T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *Armillaria mellea* (BAL MANTARI) EKSTRAKTININ ANTİDİYABETİK, ANTİHİPERLİPİDEMİK VE ANTİOKSİDATİF ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Derya KARTAL
DANIŞMAN: Doç. Dr. Necati ÖZOK

VAN-2021

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *Armillaria mellea* (BAL MANTARI) EKSTRAKTININ ANTİDİYABETİK, ANTİHİPERLİPİDEMİK VE ANTİOKSİDATİF ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Derya KARTAL

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından FDK-2019-8409 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Necati ÖZOK danışmanlığında, Derya KARTAL tarafından sunulan "Streptozotosin (STZ) ile Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Armillaria mellea (Bal mantarı) Ekstraktının Antidiyabetik, Antihiperlipidemik ve Antioksidatif Özelliklerinin Araştırılması" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 20/05/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İsmaik ÇELİK İmza:

Üye: Doç. Dr. Necati ÖZOK İmza:

Üye: Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ İmza:

Üye: Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Cemil SADULