	Mix. 15 eco, 2 Mag, Almanya
Damlacık boyutu ölçüm cihazı	Malvern HYDRO 2000MU
Derin dondurucu	Vestel BZP-XL3402W, Türkiye
Derin dondurucu	Sanyo MDF-235
Doku homojenizatörü	Tissue Lyser II, Qiagen, Germany
Doku homojenizatörü	Qiagen Tissue Lyser II
Eliza Okuyucu	Epoch Microplate Spect., BioTek, USA
Etüv	Memmert WNB 7-45, Germany
Evaporatör	BSI
Hassas Terazi	Shimadzu AUW220D, Japonya

Tablo 3.12. Deneyde kullanılan cihazlar ve modelleri (devamı)

Cihazlar	Modeli
Hassas Terazı	Scaltec SPB 42
Homojenizatör	OMNI TH International, Qiagen Germany
Homojenizatör	TH-02, Omni International, ABD
Kaplama cihazı	Quorum Q150R S
Kan parametreleri ölç. chz.	Roche Cobas c501 analizörü
Kan glukoz ölçüm cihazı	Optium Plus, Abbott, Türkiye
Karıştırıcı	IKA- MS 3 basic, USA
Liyofilizatör	Christ ALPHA 1-2 LO
Manyetik karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Germany
Magnetik karıştırıcı	Boeco MSH 300
MasterSizer 2000	Malvern Ins.Ltd., UK
Mikrosantrifüj	Mikro 200, Hettich, Almanya
Mikroplate Yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, USA
Mikroskop	ZEISS Primo Star
Optik Mikroskop	Olympus, DP72, Japonya
Oto. Multikanal Pipet	Eppendorf Research Pro (20-300 µl)
pH metre	Orion 3 Star, ABD
pH metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Pipet seti	Eppendorf Research Plus
Saf su cihazı	GFL 2004
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R, Germany
Su banyosu (Çalkalayıcı)	Memmert
Sonikatör cihazı	Bandelin Sonopuls
Taramalı Elektron Mikroskobu	ZEISS Gemini Sigma 300
Ultra Saf Su Cihazı (Easypure® RF)	Barnstead/Thermolyne Co., ABD
UV- Spektrofotometre	Beckman Coulter-DU® 730., ABD
Vortex	Vortex Genie-Model K-550-GE
Vortex (MS 3)	IKA®-Werke GmbH&Co., Almanya

3.15. İstatistiksel Analiz

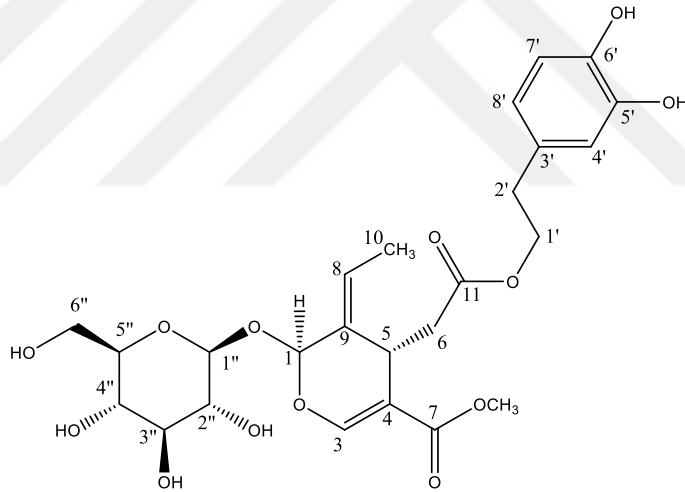
İstatistiksel analizler SPSS ver. 20.0 programı kullanılarak yapıldı. Çalışmada tek yönlü varyans (ANOVA) analizi ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Sonuçlar, gruptaki ölçümün ortalaması (ortalama $\pm$ SD) olarak gösterildi ve istatistiki değerlendirme $p<0.05$ düzeyinde önemli kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Oleuropeinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR Sonuçları

Gün ışığında sarı renkli, yapışkan bir madde olarak izole edilen OE-1 ($\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_{13}$, MA: 540.51 g/mol) bileşiği, UV_{254} nm’de mor leke verirken, UV_{366} nm’de renksizdir. Bileşiğe vanilin/ H_2SO_4 (105°C) reaktifi püskürtüldüğünde kahverengimsi bir leke vermektedir. OE-1 kodlu maddenin kimyasal yapısının karakterizasyonu için ^1H ve ^{13}C NMR verileri kullanıldı. Yapılan analizler neticesinde maddenin kimyasal yapısının ‘oleuropein’ olduğu anlaşıldı. Maddenin ^1H ve ^{13}C NMR verilerinin literatürle de eşleştiği anlaşılmıştır.¹²⁰ Zeytin yaprağının etil alkol ekstresinden izole edilen oleuropeinin NMR verileri ile belirlenen kimyasal yapısı Şekil 4.1’de gösterilmektedir.¹²⁰



Şekil 4.1. Oleuropeinin yapısı

Oleuropeinin ^1H ve ^{13}C NMR verileri;

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 5.82 (s, 1H, H-1), 7.47 (s, 1H, H-3), 3.79 (dd, $J_1 = 4,5$ Hz, $J_2 = 13,2$ Hz, 1H, H-5), 2.36 (d, 1H, $J = 9.20$ Hz, H-6a), 2.33 (d, 1H, $J = 9.10$ Hz, H-6b), 5.92 (q, 1H, H-8), 1.66 (d, 3H, $J = 6.24$ Hz, H-10), 3.65 (s, 3H, OMe), 4.13 (t, 2H, H-1'), 2.68 (t, 2H, H-2'), 6.59 (s, 1H, H-4'), 6.63 (d, $J = 7.96$ Hz, 1H, H-7'), 6.46 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H, H-8'), 4.65 (d, $J = 7.76$ Hz, 1H, glc-1'').

¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 93.5 (C-1), 154.0 (C-3), 108.1 (C-4), 30.6 (C-5), 40.11 (C-6), 171.5 (C-7), 123.7 (C-8), 129.27 (C-9), 13.3 (C-10), 167.0 (C-11), 51.8 (OMe), 65.6 (C-1'), 33.9 (C-2'), 129.3 (C-3'), 116.5 (C-4'), 145.2 (C-5'), 143.9 (C-6'), 115.9 (C-7'), 120.2 (C-8'), 99.3 (glc-1''), 73.5 (glc-2''), 76.6 (glc-3''), 70.2 (glc-4''), 77.3 (glc-5''), 61.1 (glc-6'')

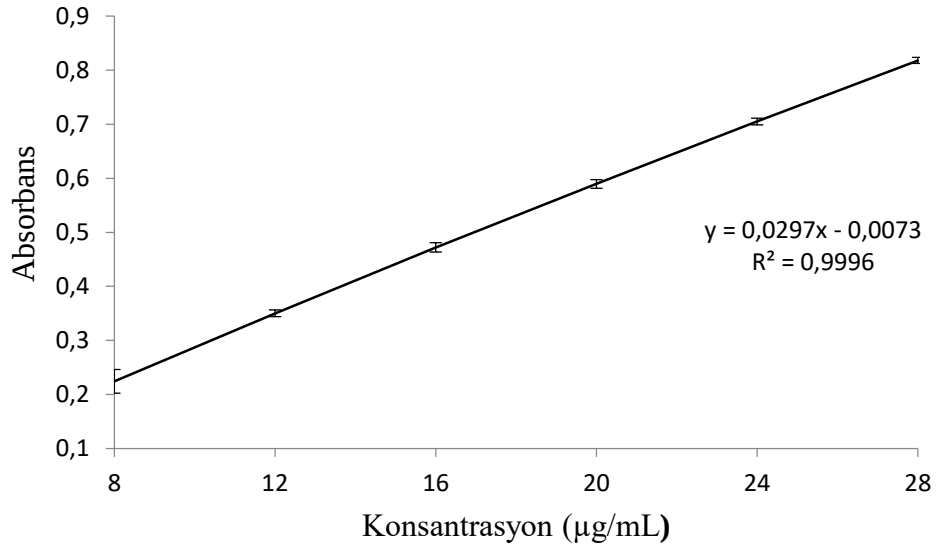
4.2. Oleuropeinin UV-Spektrofotometrik Yöntemle Tayini

Bölüm 3.4.1’de anlatıldığı şekilde metanol içinde hazırlanan oleuropein içeren çözeltilerin, 200-400 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları alınmış ve λ_{max} 229 nm olarak tespit edilmiştir.

4.2.1. Oleuropeine Ait Kalibrasyon Doğrusunun Elde Edilmesi

Bölüm 3.4.2’de belirtildiği şekilde kalibrasyon doğruları ve doğru denklemleri elde edilmiştir. Her seri için elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait eğimler karşılaştırılmış, VK değeri 2.72 olarak bulunmuştur.

Oleuropeinin kalibrasyon doğrusu ve denklemi Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Oleuropeine ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi
($X \pm SS$; $n=6$, X =Ortalama, SS =Standart Sapma)

4.3. Analitik Yöntem Validasyonu Bulguları

Analitik yöntem validasyonu için, gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerlerini tespit etmek üzere Bölüm 3.4.3'te anlatıldığı şekilde çalışılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Oleuropein analitik yönteminin gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Hesaplanan Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$) ($X \pm SS$)	^[a] Doğruluk	^[b] Kesinlik
^[c] Gün içi	10	9.89 $\pm$ 0.160	-1.122	1.618
	18	18.10 $\pm$ 0.196	0.542	1.085
	26	25.98 $\pm$ 0.203	-0.824	0.786
^[d] Günler arası	10	10.05 $\pm$ 0.152	0.468	1.001
	18	18.14 $\pm$ 0.239	0.750	0.998
	26	25.72 $\pm$ 0.214	-1.062	0.847

^[a]Bağıl Hata (%), ^[b]Varyasyon katsayısı (%), ^[c]Her bir konsantrasyon için n=6, ^[d]Her bir konsantrasyon için n=6/gün

Analitik yöntemin duyarlılığı ise Bölüm 3.4.3'te belirtildiği şekilde standart sapma ve eğime göre değerlendirilerek LOD 0.089 $\mu\text{g/mL}$ ve LOQ ise 0.272 $\mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir.

4.4. Oleuropeinin Çözünürlük Çalışmasına Ait Bulgular

Oleuropeinin çözünürlük çalışması, Bölüm 3.4.4'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Oleuropeinin saf su, propilen glikol ve PEG 400 içerisindeki çözünürlüğü sırasıyla. 17.23 $\pm$ 0.58 mg/mL, 26.12 $\pm$ 5.97 mg/mL ve 19.31 $\pm$ 3.20 mg/mL (n=2, $X \pm SS$) olarak saptanırken diğer ortamlarda anlamlı bir çözünürlük elde edilememiştir.

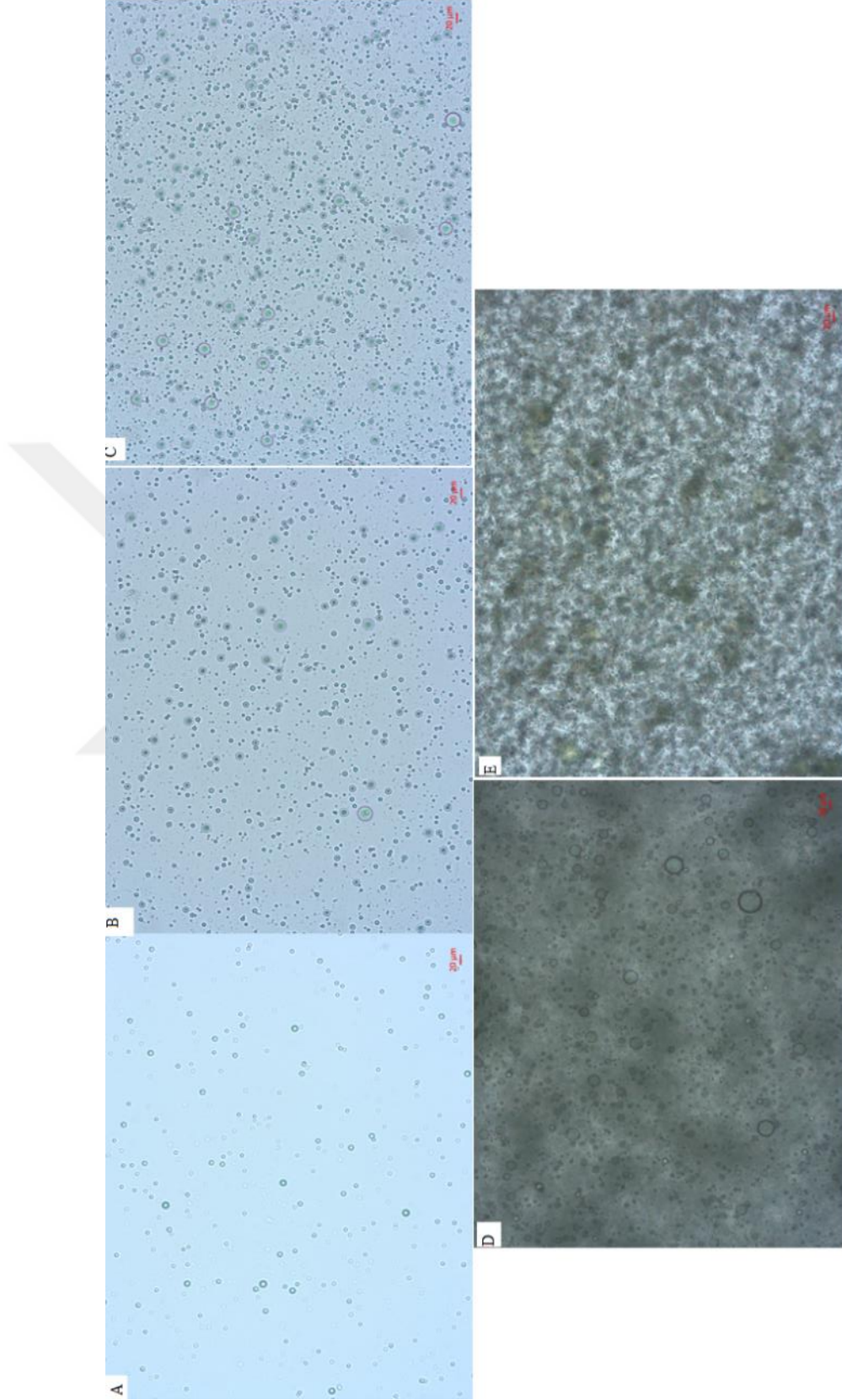
4.5. Emülsiyonların Damlacık Büyüklüğüne ve Görüntülerine Ait Bulgular

Hazırlanan BE ve OE emülsiyonlarına ait damlacık büyüklüğü tayinleri Bölüm 3.5.3’de belirtildiği gibi Mastersizer 2000 cihazı kullanılarak saptanmış ve sonuçlar Tablo 4.2’de özetlenmiştir.

Tablo 4.2. Emülsiyon formülasyonlarına ait damlacık büyüklüğü sonuçları (n=3)

Formülasyon	Ortalama damlacık	
	büyüklüğü (μm)	Span
BE	7.916	3.269
OE-1	15.787	4.647
OE-2	3.211	3.457
EE-1	16.639	5.196
EE-2	9.438	127.08

BE, OE ve EE emülsiyonlarına ait mikroskop görüntüleri Şekil 4.3’de verilmiştir.

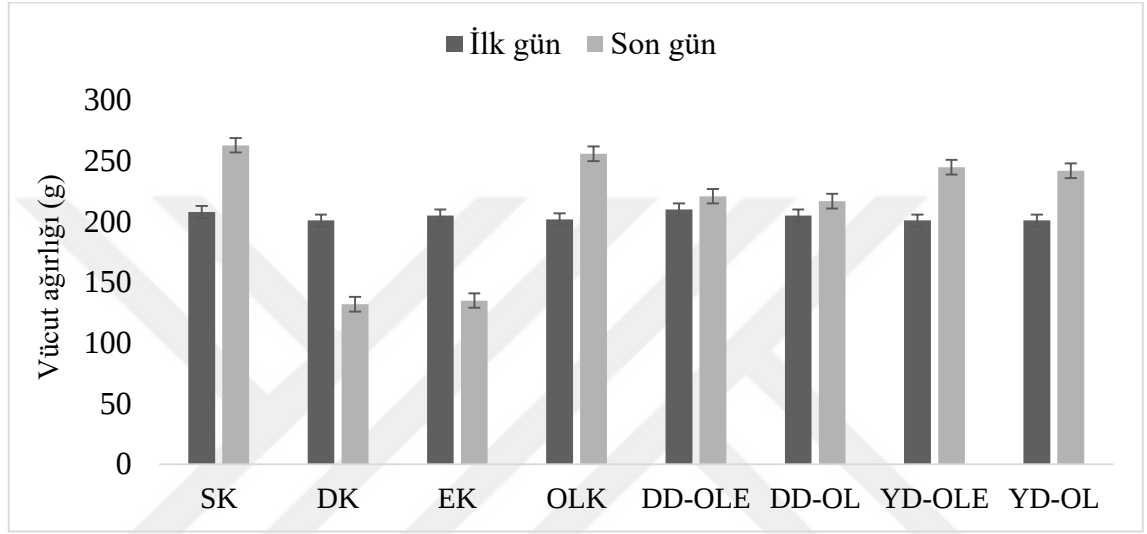


Şekil 4.3. Emülsiyon formülasyonlarına ait mikroskop görüntüleri.
A) BE; B) OE-1; C) OE-2; D) EE-1; E) EE-2

4.6. Oleuropeinin ve Oleuropein İçeren Emülsiyonun Sıçanlar Üzerine Etkisi

4.6.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların canlı ağırlık ortalamaları Şekil 4.4'te gösterilmektedir.



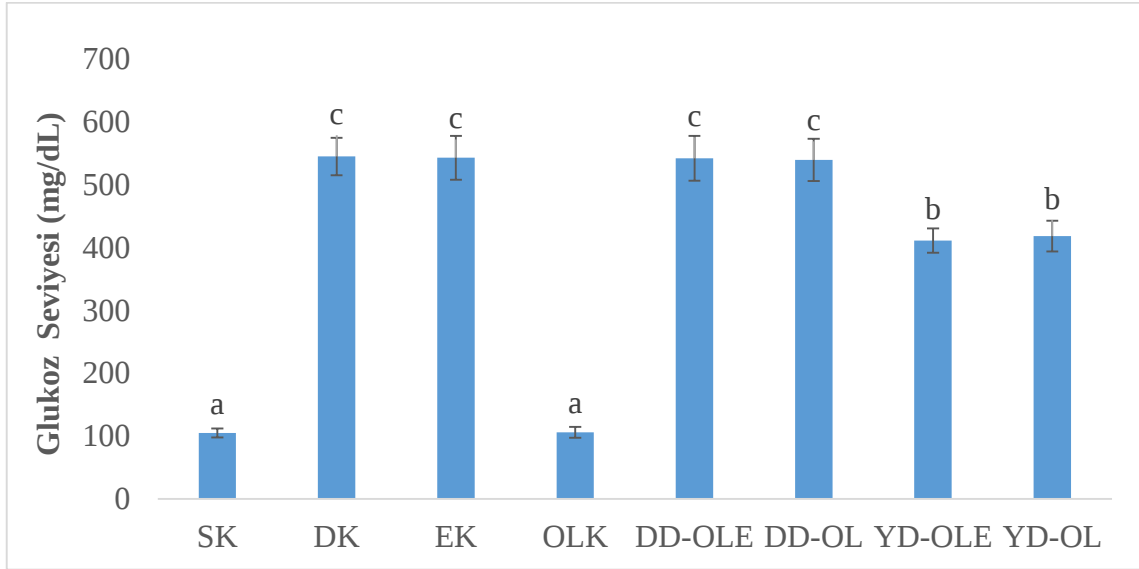
Şekil 4.4. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası vücut ağırlıkları

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Deneyin ilk gününde sıçanların vücut ağırlıkları not edildi. Deneyin sonunda sağlıklı kontrol ve oleuropein kontrol gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken, diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarının vücut ağırlıklarında anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($p < 0.05$). Ayrıca yüksek dozda oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile sıçanların vücut ağırlıklarında anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$). Düşük doz uygulamalarından sonra sıçanların vücut ağırlıkları deneyin ilk gününde ölçülen değerlere çok yakındı.

4.6.2. Grupların Kan Glukoz Seviyeleri

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların kan glukoz seviyeleri Şekil 4.5'te gösterilmektedir.



Şekil 4.5. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası kan glukoz seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Emülsiyon kontrol ve diyabetik kontrol gruplarındaki sıçanların kan glukoz seviyeleri (sırasıyla 543.4 ± 35.10 ve 545.4 ± 29.81 mg/dL) birbirine yakındı ($p > 0.05$). Sağlıklı kontrol grubundaki sıçanların ve oleuropein kontrol grubundaki sıçanların kan glukoz seviyeleri (sırasıyla 105.0 ± 7.18 ve 106.2 ± 8.53 mg/dL) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla daha düşük bulundu. Bu istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların kan glukoz seviyelerinde (sırasıyla 418.8 ± 24.59 ve 411.6 ± 24.59 mg/dL) önemli bir düşme gözlemlendi ($p < 0.05$). Oleuropein ve oleuropein içeren

emülsiyonun düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen grupların kan glukoz seviyeleri (sırasıyla 540.2 ± 33.61 ve 542.6 ± 35.56 mg/dL) ile diyabetik kontrol grubun kan glukoz seviyeleri birbirine yakındı ($p > 0.05$). Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamalarının oleuropein içeren emülsiyonun düşük doz uygulamasına kıyasla daha etkili olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$).

4.6.3. Grupların AST ve ALT Seviyeleri

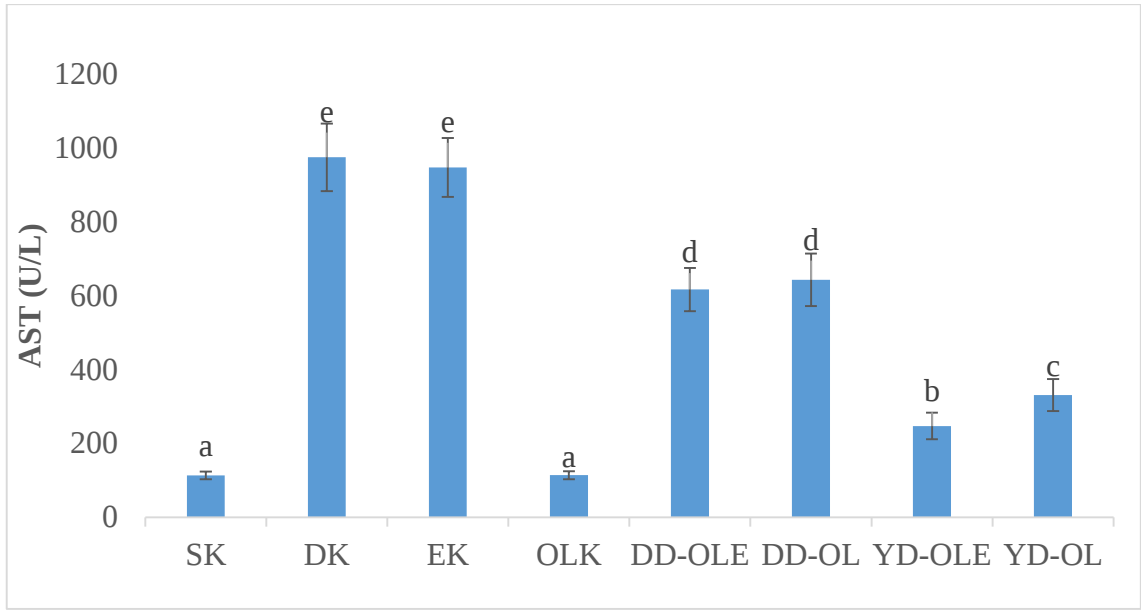
Tablo 4.3 kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların AST ve ALT seviyelerini göstermektedir.

Tablo 4.3. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası AST ve ALT seviyeleri

Gruplar	Doz (mg/kg)	n	AST (U/L)	ALT (U/L)
SK		5	113.60 ± 10.50^a	42.40 ± 5.94^a
DK		5	975.20 ± 91.55^e	426.00 ± 44.32^d
EK		5	947.80 ± 80.16^e	432.80 ± 40.26^d
OLK	225	5	114.00 ± 10.79^a	43.20 ± 4.32^a
DD-OLE	150	5	617.00 ± 58.43^d	272.60 ± 32.94^c
DD-OL	150	5	643.40 ± 70.82^d	281.00 ± 37.29^c
YD-OLE	225	5	247.20 ± 35.88^b	134.00 ± 13.10^b
YD-OL	225	5	330.80 ± 43.53^c	147.00 ± 16.32^b

Sonuçlar, ölçümün ortalaması (ortalama $\pm$ SD) olarak gösterildi. İstatistiki değerlendirme $p < 0.05$ düzeyinde önemli kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı. SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Oleuropein kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların AST seviyeleri Şekil 4.6’da gösterilmektedir.



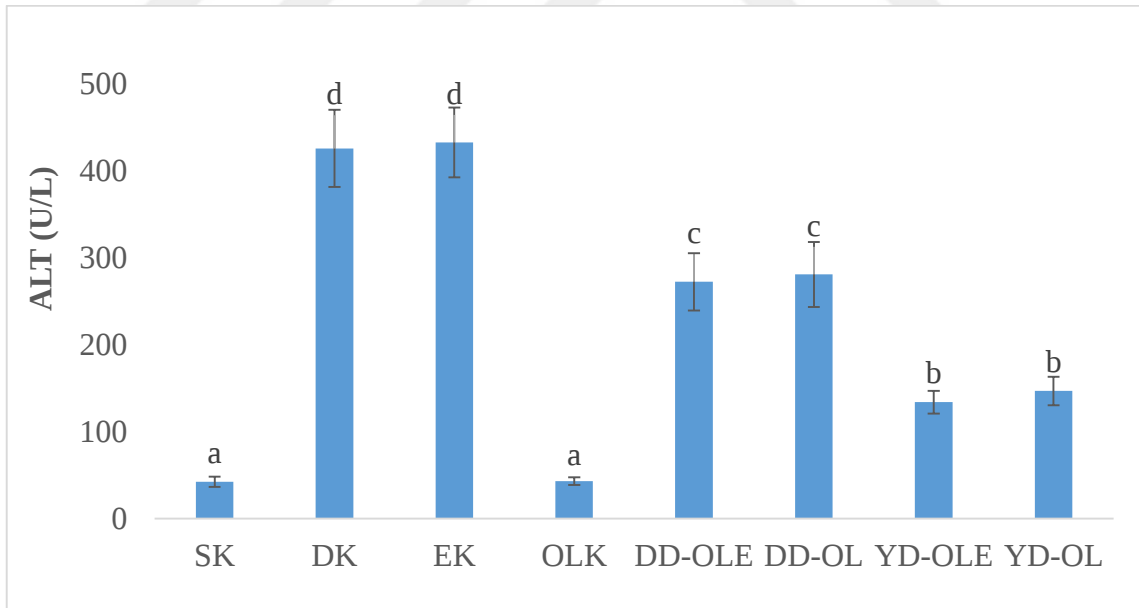
Şekil 4.6. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası AST seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Deney sonunda diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarındaki sıçanların AST seviyeleri (sırasıyla 975.20 ± 91.55 ve 947.80 ± 80.16 U/L) birbirine yakındı ($p > 0.05$). Ayrıca sağlıklı kontrol grubundaki sıçanların ve yüksek dozda oleuropein verilen gruptaki sağlıklı sıçanların AST seviyeleri (sırasıyla 113.60 ± 10.50 ve 114.00 ± 10.79 U/L) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$). Oleuropein içeren emülsiyonun yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların AST seviyeleri (sırasıyla 247.20 ± 35.88 ve 617.00 ± 58.43 U/L) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Hatta oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamasının düşük doz uygulamasına kıyasla daha etkili olduğu tespit edildi. Bu istatistiki değerlendirmede anlamlıydı ($p < 0.05$). Fakat oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulaması ile tedavi edilen sıçanların AST seviyeleri sağlıklı kontrol grubundaki sıçanlara göre yüksekti ($p < 0.05$). Aynı şekilde oleuropeinin yüksek

ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların AST seviyeleri (sırasıyla 330.80 ± 43.53 ve 643.40 ± 70.82 U/L) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Oleuropein uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden grubun AST seviyesi oleuropein uygulamasının düşük dozunu ihtiva eden gruba kıyaslandığında daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulaması ile tedavi edilen grubun AST seviyesi oleuropein uygulamasının yüksek dozu ile tedavi edilen gruba kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$). Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun düşük doz uygulamalarından sonra, sıçanların AST seviyeleri birbirine yakındı ($p > 0.05$).

Konrol gruplarının ve iki farklı dozdaki oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların ALT seviyeleri Şekil 4.7’de gösterilmektedir.



Şekil 4.7. Konrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası ALT seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarındaki sıçanların ALT seviyeleri (sırasıyla 426.00 ± 44.32 ve 432.80 ± 40.26 U/L) birbirine yakındı ($p > 0.05$). Sağlıklı kontrol grubun ve yüksek dozda oleuropein verilen kontrol grubun ALT seviyeleri (sırasıyla 42.40 ± 5.94 ve 43.20 ± 4.32 U/L) diyabetik kontrol grubuna kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$). Oleuropein içeren emülsiyonun yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen grupların ALT seviyeleri (sırasıyla 134.00 ± 13.10 ve 272.60 ± 32.94 U/L) diyabetik kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Hatta oleuropein emülsiyonunun yüksek doz uygulamasının düşük doz uygulamasına kıyasla daha etkili olduğu tespit edildi. Bu istatistiki değerlendirmede anlamlıydı ($p < 0.05$). Fakat oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulaması ile tedavi edilen sıçanların ALT seviyeleri sağlıklı kontrol grubundaki sıçanlara göre yüksekti ($p < 0.05$). Aynı şekilde oleuropeinin yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların ALT seviyeleri (sırasıyla 147.00 ± 16.32 ve 281.00 ± 37.29 U/L) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Oleuropein uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden grubun ALT seviyesi oleuropein uygulamasının düşük dozunu ihtiva eden grupla kıyaslandığında daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların ALT seviyeleri birbirine yakındı ($p > 0.05$). Aynı şekilde oleuropein ve oleuropein emülsiyonunun düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların ALT seviyeleri arasında da anlamlı fark gözlenmedi. Bu istatistiki değerlendirmede anlamlı değildi ($p > 0.05$).

4.6.4. Grupların SOD Aktiviteleri, GSH ve MDA Seviyeleri

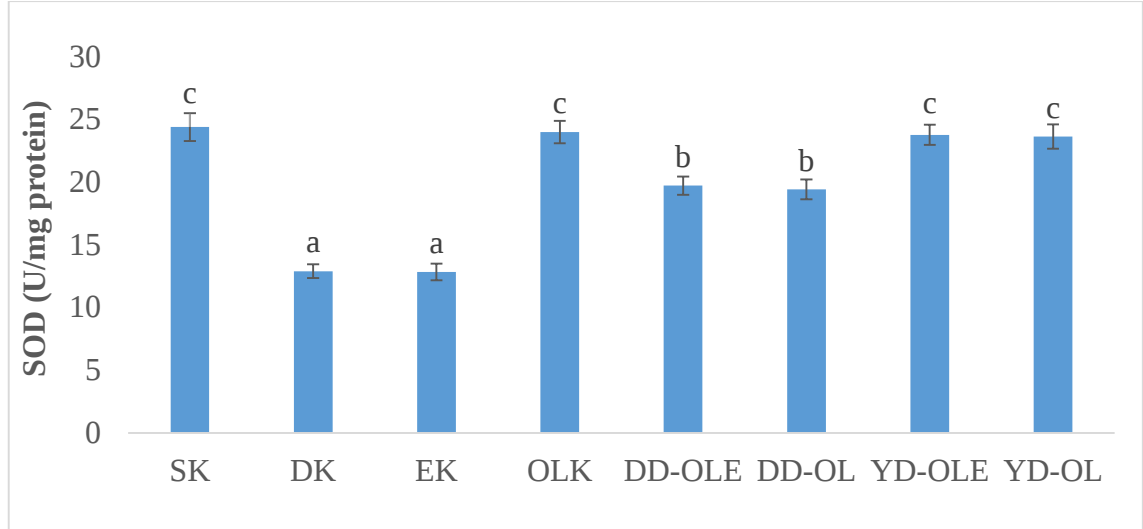
Tablo 4.4 kontrol gruplarının ve oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonların oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların SOD aktivitelerini, GSH ve MDA seviyelerini göstermektedir.

Tablo 4.4. Konrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası SOD aktiviteleri, GSH ve MDA seviyeleri

Gruplar	Doz (mg/kg)	n	SOD (U/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
SK		5	24.37±1.12 ^c	4.61±0.18 ^c	1.62±0.07 ^a
DK		5	12.89±0.56 ^a	1.96±0.10 ^a	4.17±0.16 ^c
EK		5	12.83±0.67 ^a	1.98±0.09 ^a	4.11±0.15 ^c
OLK	225	5	23.98±0.89 ^c	4.61±0.16 ^c	1.63±0.09 ^a
DD-OLE	150	5	19.71±0.73 ^b	3.64±0.14 ^b	2.98±0.09 ^b
DD-OL	150	5	19.40±0.79 ^b	3.49±0.16 ^b	3.05±0.13 ^b
YD-OLE	225	5	23.76±0.80 ^c	4.46±0.17 ^c	1.71±0.10 ^a
YD-OL	225	5	23.62±0.97 ^c	4.33±0.17 ^c	1.76±0.10 ^a

Sonuçlar, ölçümün ortalaması (ortalama±SD) olarak gösterildi. İstatistiki değerlendirme p<0.05 düzeyinde önemli kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı. SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların SOD aktiviteleri Şekil 4.8’de gösterilmektedir.



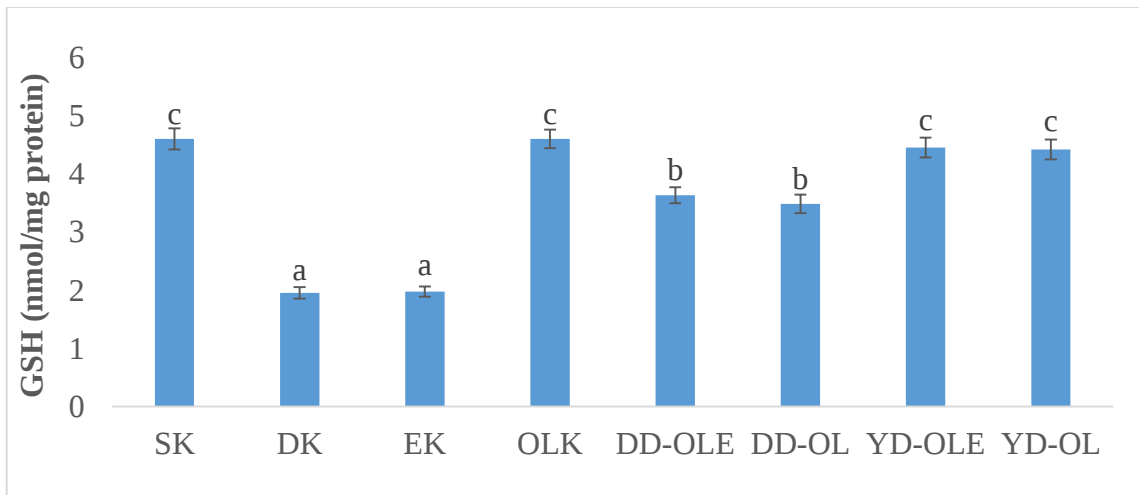
Şekil 4.8. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası SOD aktiviteleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarındaki sıçanların SOD aktiviteleri (sırasıyla 12.89 ± 0.56 ve 12.83 ± 0.67 U/mg protein) birbirine yakındı ($p > 0.05$). Diyabetik kontrol grubundaki sıçanların SOD aktiviteleri sağlıklı kontrol grubundaki sıçanların ve sadece yüksek dozda oleuropein verilen gruptaki sağlıklı sıçanların SOD aktivitelerine (sırasıyla 24.37 ± 1.12 ve 23.98 ± 0.89 U/mg protein) kıyasla düşük bulundu (Tüm parametreler için $p < 0.05$). Oleuropein içeren emülsiyonun yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların SOD aktiviteleri (sırasıyla 23.76 ± 0.80 ve 19.71 ± 0.73 U/mg protein) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla yüksek bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamasının düşük doz

uygulamasına kıyasla daha etkili olduğu belirlendi ($p<0.05$). Hatta oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulaması ile tedavi edilen grubun SOD aktivitesinin normal değerlere yakın olduğu görüldü. Aynı şekilde oleuropeinin yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların SOD aktiviteleri (sırasıyla 23.62 ± 0.97 ve 19.40 ± 0.79 U/mg protein) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla daha yüksekti ($p<0.05$). Oleuropein uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden grubun SOD aktivitesi oleuropein uygulamasının düşük dozunu ihtiva eden gruba kıyaslandığında daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların SOD aktiviteleri birbirine yakındı ($p>0.05$). Aynı şekilde düşük dozdaki uygulamalar ile tedavi edilen sıçanların SOD aktiviteleri birbirine yakındı ($p>0.05$).

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların GSH seviyeleri Şekil 4.9'da gösterilmektedir.

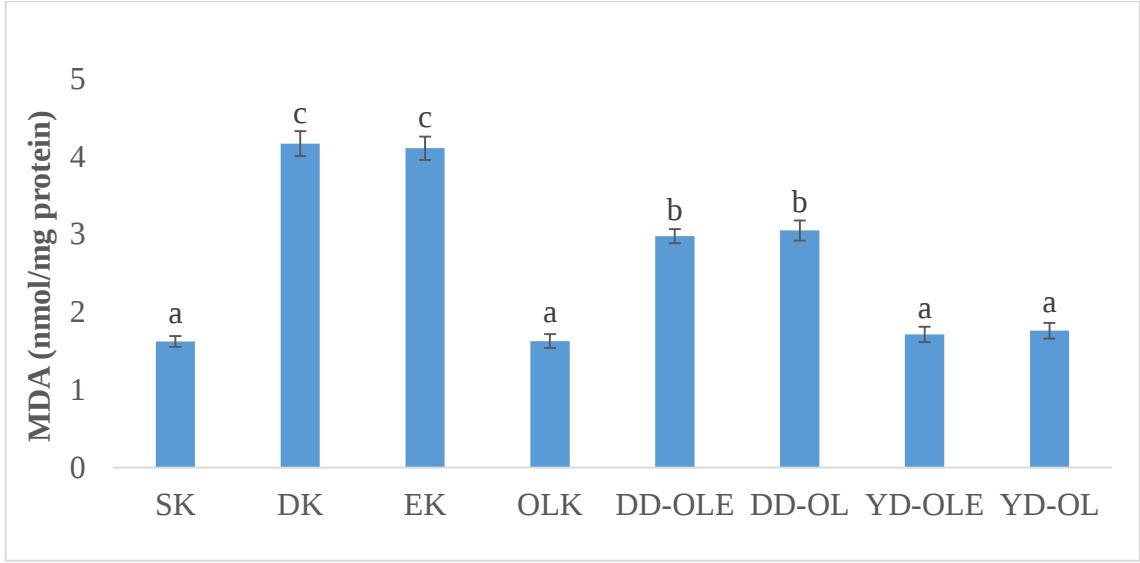


Şekil 4.9. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası GSH seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarındaki sıçanların GSH seviyeleri (sırasıyla 1.96 ± 0.10 ve 1.98 ± 0.09 nmol/mg protein) arasında anlamlı bir fark yoktu. Bu istatistiki değerlendirmede anlamlı değildi ($p > 0.05$). Diyabetik kontrol gruptaki sıçanların GSH seviyesi sağlıklı kontrol grubundaki sıçanların ve yüksek dozda oleuropein verilen gruptaki sağlıklı sıçanların GSH seviyelerine (sırasıyla 4.61 ± 0.18 ve 4.61 ± 0.16 nmol/mg protein) kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$). İki farklı dozdaki oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyon uygulamalarından sonra, diyabetik sıçanların GSH seviyelerinde ($p < 0.05$) önemli bir artma oldu. Oleuropein içeren emülsiyonun yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların GSH seviyeleri (sırasıyla 4.46 ± 0.17 ve 3.64 ± 0.14 nmol/mg protein) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla yüksek bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamasının düşük doz uygulamasına kıyasla daha etkili olduğu belirlendi ($p < 0.05$). Hatta oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamasının GSH seviyelerinin normal değerlere yakın olduğu görüldü. Aynı şekilde oleuropeinin yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların GSH seviyeleri (sırasıyla 4.33 ± 0.17 ve 3.49 ± 0.16 nmol/mg protein) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla yüksek bulundu ($p < 0.05$). Oleuropein uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden grubun GSH seviyesi oleuropein uygulamasının düşük dozunu ihtiva eden gruba kıyasla yüksek bulundu ($p < 0.05$). Oleuropein içeren emülsiyon uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden grubun GSH seviyesi oleuropein uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden gruba kıyasla yüksekti. Bu istatistiki değerlendirmede anlamlı değildi ($p > 0.05$). Düşük dozdaki uygulamalar ile tedavi edilen grupların GSH seviyeleri birbirine yakındı ($p > 0.05$).

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların MDA seviyeleri Şekil 4.10'da gösterilmektedir.



Şekil 4.10. Konrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası MDA seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, OLK: Yüksek dozda oleuropein uygulanan sağlıklı kontrol grubu, DD-OLE: Düşük dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-OL: Düşük dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OLE: Yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-OL: Yüksek dozda oleuropeinin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

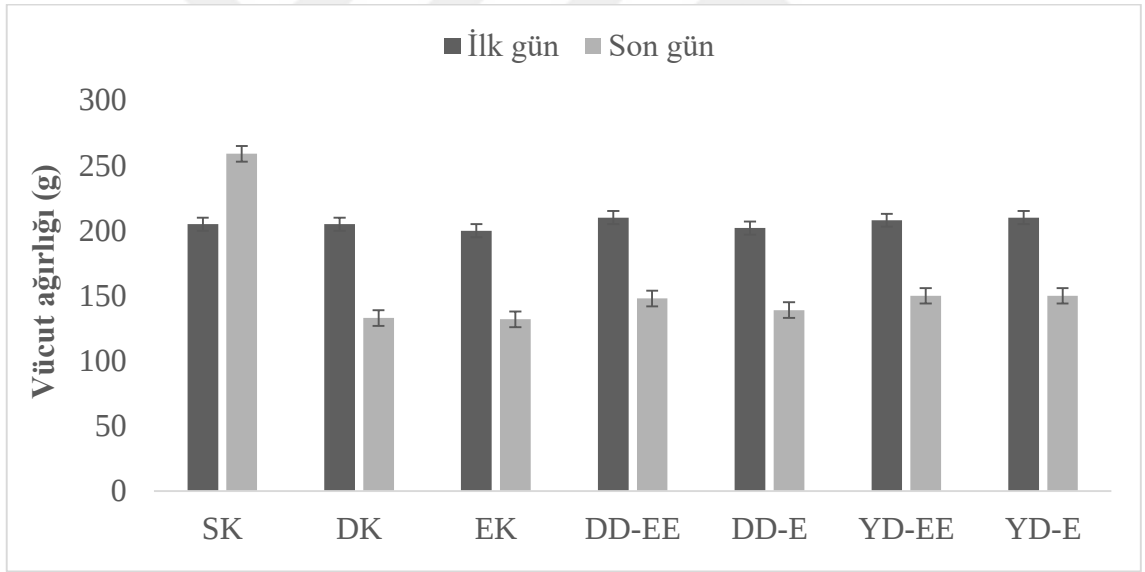
Diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarının MDA seviyeleri (sırasıyla 4.17 ± 0.16 ve 4.11 ± 0.15 nmol/mg protein) birbirine yakındı ($p > 0.05$). Diyabetik kontrol grubunun MDA seviyesi sağlıklı kontrol grubuna ve yüksek doz oleuropein verilen kontrol grubuna (sırasıyla 1.62 ± 0.07 ve 1.63 ± 0.09 nmol /mg protein) kıyasla yüksek bulundu ($p < 0.05$). Bu yükselme oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyon varlığında restore edildi. Oleuropein içeren emülsiyonun yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen grupların MDA seviyeleri (sırasıyla 1.71 ± 0.10 ve 2.98 ± 0.09 nmol /mg protein) diyabetik kontrol grubuna kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamasının düşük doz uygulamasına göre daha etkili olduğu belirlendi ($p < 0.05$). Hatta oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamasının MDA seviyesinin normal değerlere yakın olduğu görüldü. Aynı şekilde oleuropeinin yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen grupların MDA seviyeleri (sırasıyla 1.76 ± 0.10 ve 3.05 ± 0.13 nmol /mg protein) diyabetik kontrol grubuna

kıyasla düşük bulundu ($p<0.05$). Oleuropein uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden grubun MDA seviyesi düşük dozunu ihtiva eden grupla kıyaslandığında düşük bulundu ($p<0.05$). Oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen grupların MDA seviyeleri birbirine yakındı ($p>0.05$). Ayrıca oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen grupların MDA seviyeleri birbirine yakındı ve istatistiki değerlendirmede anlamlı değildi ($p>0.05$).

4.7. Ekstrenin ve Ekstre İçeren Emülsiyonun Sıçanlar Üzerine Etkisi

4.7.1. Sıçanların Ağırlıkları

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların vücut ağırlıkları Şekil 4.11’de gösterilmektedir.



Şekil 4.11. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası vücut ağırlıkları

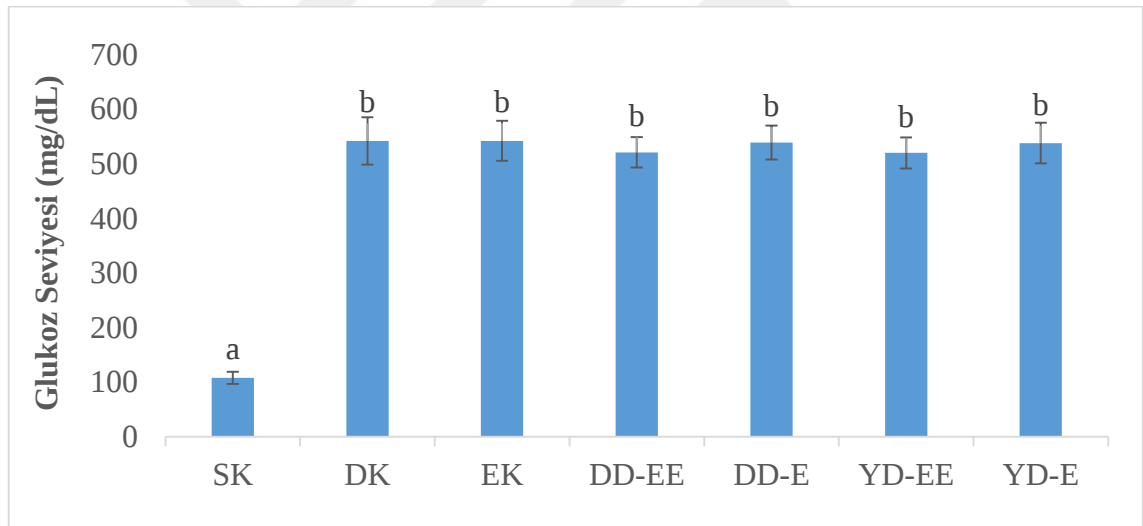
SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Deneyin ilk gününde sıçanların vücut ağırlıkları not edildi. Deneyin sonunda sağlıklı kontrol grubundaki sıçanların vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir

artış gözlenirken, diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarının vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($p<0.05$). Yüksek dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmasından sonra sıçanların vücut ağırlıklarındaki düşüş diyabetik kontrol grubundaki sıçanların vücut ağırlıklarındaki düşüşe kıyasla daha azdı fakat bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Düşük doz uygulamalarından sonra sıçanların vücut ağırlıklarında herhangi bir artma gözlenmedi.

4.7.2. Grupların Kan Glukoz Seviyeleri

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların kan glukoz seviyeleri Şekil 4.12’de gösterilmektedir.



Şekil 4.12. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası kan glukoz seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Emülsiyon kontrol ve diyabetik kontrol gruplarındaki sıçanların kan glukoz seviyeleri (sırasıyla 541.6 ± 36.6 ve 541.8 ± 43.4 mg/dL) birbirine yakındı ($p>0.05$). Sağlıklı kontrol grubundaki sıçanların kan glukoz seviyeleri (108.0 ± 11.1 mg/dL)

diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla daha düşük bulundu. Bu istatistiki değeriendirmede anlamlıydı ($p<0.05$).

Ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun yüksek ve düşük doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların kan glukoz seviyelerinde herhangi bir düşme gözlenmedi ($p>0.05$). Ekstrenin düşük ve yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen diyabetik grupların glukoz seviyeleri sırasıyla 539.4 ± 31.15 ve 538.0 ± 37.3 mg/dL olduğu tespit edildi. Ekstre içeren emülsiyonun düşük ve yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen diyabetik grupların glukoz seviyeleri 521.4 ± 27.77 ve 520.0 ± 28.58 mg/dL olarak tespit edildi.

4.7.3. Grupların AST and ALT Seviyeleri

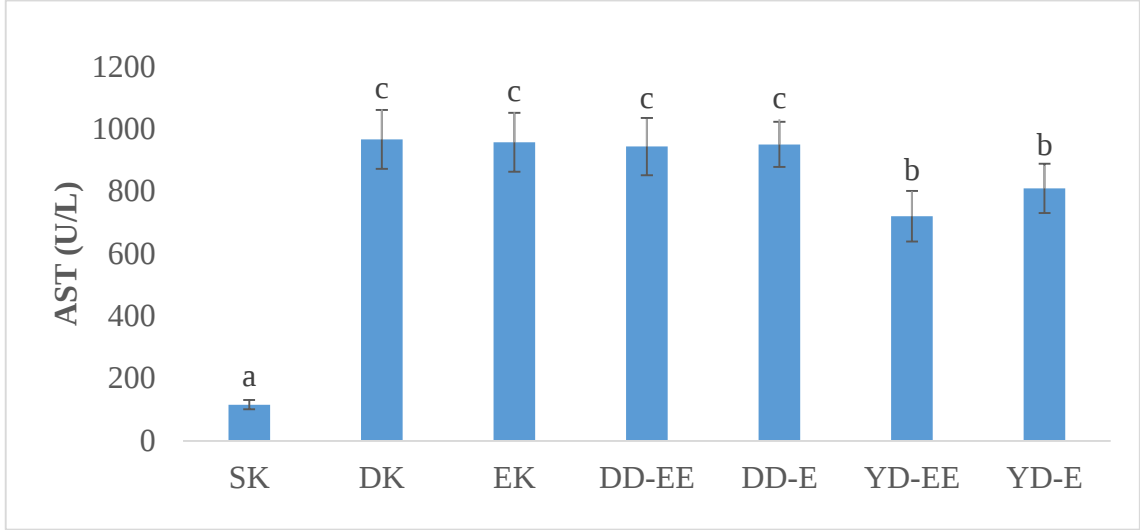
Tablo 4.5 kontrol gruplarının ve iki farklı dozdağı ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların AST ve ALT seviyelerini göstermektedir.

Tablo 4.5. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozdağı ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası AST ve ALT seviyeleri

Gruplar	Doz (mg/kg)	n	AST (U/L)	ALT (U/L)
SK		5	116.00 ± 15.30^a	49.40 ± 7.73^a
DK		5	966.20 ± 94.55^c	472.60 ± 58.93^c
EK		5	957.20 ± 94.79^c	465.40 ± 49.05^c
DD-EE	330	5	943.40 ± 91.64^c	439.60 ± 54.24^c
DD-E	330	5	950.20 ± 72.25^c	441.80 ± 57.22^c
YD-EE	500	5	720.00 ± 81.23^b	343.00 ± 46.93^b
YD-E	500	5	809.60 ± 79.28^b	366.20 ± 42.46^b

Sonuçlar, ölçümün ortalaması (ortalama $\pm$ SD) olarak gösterildi. İstatistiki değeriendirme $p<0.05$ düzeyinde önemli kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı. SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozdağı ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozdağı ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozdağı ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozdağı ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların AST seviyeleri Şekil 4.13’de gösterilmektedir.



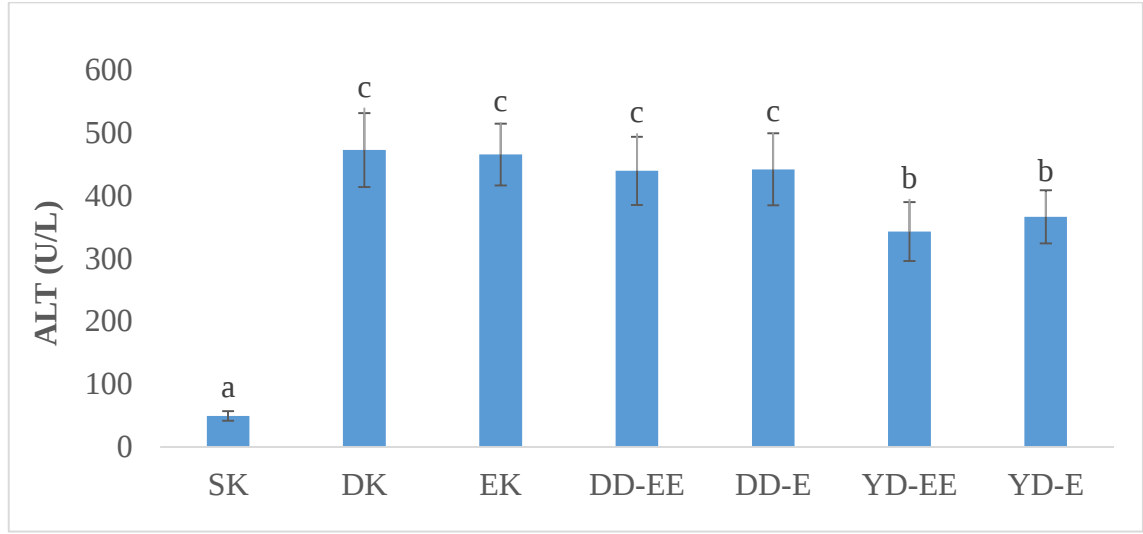
Şekil 4.13. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası AST seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Deney sonunda diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarındaki sıçanların AST seviyeleri (sırasıyla 966.20 ± 94.55 ve 957.20 ± 94.79 U/L) birbirine yakındı ($p > 0.05$). Sağlıklı kontrol grubundaki sıçanların AST seviyeleri (116.00 ± 15.30 U/L) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$). Ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların AST seviyeleri (sırasıyla 809.60 ± 79.28 ve 720.00 ± 81.23 U/L) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$). Fakat bu düşme normal değerlere yakın değildi. Ayrıca ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun yüksek dozdaki uygulamalarının AST seviyeleri birbirine yakındı ($p > 0.05$). Ekstre içeren emülsiyonun düşük dozunu ihtiva eden grubun AST seviyesi (943.40 ± 91.64 U/L) ekstre içeren emülsiyonun yüksek dozunu ihtiva eden grubun AST seviyesine (720.00 ± 81.23 U/L) göre yüksek bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca ekstre

ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulamalarının düşük dozunu ihtiva eden grupların AST seviyeleri arasında (950.20 ± 72.25 ve 943.40 ± 91.64 U/L) anlamlı bir fark yoktu ve bu grupların AST seviyeleri birbirine çok yakındı ($p > 0.05$).

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların ALT seviyeleri Şekil 4.14’de gösterilmektedir.



Şekil 4.14. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası ALT seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarındaki sıçanların ALT seviyeleri (sırasıyla 472.60 ± 58.93 ve 465.40 ± 49.05 U/L) birbirine yakındı. Bu istatistiki değerlendirmede anlamlı değildi ($p > 0.05$). Sağlıklı kontrol grubundaki sıçanların ALT seviyeleri (49.40 ± 7.73 U/L) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$).

Ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen sıçanların ALT seviyeleri (sırasıyla 366.20 ± 42.46 ve 343.00 ± 46.93 U/L) diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla düşük bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca yüksek dozdaki

uygulamalarının ALT seviyeleri birbirine yakındı ($p>0.05$). Ekstre içeren emülsiyonun düşük dozunu ihtiva eden grubun ALT seviyesi (439.60 ± 54.24 U/L) ekstre içeren emülsiyonun yüksek dozunu ihtiva eden grubun ALT seviyesine (343.00 ± 46.93 U/L) göre yüksek bulundu ($p<0.05$). Ayrıca ekstre ve ekstre emülsiyonu uygulamalarının düşük dozunu ihtiva eden grupların ALT seviyeleri arasında (sırasıyla 441.80 ± 57.22 ve 439.60 ± 54.24 U/L) anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$).

4.7.4. Grupların SOD aktiviteleri, GSH ve MDA seviyeleri

Tablo 4.6 kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların SOD aktivitelerini, GSH ve MDA seviyelerini göstermektedir.

Tablo 4.6. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası SOD aktiviteleri, GSH ve MDA seviyeleri

Gruplar	Doz (mg/kg)	n	SOD (U/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
SK		5	25.39 ± 1.52^c	4.68 ± 0.15^c	1.69 ± 0.07^a
DK		5	12.94 ± 0.86^a	1.96 ± 0.10^a	4.29 ± 0.18^c
EK		5	12.52 ± 1.09^a	2.00 ± 0.09^a	4.30 ± 0.12^c
DD-EE	330	5	13.83 ± 0.79^a	2.11 ± 0.12^a	4.14 ± 0.13^c
DD-E	330	5	13.56 ± 0.49^a	2.09 ± 0.16^a	4.17 ± 0.13^c
YD-EE	500	5	16.56 ± 0.90^b	3.17 ± 0.13^b	3.18 ± 0.12^b
YD-E	500	5	15.96 ± 1.00^b	3.03 ± 0.12^b	3.23 ± 0.14^b

Sonuçlar, ölçümün ortalaması (ortalama $\pm$ SD) olarak gösterildi. İstatistiki değerlendirme $p<0.05$ düzeyinde önemli kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı. SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların SOD aktiviteleri Şekil 4.15’de gösterilmektedir.



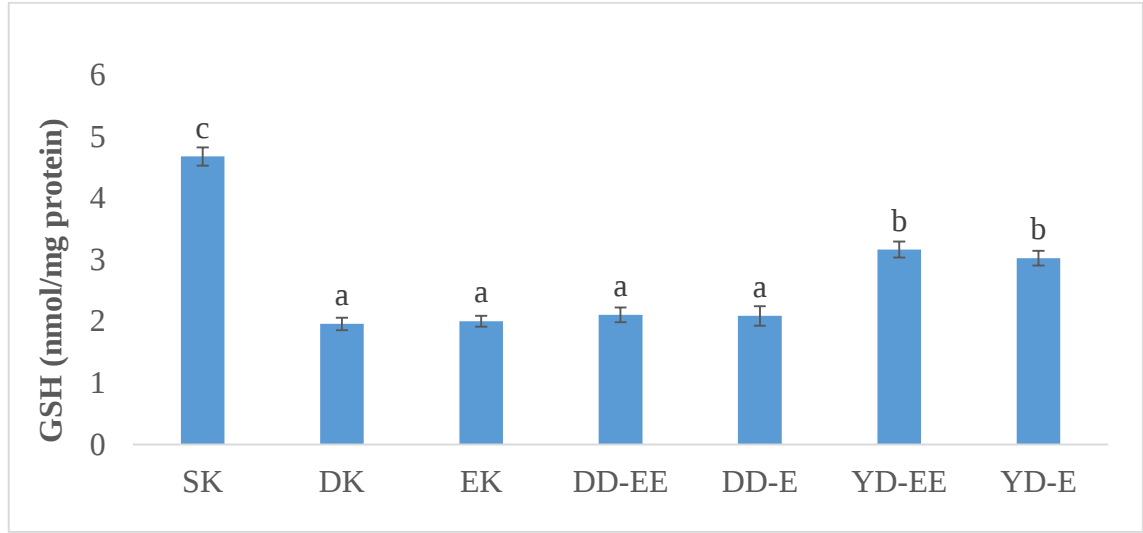
Şekil 4.15. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası SOD aktiviteleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Deneyin sonunda diyabetik kontrol ve emülsiyon kontrol gruplarının SOD aktiviteleri (sırasıyla 12.94 ± 0.86 ve 12.52 ± 1.09 U/mg protein) birbirine yakındı ($p > 0.05$). Diyabetik kontrol grubunun SOD aktivitesi sağlıklı kontrol grubunun SOD aktivitesine (25.39 ± 1.52 U/mg protein) kıyasla daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Bu düşmenin ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamaları ile yükseldiği gözlemlendi ($p < 0.05$). Fakat bu oranlar normal değerlere yakın değildi. Ayrıca bu iki grubun SOD aktiviteleri birbirine yakındı ve bu istatistiki değerlendirmede anlamlı değildi ($p > 0.05$). Ekstre uygulamasının yüksek dozu ile tedavi edilen diyabetli grubun SOD aktivitesinin 15.96 ± 1.00 U/mg protein ve ekstre içeren emülsiyonun yüksek dozu ile tedavi edilen diyabetli grubun SOD aktivitesinin 16.56 ± 0.90 U/mg protein olduğu tespit edildi. Ekstre içeren emülsiyonun oral uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden grubun SOD aktivitesinin (16.56 ± 0.90 U/mg protein) ekstre içeren emülsiyonun oral uygulamasının düşük dozunu ihtiva eden grubun SOD aktivitesine (13.83 ± 0.79 U/mg protein) kıyasla yüksek bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral

uygulamalarının düşük dozunu ihtiva eden grupların SOD aktiviteleri arasında (sırasıyla 13.56 ± 0.49 ve 13.83 ± 0.79 U/mg protein) anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$).

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların GSH seviyeleri Şekil 4.16’da gösterilmektedir.



Şekil 4.16. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstre ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası GSH seviyeleri

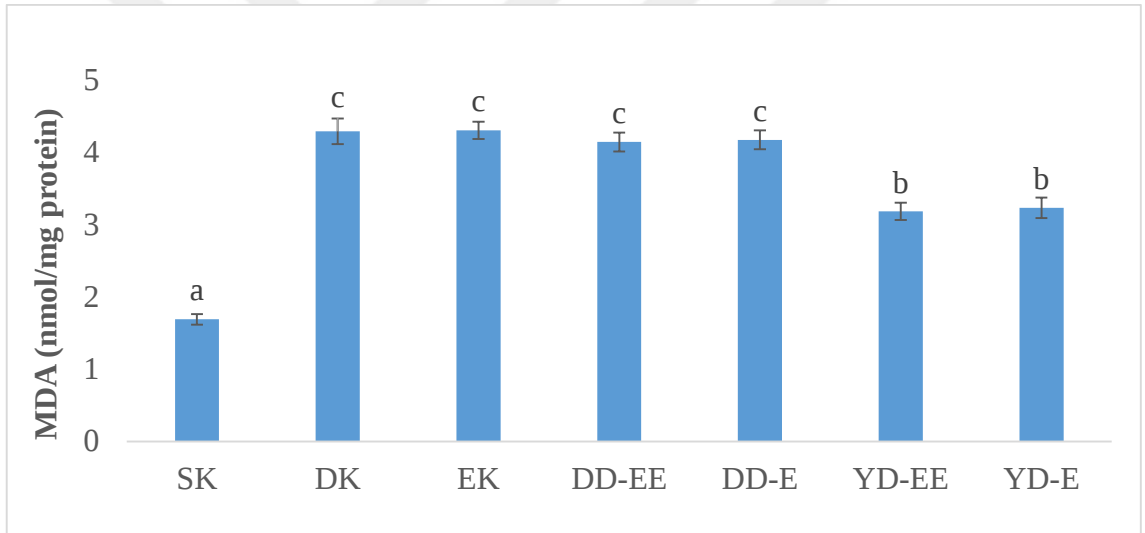
SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Deneyin sonunda emülsiyon kontrol ve diyabetik kontrol gruplarının GSH seviyeleri (sırasıyla 2.00 ± 0.09 ve 1.96 ± 0.10 nmol/mg protein) birbirine yakındı ($p > 0.05$).

Diyabetik kontrol grubunun GSH seviyesi sağlıklı kontrol grubunun GSH seviyesine (4.68 ± 0.15 nmol/mg protein) kıyasla daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Bu düşmenin ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamaları ile tedavi edilen diyabetli gruplarda belli bir orana kadar yükseldiği gözlemlendi ($p < 0.05$). Fakat bu oran normal değerlere yakın değildi. Ayrıca bu iki grubun GSH seviyeleri de birbirine yakındı ($p > 0.05$). Ekstre uygulamasının yüksek dozunu ihtiva eden diyabetli grubun GSH seviyesinin 3.03 ± 0.12 nmol/mg protein ve ekstre içeren emülsiyonun yüksek dozunu

ihativa eden diyabetli grubun ise GSH seviyesinin 3.17 ± 0.13 nmol/mg protein olduğu tespit edildi. Ekstre içeren emülsiyonun yüksek dozu ile tedavi edilen grubun GSH seviyesi (3.17 ± 0.13 nmol/mg protein) ekstre içeren emülsiyonun düşük dozu ile tedavi edilen grubun GSH seviyesine (2.11 ± 0.12 nmol/mg protein) kıyasla yüksek bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca ekstre ve ekstre içeren emülsiyon uygulamalarının düşük dozunu ihtiva eden grupların GSH seviyeleri arasında (sırasıyla 2.09 ± 0.16 ve 2.11 ± 0.12 nmol/mg protein) anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$).

Kontrol gruplarının ve iki farklı dozdaki ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanmaları ile tedavi edilen grupların MDA seviyeleri Şekil 4.17’de gösterilmektedir.



Şekil 4.17. Kontrol gruplarının, düşük ve yüksek dozda ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyon formülasyonlarının oral uygulaması sonrası MDA seviyeleri

SK: Sağlıklı kontrol grubu, DK: Diyabetik kontrol grubu, EK: Emülsiyon kontrol grubu, DD-EE: Düşük dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, DD-E: Düşük dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-EE: Yüksek dozda ekstre içeren emülsiyonun oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup, YD-E: Yüksek dozda ekstrenin oral uygulanması ile tedavi edilen diyabetik grup

Emülsiyon kontrol ve diyabetik kontrol gruplarının MDA seviyeleri (sırasıyla 4.30 ± 0.12 ve 4.29 ± 0.18 nmol/mg protein) birbirine yakındı ($p > 0.05$). Ekstre ve ekstre içeren emülsiyon uygulamalarının yüksek dozunu ihtiva eden grupların MDA seviyeleri (sırasıyla 3.23 ± 0.14 ve 3.18 ± 0.12 nmol/mg protein) diyabetik kontrol grubuna göre

düşüktü ($p<0.05$). Fakat bu düşme sağlıklı kontrol grubunun MDA seviyesine (1.69 ± 0.07 nmol/mg protein) yakın değildi ($p<0.05$).

Ayrıca yüksek dozdaki uygulamaların MDA seviyeleri birbirine yakındı ve istatistiki değerlendirmede anlamlı değildi ($p>0.05$). Emülsiyon formülasyonunun düşük dozunu ihtiva eden grubun MDA seviyesinin (4.14 ± 0.13 nmol/mg protein) emülsiyon formülasyonunun yüksek dozunu ihtiva eden gruba kıyasla yüksek bulundu ($p<0.05$). Ekstre ve ekstre içeren emülsiyonun düşük doz uygulamalarının MDA seviyeleri (sırasıyla 4.17 ± 0.13 ve 4.14 ± 0.13 nmol/mg protein) birbirine yakındı ve istatistiki değerlendirmede anlamlı değildi ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

DM, uzun yıllardır bilinmesine rağmen kesin tedavi yönteminin henüz geliştirilememiş olması ve görülme sıklığının fazla olması onu çekici bir araştırma konusu yapmaktadır. Diyabetik bireylerde serbest oksijen radikallerinin ve LPO'nun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bilinmektedir.⁴ Diyabetik şartlar altında LPO ve doku antioksidan durumu önemli ölçüde değişmektedir.⁵⁷ Bu çalışmada bu değişimleri gözlemlemek ve diyabette oksidatif stresin rolünü değerlendirmek amacıyla öncelikle sıçanlarda deneysel diyabet modeli oluşturduk.

Deneysel diyabet modeli maymun, domuz, kedi ve köpek gibi hayvanların yanı sıra fare, sıçan ve tavşan gibi kemirgenlerin kullanıldığı bir modeldir.^{3, 16, 121-124} Diyabet cerrahi, farmakolojik ve genetik yöntemlerle oluşturulabilmektedir. Bunlar arasında en sık kullanılan yöntem STZ ve alloksan gibi kimyasal ajanların kullanıldığı farmakolojik yöntemdir. STZ uygulaması ile sıçanlarda deneysel diyabetin oluşturulması yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. STZ indüksiyonu ile sıçanlar kontrolsüz şeker hastalığı olan insanlarda görülen özelliklerin çoğunu gösterir ve kronik diyabet komplikasyonlarına yol açan patofizyolojik değişimler hakkında araştırmacıya değerli bilgiler sağlar.^{125, 126} Biz de çalışmamızda STZ'nin intraperitoneal enjeksiyonu ile sıçanlarda diyabet modeli oluşturduk. STZ uygulaması ile sıçanlarda diyabet modeli oluşturulması ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır.

Mostafavinia ve ark.¹²⁷ farklı dozlarda STZ kullanarak sıçanlarda diyabet modeli oluşturmak için en uygun dozun 40 mg/kg olduğunu ileri sürmüşlerdir. Fakat başka bir çalışmada sıçanlarda diyabet modeli oluşturmak amacıyla STZ'nin 40 mg/kg ve daha düşük dozlarının tek doz intraperitoneal uygulamalarının yetersiz olduğu bildirilmektedir.¹⁰⁷ Nagarchi ve ark.¹²⁸ yapmış oldukları çalışmada sıçanlarda STZ'nin

intraperitoneal uygulamaları için en uygun dozunun 50 mg/kg olduğunu ve bu uygulama ile sıçanların kan glukoz seviyesinin 300 mg/dL'nin üzerinde olduğunu belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada Gokhan ve ark.¹²⁹ 50 mg/kg dozda STZ çözeltisinin intraperitoneal uygulanımı ile sıçanlarda diyabet modeli oluşturmuş ve STZ uygulamasından 96 saat sonra açlık kan şekeri 250 mg/dL'nin üzerinde olan sıçanları diyabetik olarak kabul etmişlerdir. Zhang ve ark.¹³⁰ yapmış oldukları çalışmada 60 mg/kg dozda STZ çözeltisinin intraperitoneal uygulanımı ile sıçanlarda diyabet modeli oluşturmuş ve STZ uygulamasından 48 saat sonra tokluk kan şekeri 300 mg/dL'nin üzerinde olan sıçanları diyabetik olarak kabul etmişlerdir. Biz de yapmış olduğumuz çalışmada sitrat tamponu içinde taze hazırlanmış 50 mg/kg STZ monohidrat çözeltisinin tek doz intraperitoneal enjeksiyonu ile sıçanlarda diyabet modeli oluşturduk ve çalışmamızda STZ uygulamasından 72 saat sonra tokluk kan glukoz seviyesi 300 mg/dL ve üzerinde olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Diyabetle ilişkili olan oksidatif strese dolaylı olarak karaciğer, böbrek, kalp ve kan damarları gibi birçok dokuda SOD, GSH-Px, CAT, GSH ve LPO'da artmanın veya azalmanın olduğunu gösteren veriler literatürde mevcuttur.^{3, 57, 131, 132} Aynı şekilde biz de yapmış olduğumuz çalışmada sağlıklı sıçanlara kıyasla diyabetik sıçanların SOD aktivitelerinde ve GSH seviyelerinde önemli bir azalma ve MDA seviyelerinde ise önemli bir artma gözlemledik. Ayrıca diyabetik sıçanların AST ve ALT seviyelerinde anlamlı bir artışın olduğunu tespit ettik. Sıçanlardan alınan karaciğer dokularında SOD aktivitelerindeki, GSH ve MDA seviyelerindeki değişimleri incelemek ve sıçanlardan alınan kan örneklerinde AST ve ALT seviyelerindeki değişimleri gözlemlemek amacıyla zeytin yaprağı etanol ekstresinin ve bu ekstreden izole ettiğimiz oleuropeinin emülsiyon formülasyonlarının diyabetik sıçanlar üzerindeki etkisini inceledik.

Son zamanlarda fonksiyonel bir gıda bileşeni olan zeytin bitkisi içerdiği fenolik

bileşenler bakımından ve düşük toksisite etkisinden dolayı diyabet gibi oksidatif stresle ilişkili olan hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde birçok araştırmacı için ilgi kaynağı olmuştur. Zeytin bitkisinin bu özelliklerinin olması bu bitkinin meyvesinin, yağının ve yapraklarının içerdiği oleuropein ve hidroksitirosool gibi antioksidan bileşenlerine bağlı olduğu düşünülmektedir.³ Oleuropein zeytin yapraklarında bol miktarda bulunan fenolik bir bileşiktir.¹⁴ Zeytin yaprağının (*Olea europea L.*) ve oleuropeinin diyabet tedavisinde kullanıldığını gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur.^{3, 9, 133}

Bazı çalışmalar zeytin yaprağının ana bileşiği olan oleuropeinin antioksidan özellikte olmasının onun süperoksit anyon radikalini süpürücü etkisinden ve nötrofillerdeki solunumsal patlamanın ve hipokloröz asit türevi radikallerin inhibitörü olmasından kaynaklandığını göstermektedir.⁷ Ayrıca oleuropeinin hidroksil radikalini süpürücü bir etkiye sahip olduğu bildirilmektedir.⁹⁵

Cumaoğlu ve ark.¹³⁴ zeytin yaprağı ekstresi ve oleuropeinin H₂O₂'ye maruz kalmış hücrelerde kısmen canlılığı sağladığını, nekrotik ve apoptik ölümleri iyileştirdiğini, ROS üretimini inhibe ettiğini, insülin salımını artırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca bu hücrelerde GSH-Px ve CAT'ın azalmış aktivitelerinin geri kazanıldığını göstermişlerdir.

Oleuropeinin diyabet ve komplikasyonlarına karşı antioksidan özellikte olmasının yanı sıra glukozla uyarılan insülin salınımı etkileme potansiyelinin ve periferik glukoz alımını artırıcı etkisinin olmasından dolayı hipoglisemik aktivite gösterdiği ileri sürülmektedir.^{3, 8}

Al-Azzawie ve ark.¹⁶ zeytin yaprağının etanol ekstresinden izole ettikleri oleuropeini (20 mg/kg) alloksan ile diyabet modeli oluşturulan tavşanlara 16 hafta boyunca günlük tek doz oral yoldan uygulayarak antioksidan ve hipoglisemik etkilerini incelemişlerdir. Deney sonunda tedavi edilen diyabetik tavşanların kan glukoz seviyelerinin normal değerlere yakın olduğunu ve oleuropeinin diyabet ve hiperglisemiyi

engellediğini tespit etmişlerdir.

Nekooeian and ark.¹³⁵ yapmış oldukları çalışmada farklı dozlardaki oleuropeinin (20, 40 ve 60 mg/kg) tip 2 diyabetli sıçanlar üzerindeki etkisini incelemiş ve oleuropeinin kan şekerini düşürücü etkisini gösteren bulgular ortaya koymuşlardır.

Eidi ve ark.⁹ yapmış oldukları çalışmada zeytin yaprağının etanol ekstresininin farklı dozlarını (0.1, 0.25 ve 0.5 g/kg) STZ ile diyabet modeli oluşturulan sıçanlara 14 gün boyunca günlük tek doz oral yoldan uygulayarak ekstrenin antidiyabetik etkisini incelemişlerdir. Zeytin yaprağının alkol ekstresinin yüksek doz uygulaması ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda glukoz, AST ve ALT seviyelerinin düştüğünü tespit etmişlerdir. Bunun aksine Onderoglu ve ark.¹²⁶ zeytin yaprağını (5 g) kaynamış suda (100 mL) 15 dk beklettikten sonra süzmüşler ve elde ettikleri ekstreyi 12 hafta boyunca STZ ile diyabet modeli oluşturulan sıçanlara uygulamışlardır. Deney sonunda tedavi edilen sıçanların AST ve ALT seviyelerinde önemli bir düşme olmasına rağmen, ekstrenin tedavi edilen sıçanlarda kan glukoz seviyelerini düşürmediğini gözlemlemişlerdir. Biz de yapmış olduğumuz çalışmada zeytin yaprağı ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyonun her iki dozunun oral uygulaması ile tedavi edilen diyabetik sıçanların glukoz seviyelerinde herhangi bir azalmanın olmadığını gözlemledik. Bunun aksine oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulamalarının tedavi edilen diyabetik sıçanların glukoz seviyelerinde önemli bir düşüşe sebep olduğunu tespit ettik.

Jamai ve ark.³ zeytin yaprağının etanol ekstresinden hazırlamış oldukları oleuropeince zengin ekstreyi ve oleuropeinin hidroliz ürünü olan hidroksitirosolce zengin ekstreyi diyabetik sıçanlara 4 hafta boyunca oral yoldan uygulayarak bu biyoaktif bileşenlerin antioksidan ve antidiyabetik etkilerini incelemişlerdir. Oleuropeinin (16 mg/kg) ve hidroksitirosolün (16 mg/kg) alloksanla diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda kan şekerini düşürdüklerini bildirmişlerdir. Tedaviden sonra diyabetik sıçanların TBARS

seviyelerinde önemli bir düşme ve SOD ve CAT aktivitelerinde önemli bir artma gözlemlenmiştir.

Biz de daha önce yaptığımız bir çalışmada zeytin yaprağının etanol ekstresinin farklı dozlarını (sırasıyla 0.25 ve 0.50 g/kg) STZ ile diyabet modeli oluşturduğumuz sıçanlara 14 gün boyunca günde tek sefer oral yoldan uyguladık. Uygulamadan sonra tedavi edilen diyabetik sıçanların AST, ALT ve ALP seviyelerinde önemli bir azalmanın olduğunu tespit ettik. Ayrıca tedavi edilen diyabetik sıçanların GSH-Px seviyelerinde önemli bir artış gözlenirken, MDA seviyelerinde önemli bir azalmanın olduğunu tespit ettik. Sıçanların SOD aktivitelerinde ise istatistiki değerlendirmede anlamlı bir farkın olmadığını gözlemledik.¹¹²

Daha önce yapmış olduğumuz bu çalışmayı ve literatürde mevcut olan çalışmaları dikkate alarak zeytin yaprağı etanol ekstresinin uygulanma dozlarını belirledik. Ekstre ve ekstre içeren emülsiyon için 330 ve 500 mg/kg dozlarının uygun olacağını düşündük. Ayrıca deneye başlamadan önce bu ekstreten izole edilen oleuropeinin uygulanma dozunu belirlemek için ön çalışma yaptık. Bunun için öncelikle oleuropeinin farklı dozlarını (20, 40, 60, 100, 150 ve 225 mg/kg) diyabetik sıçanlara oral yoldan uyguladık. Yapmış olduğumuz bu ön çalışmaya göre oleuropein ve oleuropein içeren emülsiyon için 150 ve 225 mg/kg dozlarının uygun olacağını düşündük.

Zeytin yaprağı ekstresinin büyük bir pazarı olmasına rağmen, oleuropein gibi ana fenollerinin sindirimden sonra emilimini ve metabolizmasını inceleyen sınırlı sayıda literatür bilgisi vardır.²⁷ Gıda olarak doğrudan tüketilen oleuropeinin ağızda hoş olmayan acı-buruk bir tat bırakması,⁸⁷ sindirim sırasında oksidasyon ve enzimatik reaksiyonlara karşı duyarlı olmasından dolayı onun emülsiyon sistemlerindeki yerini ve önemini kat kat artırmaktadır.²⁴

Zeytin yaprağının ve oleuropeinin antidiyabetik,^{3, 6, 9} antioksidan¹⁶ ve

hipoglisemik¹⁶ etkilerini araştıran birçok çalışma olmasına rağmen, zeytin yaprağının alkol ekstresinin ve bundan izole edilen oleuropeinin emülsiyon formülasyonlarının normal ve diyabetik sıçanlar üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmaya ulaşılamadık. Bu yüzden bu araştırmanın yapılmasını gerekli gördük.

Markopoulos ve ark.²³ oral yoldan alınan oleuropeinin ince bağırsakta kaldığı sürece büyük bir kısmının bozunabileceğini ve gastro-intestinal kanalda zayıf bir biyo-hareketlilik gösterebileceğini bildirmişlerdir.

Soluem ve ark.²⁴ oral yoldan alınan oleuropeinin molekül yapısını bozmadan emilimini ve biyoyararlanımını artırmak için emülsiyon sistemlerine olan ihtiyaın önemini vurgulamışlardır.

Di Mattia ve ark.¹³⁶ oleuropeinin, hidrokstitirosol ve tirosol ile zenginleştirilmiş β -lactoglobulin ile stabilize edilmiş ve farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin ilavesi ile farklı viskozitedeki su içinde yağ emülsiyon modelinin fiziksel özelliklerini ve oksidasyon potansiyelini incelemişlerdir. Ayrıca bu fenolik bileşenlerin emülsiyon sistemlerinde radikal söndürücü etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir.

Paradiso ve ark.¹³⁷ zeytin yağının fenolik bileşenleri olan oleuropein, hidrokstitirosol ve tirosoln su içinde yağ emülsiyonunda oksidasyonu kontrol etme yeteneklerini, moleküler çevreyle etkileşimlerini ve antioksidan davranışlarını incelemişlerdir. İn vitro yöntemle gerçekleştirilen bu çalışmada oleuropeinin antioksidan bir etkiye sahip olduğunu ve emülsiyon sistemlerinde kararlılıklarını koruduklarını ve sistemin yapısını bozmadıklarını bildirmişlerdir.

Chatzidaki ve ark.²⁶ hidrokstitirosoln rezervuarı olarak emülsiyon ve mikroemülsiyon sistemlerini formüle etmişler, hidrokstitirosoln antioksidan etkisini in vitro yöntemiyle karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Her iki sistemle de hidrokstitirosoln antioksidan etkisinin olduğunu gözlemlemişler ve hidrokstitirosoln

etkili bir taşıyıcısı olarak emülsiyon sisteminin mikroemülsiyon sistemine kıyasla daha etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da zeytin yaprağının etanol ekstresinin ve bu ekstreden izole edilen oleuropeinin emülsiyon formülasyonları diyabetik sıçanlara 30 gün boyunca intragastrik gavaj yardımıyla günde tek sefer uygulandı. Deney sonunda sıçanlardan alınan kan örneklerinden glukoz, AST ve ALT değerleri, sıçanlardan alınan karaciğer dokularından ise SOD aktivitesi, GSH ve MDA seviyeleri biyokimyasal olarak incelendi. Elde ettiğimiz verilere göre, STZ uygulamasından sonra diyabet oluşturulan sıçanların GSH seviyelerinde ve SOD aktivitelerinde önemli bir azalma ve MDA seviyelerinde önemli bir artma gözlemlendi. MDA ölçümü LPO'nun değerlendirilmesi açısından önemli bir parametredir. Çünkü MDA, LPO'nun son ürünüdür.⁶³ Ayrıca diyabetik sıçanların glukoz, AST ve ALT seviyelerinde önemli bir artmanın olduğu tespit edildi. Biyokimyasal parametrelerdeki bu değişimler STZ uygulaması ile diyabet oluşturulan sıçanlarda beklenen bir durumdur. Eidi ve ark.⁹ yapmış oldukları çalışmada sağlıklı kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla diyabetik sıçanların AST ve ALT seviyelerinde önemli bir artmanın olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Jamai ve ark.³ diyabetik sıçanların SOD aktivitelerinde önemli bir artmanın ve TBARS seviyelerinde önemli bir azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir.

Literatürde var olan tüm bu bilgileri göz önünde bulundurarak yapmış olduğumuz çalışmadan elde ettiğimiz verilere göre, oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyonun iki farklı dozdaki (150 ve 225 mg/kg) uygulamalarından sonra, tedavi edilen diyabetik sıçanların GSH seviyelerinde ve SOD aktivitelerinde önemli bir artma ve MDA seviyelerinde önemli bir azalma gözlemlendi. Tedavi edilen sıçanların AST ve ALT seviyelerinde de önemli bir azalmanın olduğu belirlendi. Ayrıca yüksek dozda oleuropein (225 mg/kg) ve yüksek dozda (225 mg/kg) oleuropein içeren emülsiyonun oral

uygulamaları ile tedavi edilen diyabetik sıçanların kan glukoz seviyelerinde önemli bir düşme gözlemlendi. Hatta yüksek dozda oleuropein içeren emülsiyonun oral uygulamasının diğer uygulamalara kıyasla daha etkili olduğu tespit edildi.

Ekstre içeren emülsiyonun 500 mg/kg dozunun oral uygulamasından sonra, tedavi edilen diyabetik sıçanların GSH seviyelerinde ve SOD aktivitelerinde önemli bir artma ve MDA seviyelerinde önemli bir azalma gözlemlendi. Ayrıca AST ve ALT seviyelerinin diyabetik kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu bulundu. Fakat bu değerlerin normal değerlere yakın olmadığı tespit edildi. Ekstre içeren emülsiyonun yüksek doz (500 mg/kg) uygulamasının ekstrenin yüksek doz (500 mg/kg) uygulmasına kıyasla etkili olduğu belirlendi. Ekstrenin ve ekstre içeren emülsiyonun düşük doz (330 mg/kg) uygulamalarından sonra, diyabetik kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla tedavi edilen diyabetik sıçanların SOD aktivitelerinde, GSH ve MDA seviyelerinde anlamlı bir fark yoktu. Ayrıca düşük doz (330 mg/kg) uygulamalarından sonra, diyabetik kontrol grubundaki sıçanlar ile tedavi edilen diyabetik sıçanların glukoz, AST ve ALT seviyeleri arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Zeytin yaprağı etanol ekstresinin emülsiyon formülasyonunun yüksek doz (500 mg/kg) uygulamasının antidiyabetik etkisinin diyabetle ilişkili olan oksidatif strese karşı göstermiş olduğu antioksidan etkisinden dolayı olabileceğini ileri sürmekteyiz. Ayrıca bu ekstreden izole edilen oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamalarının (225 mg/kg) antidiyabetik etkisinin tedavi edilen diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyesini düşürmesinden dolayı hipoglisemik etkisinden ve diyabetin neden olduğu oksidatif stresi baskılayan ve zararlı etkilerini azaltan antioksidan etkisinden dolayı olabileceğini ileri sürmekteyiz. Zeytin yaprağının etanol ekstresinden izole edilen oleuropeinin ve oleuropein içeren emülsiyonun yüksek doz uygulamalarının düşük doz uygulamalarına kıyasla daha etkili olduğu kanısındayız.

Oleuropein hipoglisemik ve antioksidan etkisinden dolayı diyabet ve komplikasyonlarının tedavisinde ve önlenmesinde anahtar bir rol oynayabilir. Oleuropein diyabet gibi birçok hastalığın tedavisinde birçok araştırmaya konu ve birçok araştırmacı için ilgi kaynağı olabilir. Oleuropein gibi maddeler oral yoldan alındığında ağızda istenmeyen tat ve kokular bırakabilir, miktarları ince bağırsakta kaldığı sürece azalabilir ve gastro-intestinal yolda zayıf bir biyoyararlanım gösterebilirler. Bu hoş olmayan durumlar özellikle bebekler ve çocuklar tarafından kullanımını sınırlayabilir. Bu yüzden bu maddelerin istenmeyen özelliklerinin giderilmesi ve oleuropeinin etkinliğinin korunması açısından emülsiyon sistemlerinin faydalı olacağı kanaatindeyiz ve bu sistemlerin oral yolla kullanımlar için geliştirilmesi büyük bir önem arz etmektedir.

Diğer yandan bu çalışma dünya literatürüne ve bilimsel platforma katkıda bulunacak ve bundan sonraki çalışmalara da ışık tutacağı düşüncesindeyiz.

Zeytin yaprağından elde edilecek farklı ekstraktlar kullanılarak yaprağın antidiyabetik ve antioksidan etkileriyle ilgili çalışmalar yapılabilir. Zeytin yaprağından

farklı maddeler izole edilerek bu maddelerin emülsiyon formülasyonları hazırlanabilir ve birçok etkisi incelenebilir. Farklı emülsiyon tipleri kullanılarak oleuropeinin antidiyabetik, antioksidan ve antihiperglisemik etkileriyle ilgili yeni yaklaşımlar ortaya konabilir. Ayrıca zeytin yaprağının ve oleuropeinin farklı biyokimyasal mekanizmalar üzerindeki etkileri değerlendirilebilir ve yeni araştırmalar tasarlanabilir.

Oleuropeinin antioksidan etkileri dikkate alınarak insanların bu maddeyi güvenle tüketebilecekleri tavsiye edilebilir.



KAYNAKLAR

1. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Türkiye Diyabet Programı 2015-2020. <http://beslenme.gov.tr/content/files/diyabet/turkiyedyabetprogrami.pdf>. 1 Ocak 2017.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. <http://www.diabetesatlas.org/>. 1 Ocak 2017.
3. Jemai H, El Feki A, Sayadi S. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *J Agric Food Chem*, 2009, 57: 8798-8804.
4. Pitkänen OM, Martin JM, Hallman M, Åkerblom HK, Sariola H, Andersson SM. Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci*, 1992, 50: 335-339.
5. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, 1997, 82: 291-295.
6. El-Amin M, Virk P, Elobeid MA, Almarhoon ZM, Hassan ZK, Omer SA, Merghani NM, Daghestani MH, Al-Olayan EM. Anti-diabetic effect of *Murraya koenigii* (L) and *Olea europaea* (L) leaf extracts on streptozotocin induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci*, 2013, 26: 359-365.
7. Visioli F, Poli A, Gall C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev*, 2002, 22: 65-75.
8. Gonzalez M, Zarzuelo A, Gamez M, Utrilla M, Jimenez J, Osuna I. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med*, 1992, 58: 513-515.
9. Eidi A, Eidi M, Darzi R. Antidiabetic effect of *Olea europaea* L. in normal and diabetic rats. *Phytotherapy Res*, 2009, 23: 347-350.
10. Kaeidi A, Esmaeili-Mahani S, Sheibani V, Abbasnejad M, Rasoulilian B,

- Hajializadeh Z, Afrazi S. Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract attenuates early diabetic neuropathic pain through prevention of high glucose-induced apoptosis: in vitro and in vivo studies. *J Ethnopharmacol*, 2011, 136: 188-196.
11. El Sedef N, Karakaya S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutr Rev*, 2009, 67: 632-638.
 12. Hamden K, Allouche N, Damak M, Elfeki A. Hypoglycemic and antioxidant effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol from olive mill waste in vitro and in rats. *Chem Biol Interact*, 2009, 180: 421-432.
 13. Soler-Rivas C, Espín JC, Wichers HJ. Oleuropein and related compounds. *J Agric Food Chem*, 2000, 80: 1013-1023.
 14. Malik NS, Bradford JM. Recovery and stability of oleuropein and other phenolic compounds during extraction and processing of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *J Food Agric Environ*, 2008, 6: 8.
 15. Omar SH. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci Pharm*, 2010, 78: 133-154.
 16. Al-Azzawie HF, Alhamdani M-SS. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci*, 2006, 78: 1371-1377.
 17. Khalatbary A, GhR Z. Anti-inflammatory effect of oleuropein in experimental rat spinal cord trauma. *Iran Red Crescent Med J*, 2012, 2012: 229-234.
 18. Pereira AP, Ferreira IC, Marcelino F, Valentão P, Andrade PB, Seabra R, Estevinho L, Bento A, Pereira JA. Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules*, 2007, 12: 1153-1162.
 19. Hamdi HK, Castellon R. Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334: 769-

778.

20. Özcan MM, Matthäus B. A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Eur Food Res Technol*, 2017, 243: 89-99.
21. Cabrera-Vique C, Marfil R, Gimenez R, Martinez-Augustin O. Bioactive compounds and nutritional significance of virgin argan oil - an edible oil with potential as a functional food. *Nutr Rev*, 2012, 70: 266-279.
22. Lee S-I, Oh S-H, Park K-Y, Park B-H, Kim J-S, Kim S-D. Antihyperglycemic effects of fruits of privet (*Ligustrum obtusifolium*) in streptozotocin-induced diabetic rats fed a high fat diet. *J Med Food*, 2009, 12: 109-117.
23. Markopoulos C, Vertzoni M, Agalias A, Magiatis P, Reppas C. Stability of oleuropein in the human proximal gut. *J Pharm Pharmacol*, 2009, 61: 143-149.
24. Souilem S, Kobayashi I, Neves MA, Sayadi S, Ichikawa S, Nakajima M. Preparation of monodisperse food-grade oleuropein-loaded W/O/W emulsions using microchannel emulsification and evaluation of their storage stability. *Food Bioproc Tech*, 2014, 7.
25. McClements DJ. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*, 3rd ed. Boca Raton, CRC press, 2015:3-5.
26. Chatzidaki MD, Arik N, Monteil J, Papadimitriou V, Leal-Calderon F, Xenakis A. Microemulsion versus emulsion as effective carrier of hydroxytyrosol. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016, 137: 146-151.
27. Bock M, Thorstensen EB, Derraik JG, Henderson HV, Hofman PL, Cutfield WS. Human absorption and metabolism of oleuropein and hydroxytyrosol ingested as olive (*Olea europaea* L.) leaf extract. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57: 2079-2085.
28. Coupland JN, Hayes JE. Physical approaches to masking bitter taste: lessons from food and pharmaceuticals. *Pharm Res*, 2014, 31: 2921-2939.

29. Shahiwala A. Formulation approaches in enhancement of patient compliance to oral drug therapy. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8: 1521-1529.
30. Drewnowski A, Gomez-Carneros C. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *Am J Clin Nutr*, 2000, 72: 1424-1435.
31. Tang SY, Sivakumar M, Ng AM-H, Shridharan P. Anti-inflammatory and analgesic activity of novel oral aspirin-loaded nanoemulsion and nano multiple emulsion formulations generated using ultrasound cavitation. *Int J Pharm*, 2012, 430: 299-306.
32. TURDEP. Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi ve Çalışma Sonuçları-II. http://www.turkendokrin.org/files/file/TURDEP_II_2011.pdf. 1 Ocak 2017.
33. WHO, IDF. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia. http://www.who.int/diabetes/publications/Definition%20and%20diag_nosis%20of%20diabetes_new.pdf. 1 Ocak 2017.
34. Association AD. Standards of Medical Care in Diabetes-2016 Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes*, 2016, 34: 3.
35. Rohlfing CL, Wiedmeyer H-M, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care*, 2002, 25: 275-278.
36. World Healthy Organization. Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85975/1/WHO_NMH_MND_13.2_eng.pdf. 10 Ekim 2017
37. Lin S-F, Lin J-D, Huang Y-Y. Diabetic ketoacidosis: comparisons of patient characteristics, clinical presentations and outcomes today and 20 years ago. *Chang Gung Med J*, 2005, 28: 24-30.
38. Henriksen OM, Roder ME, Prahl JB, Svendsen OL. Diabetic ketoacidosis in

- Denmark: incidence and mortality estimated from public health registries. *Diabetes Res Clin Pract*, 2007, 76: 51-56.
39. Fritsch M, Schober E, Rami-Merhar B, Hofer S, Frohlich-Reiterer E, Waldhoer T, Gr ADIS. Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis in Austrian Children: A Population-Based Analysis, 1989-2011. *J Pediatr*, 2013, 163: 1484-U1331.
40. Cardoso L, Vicente N, Rodrigues D, Gomes L, Carrilho F. Controversies in the management of hyperglycaemic emergencies in adults with diabetes. *Metabolism*, 2017, 68: 43-54.
41. Pasquel FJ, Umpierrez GE. Hyperosmolar hyperglycemic state: a historic review of the clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Diabetes Care*, 2014, 37: 3124-3131.
42. Ferrier DR. Biochemistry. In: Harvey RA (ed), *Lippincott's Illustrated Reviews*, 6th ed. China, Wolters Kluwer, 2014: 307-308.
43. İmamoğlu Ş, Ersoy-Özyardımcı C. *Diabetes Mellitus 2009. Multidisipliner Yaklaşımla Tanı, Tedavi ve İzlem*. 2. Baskı. İstanbul, Deomed Yayıncılık, 2009.
44. Apelqvist J, Bakker K, Van Houtum W, Nabuurs-Franssen M, Schaper N. International consensus and practical guidelines on the management and the prevention of the diabetic foot. *Diabetes Metab Res Rev*, 2000, 16.
45. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Erişkin diyabetli bireyler için eğitimci rehberi. <http://beslenme.gov.tr/content/files/diyabet/DiyabetliBireylerIcinEgitimciRehberi.pdf>. 29 Mart 2017.
46. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Peters AL, Tsapas A, Wender R, Matthews DR. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centered approach: update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of

- Diabetes. *Diabetes Care*, 2015, 38: 140-149.
47. Cunha AS, Grossiord J, Puisieux F, Seiller M. Insulin in W/O/W multiple emulsions: biological activity after oral administration in normal and diabetic rats. *J Microencapsul*, 1997, 14: 321-333.
 48. Shima M, Tanaka M, Fujii T, Egawa K, Kimura Y, Adachi S, Matsuno R. Oral administration of insulin included in fine W/O/W emulsions to rats. *Food Hydrocoll*, 2006, 20: 523-531.
 49. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *J Am Diet Assoc*, 1996, 96: 693-702.
 50. Yang H, Jin X, Lam K, Wai C, Yan S-K. Oxidative stress and diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 49: 1773-1782.
 51. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*, 2010, 4: 118-126.
 52. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*, 2015, 4: 180-183.
 53. Chong Z, Maiese K. Targeting WNT, protein kinase B, and mitochondrial membrane integrity to foster cellular survival in the nervous system. *Histol Histopathol*, 2004, 19: 495.
 54. Maiese K, Daniela Morhan S, Zhong Chong Z. Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Curr Neurovasc Res*, 2007, 4: 63-71.
 55. Maritim A, Sanders a, Watkins rJ. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol*, 2003, 17: 24-38.
 56. Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress-a concise

- review. *Saudi Pharm J*, 2016, 24: 547-553.
57. Bukan N, Sancak B, Yavuz O, Koca C, Tutkun F, Ozcelikay AT, Altan N. *Lipid peroxidation and scavenging enzyme levels in the liver of streptozotocin-induced diabetic rats*. 2003.
58. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 44-84.
59. Syndicate N. Free radicals and antioxidants in health and disease. *East Mediterr Health J*, 1998, 4: 351.
60. Leonard SS, Harris GK, Shi X. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radic Biol Med*, 2004, 37: 1921-1942.
61. Liochev SI, Fridovich I. The Haber-Weiss cycle-70 years later: an alternative view. *Redox Rep*, 2002, 7: 55-57.
62. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 2001, 54: 176-186.
63. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*. 5th ed. Oxford University Press, USA, 2015.
64. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 1982, 47: 412-426.
65. Hunt JV, Dean RT, Wolff SP. Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem J*, 1988, 256: 205-212.
66. Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 1997, 6: 391-397.

67. Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci*, 1988, 85: 9748-9752.
68. Santo A, Zhu H, Li YR. Free Radicals: From Health to Disease. Reactive Oxygen Species, *Cell Med Press*, 2016, 2: 245-263.
69. Alternative MR. <http://www.altmedrev.com/publications/14/1/62.pdf>. 04 Ekim 2017
70. Somova L, Shode F, Ramnanan P, Nadar A. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *J Ethnopharmacol*, 2003, 84: 299-305.
71. Parvaiz M, Hussain K, Shoaib M, William G, Tufail M, Hussain Z, Gohar D, Imtiaz S. A review: therapeutic significance of olive *Olea europaea* L.(Oleaceae family). *Global J Pharmacol*, 2013, 7: 333-336.
72. Sabry OM. Review: Beneficial health effects of olive leaves extracts. *J Nat Sci Res*, 2014, 4: 1-9.
73. Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 247: 60-64.
74. Briante R, Patumi M, Terenziani S, Bismuto E, Febbraio F, Nucci R. *Olea europaea* L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 4934-4940.
75. Pereira JA, Pereira AP, Ferreira IC, Valentão P, Andrade PB, Seabra R, Estevinho L, Bento A. Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 8425-8431.
76. Sato H, Genet C, Strehle A, Thomas C, Lobstein A, Wagner A, Mioskowski C, Auwerx J, Saladin R. Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362: 793-798.

77. Ferreira IC, Barros L, Soares ME, Bastos ML, Pereira JA. Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chem*, 2007, 103: 188-195.
78. Benavente-García O, Castillo J, Lorente J, Ortuno A, Del Río J. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem*, 2000, 68: 457-462.
79. Salah MB, Abdelmelek H, Abderraba M. Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. *Med Chem*, 2012, 2: 107-111.
80. Japón-Luján R, Luque-Rodríguez J, De Castro ML. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J Chromatogr A*, 2006, 1108: 76-82.
81. Charrouf Z, Guillaume D. Phenols and polyphenols from *Argania spinosa*. *Am J Food Technol*, 2007, 2: 679-683.
82. Panizzi L, Scarpati, M. L., & Oriente, G. . The constitution of oleuropein, a bitter glucoside of the olive with hypotensive action. *Gazz Chim Ital*, 1960, 90: 1449-1485.
83. Yuan J-J, Wang C-Z, Ye J-Z, Tao R, Zhang Y-S. Enzymatic hydrolysis of oleuropein from *Olea europea* (olive) leaf extract and antioxidant activities. *Molecules*, 2015, 20: 2903-2921.
84. Gikas E, Bazoti FN, Tsarbopoulos A. Conformation of oleuropein, the major bioactive compound of *Olea europea*. *J Mol Struct: Theochem*, 2007, 821: 125-132.
85. Nikolaivits E, Termentzi A, Skaltsounis A, Fokialakis N, Topakas E. Enzymatic tailoring of oleuropein isolated from *Olea europaea* leaves. *Planta Med*, 2016, 81: P697.

86. Ramirez E, Brenes M, Garcia P, Medina E, Romero C. Oleuropein hydrolysis in natural green olives: Importance of the endogenous enzymes. *Food Chem*, 2016, 206: 204-209.
87. Durlu-Özkaya F, Özkaya MT. Oleuropein using as an additive for feed and products used for humans. *J Food Process Technol*, 2011, 2: 84-113.
88. Alagna F, Geu-Flores F, Kries H, Panara F, Baldoni L, O'Connor SE, Osbourn A. Identification and Characterization of the Iridoid Synthase Involved in Oleuropein Biosynthesis in Olive (*Olea europaea*) Fruits. *J Biol Chem*, 2016, 291: 5542-5554.
89. Amiot M-J, Fleuriet A, Macheix J-J. Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. *Phytochemistry*, 1989, 28: 67-69.
90. Omar SH. Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Saudi Pharm J*, 2010, 18: 111-121.
91. Park S, Choi Y, Um S-J, Yoon SK, Park T. Oleuropein attenuates hepatic steatosis induced by high-fat diet in mice. *J Hepatol*, 2011, 54: 984-993.
92. Andreadou I, Iliodromitis EK, Mikros E, Constantinou M, Agalias A, Magiatis P, Skaltsounis AL, Kamber E, Tsantili-Kakoulidou A, Kremastinos DT. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J Nutr*, 2006, 136: 2213-2219.
93. Caglayan K, Güngör B, Cinar H, Avci B, Gur S, Arslan N. Effects of oleuropein on serum inflammatory cytokines and histopathological changes in rats with pancreatitis. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 2014, 24: 213-218.
94. Han J, Talorete TP, Yamada P, Isoda H. Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. *Cytotechnology*, 2009, 59: 45-53.

95. Chimi H, Cillard J, Cillard P, Rahmani M. Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *J Am Oil Chem Soc*, 1991, 68: 307-312.
96. Bouaziz M, Sayadi S. Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2005, 107: 497-504.
97. Bouaziz M, Bouallagui Z, Sayadi S. Toward a high yield recovery of bioactive compounds from olive leaf wastes: increasing the antioxidant activity via enzymatic hydrolysis. *J Arid Land*, 2006, 15: 435-438.
98. Andrikopoulos NK, Kaliora AC, Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation. *J Med Food*, 2002, 5: 1-7.
99. Hur W, Kim SW, Lee YK, Choi JE, Hong SW, Song MJ, Bae SH, Park T, Um S-J, Yoon SK. Oleuropein reduces free fatty acid-induced lipogenesis via lowered extracellular signal-regulated kinase activation in hepatocytes. *Nutr Res*, 2012, 32: 778-786.
100. Çelebi N. *Emülsiyonlar. Modern Farmasötik Teknoloji*, 2. Baskı. Ankara, Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, 2009: 277-297.
101. Khan BA, Akhtar N, Khan HMS, Waseem K, Mahmood T, Rasul A, Iqbal M, Khan H. Basics of pharmaceutical emulsions: A review. *Afr J Pharm Pharmacol*, 2011, 5: 2715-2725.
102. Gönül N. *Çok Fazlı Sistemler II, Süspansiyon ve Emülsiyon Teknolojisi*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, yayın no :82, Ankara, 2002, 63-93. .
103. Swarbrick J, Rubino J, Rubi no OP, "Coarse dispersions" *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th ed. Philadelphia, 2000: 316-334.
104. Tadros TF. *Emulsion science and technology: a general introduction*. Germany,

- Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009:1-55.
105. Pubchem. U.S. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5300#section=Top>. 2 Mart 2017.
106. Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, Essien UN. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *J Diabetes Metab Disord*, 2013, 12: 60.
107. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 2001, 50: 537-546.
108. Weiss R. Streptozocin: a review of its pharmacology, efficacy, and toxicity. *Cancer Treat Rep*, 1982, 66: 427.
109. Wilson G, Leiter E. Streptozotocin interactions with pancreatic β cells and the induction of insulin-dependent diabetes. The Role of Viruses and the Immune System in Diabetes Mellitus. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1990: 27-54.
110. Schnedl WJ, Ferber S, Johnson JH, Newgard CB. STZ transport and cytotoxicity: specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes*, 1994, 43: 1326-1333.
111. Mondal A, Maity TK, Pal D. Hypoglycaemic effect of *Melothria heterophylla* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol*, 2012, 50: 1151-1156.
112. Ağgül AG. Diyabetli Ratlarda Zeytin Yaprağı Ekstresinin Etkilerinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2012.
113. Shabir GA. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *J Chromatogr*

- A, 2003, 987: 57-66.
114. Tomiyama N, Tsuji H, Watanabe M, Takeda M, Harada T, Kobayashi H. High-performance liquid chromatographic method for determination of DDT and its degradation products in rat plasma, liver and brain: validation and application to a pharmacokinetic study. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2000, 748: 361-368.
 115. Shabir GA. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis. Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *J Chromatogr A*, 2003, 987: 57-66.
 116. Cayman Chemical Company. Superoxide Dismutase Assay Kit. <https://www.caymanchem.com/pdfs/706002.pdf>. 4 Ekim 2017.
 117. Cayman Chemical Company. Glutathione Assay Kit. <https://www.caymanchem.com/pdfs/703002.pdf>. 4 Ekim 2017.
 118. Cayman Chemical Company. TBARS Assay Kit. <https://www.caymanchem.com/pdfs/10009055.pdf>. 4 Ekim 2017.
 119. Cayman Chemical Company. Protein Determination Kit. <https://www.caymanchem.com/pdfs/704002.pdf>. 4 Ekim 2017.
 120. Zhang J, Huang X, Sun X, Pei D, Di D. Efficient method for the screening and identification of anti-diabetic components in the leaves of *Olea europaea* L. *New J*, 2014, 38: 3796-3802.
 121. Rood PP, Bottino R, Balamurugan A, Smetanka C, Ezzelarab M, Busch J, Hara H, Trucco M, Cooper DK. Induction of diabetes in cynomolgus monkeys with high-dose streptozotocin: adverse effects and early responses. *Pancreas*, 2006, 33: 287-292.

122. Koopmans SJ, Mroz Z, Dekker R, Corbijn H, Ackermans M, Sauerwein H. Association of insulin resistance with hyperglycemia in streptozotocin-diabetic pigs: Effects of metformin at isoenergetic feeding in a type 2-like diabetic pig model. *Metabolism*, 2006, 55: 960-971.
123. Van de Maele I, Rogier N, Daminet S. Retrospective study of owners' perception on home monitoring of blood glucose in diabetic dogs and cats. *Can Vet J*, 2005, 46: 718-723.
124. Wen L, Zhang Y, Sun-Waterhouse D, You L, Fu X. Advantages of the polysaccharides from *Gracilaria lemaneiformis* over metformin in antidiabetic effects on streptozotocin-induced diabetic mice. *RSC Advances*, 2017, 7: 9141-9151.
125. Tomlinson K, Gardiner S, Hebden R, Bennett T. Functional consequences of streptozotocin-induced diabetes mellitus, with particular reference to the cardiovascular system. *Pharmacol Rev*, 1992, 44: 103-150.
126. Onderoglu S, Sozer S, Erbil K, Ortac R, Lermioglu F. The Evaluation of Long-term Effects of Cinnamon Bark and Olive Leaf on Toxicity Induced by Streptozotocin Administration to Rats. *J Pharm Pharmacol*, 1999, 51: 1305-1312.
127. Mostafavinia A, Amini A, Ghorishi SK, Pouriran R, Bayat M. The effects of dosage and the routes of administrations of streptozotocin and alloxan on induction rate of type1 diabetes mellitus and mortality rate in rats. *Lab Anim Res*, 2016, 32: 160-165.
128. Nagarchi K, Ahmed S, Sabus A, Saheb SH. Effect of Streptozotocin on Glucose levels in Albino Wister Rats. *J Pharm Sci Res*, 2015, 7: 67-69.
129. Bayramoglu G, Senturk H, Bayramoglu A, Uyanoglu M, Colak S, Ozmen A, Kolankaya D. Carvacrol partially reverses symptoms of diabetes in STZ-induced

- diabetic rats. *Cytotechnology*, 2014, 66: 251-257.
130. Zhang XF, Tan BKH. Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of andrographis paniculata in normal and diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2000, 27: 358-363.
131. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, 1996, 19: 257-267.
132. Borgohain MP, Lahkar M, Ahmed S, Chowdhury L, Kumar S, Pant R, Choubey A. Small Molecule Inhibiting Nuclear Factor-kB Ameliorates Oxidative Stress and Suppresses Renal Inflammation in Early Stage of Alloxan-Induced Diabetic Nephropathy in Rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2017.
133. Baharvand-Ahmadi B, Bahmani M, Tajeddini P, Naghdi N, Rafieian-Kopaei M. An ethno-medicinal study of medicinal plants used for the treatment of diabetes. *J Nephrothol*, 2016, 5: 44.
134. Cumaoglu A, Rackova L, Stefek M, Kartal M, Maechler P, Karasu Ç. Effects of olive leaf polyphenols against H₂O₂ toxicity in insulin secreting β -cells. *Acta Biochim Pol*, 2011, 58: 45-50.
135. Nekooeian AA, Khalili A, Khosravi MB. Effects of oleuropein in rats with simultaneous type 2 diabetes and renal hypertension: a study of antihypertensive mechanisms. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16: 953-962.
136. Di Mattia C, Paradiso VM, Andrich L, Giarnetti M, Caponio F, Pittia P. Effect of olive oil phenolic compounds and maltodextrins on the physical properties and oxidative stability of olive oil o/w emulsions. *Food Biophys*, 2014, 9: 396-405.
137. Paradiso VM, Di Mattia C, Giarnetti M, Chiarini M, Andrich L, Caponio F. Antioxidant behavior of olive phenolics in oil-in-water emulsions. *J Agric Food Chem*, 2016, 64: 5877-5886.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı : Ahmet Gökhan AĞGÜL Doğum Tarihi : 22.05.1985 Doğum Yeri : Erzurum Medeni Hali : Evli, 1 çocuk Uyruğu : T.C. Adres : Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 04100, Ağrı Tel : 0472 215 62 26 – (3575) Fax : - E-mail : agaggul@gmail.com
Eğitim
Lise : Mehmet Akif Ersoy Lisesi (Y.D.A) (1999-2003) Lisans : Kafkas Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya (2005-2006) Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya (2006-2009) Yüksek Lisans : Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı (2009-2012) Doktora : Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı (2012-)
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce : Biliyor (ÜDS : 66.25, Ekim 2011) (YÖKDİL : 73.75, Mart 2017)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
Türk Biyokimya Derneği
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



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

Sayı : 36643897-79

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

30.03.2015
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 25.03.2015 tarih ve 93722986.03/269 sayılı yazınız.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Mine GÜLABOĞLU'nun yürüttüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Biyokimya ve Farmasotik Teknoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Zeytin Yaprağı Etil Alkol Ekstresi ve Bundan İzole Edilen Oleuropeinin Emülsiyon Formülasyonlarının Diyabetik Ratlar Üzerine Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 27.03.2015 tarih ve 3 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 66 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

ASLI GİBİDİR
28.09.2017

Mehmet KOCA
Şef

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan

Toplantı Tarihi : 27.03.2015

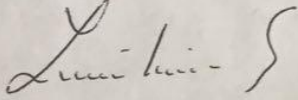
Toplantı Sayısı : 3

KARAR NO : 66- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Mine GÜLABOĞLU'nun yürüttüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Biyokimya ve Farmasotik Teknoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Zeytin Yaprağı Etil Alkol Ekstresi ve Bundan İzole Edilen Oleuropeinin Emülsiyon Formülasyonlarının Diyabetik Ratlar Üzerine Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 25.03.2015 tarih ve 93722986.03/269 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

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

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-231 47 30 Fax : 0-442-231 55 63 e-mail: hadyek@atauni.edu.tr

EK-3. ETİK ALT KURUL ONAY FORMU

	T.C. ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ Eczacılık Fakültesi Dekanlığı Etik Alt Kurulu	
Sayı : 93722986.12/ 544 Konu: Etik Alt Kurul Kararı		25/06/2015
Sayın Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU		
İlgi: 24.06.2015 tarih ve 594 sayılı dilekçeniz.		
Fakültemiz Etik Alt Kurulunun 25.06.2015 tarihinde almış olduğu 07' nolu kararı ile "Zeytin yaprağı etil alkol ekstresi ve bundan izole edilen oleuropeinin emülsiyon formülasyonlarının diyabetik ratlar üzerine etkilerinin incelenmesi" başlıklı Doktora öğrenciniz Ahmet Gökhan AĞGÜL ile beraber yürütmekte olduğunuz çalışmanızın etik kurulumuz tarafından kabulüne karar verilmiştir.		
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.		
 Prof. Dr. Zühal GÜVENALP Etik Alt Kurul Başkanı		
TOPLANTI TARİHİ: 25.06.2015 TOPLANTI SAYISI: 6		
Karar-07-Fakültemiz Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU'nun yürütücülüğünde Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Zeytin yaprağı etil alkol ekstresi ve bundan izole edilen oleuropeinin emülsiyon formülasyonlarının diyabetik ratlar üzerine etkilerinin incelenmesi" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili 24.06.2015 tarih ve 594 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.		
Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğunun mevcut oybirliği ile kabulüne (Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU oylamaya katılmadı) karar verildi.		
Atatürk Üniversitesi kampusu 25040 Tlf: 0442-231 52 07 Fax: 0442 – 2315201 Elektronik Post: eczak@atauni.edu.tr ERZURUM		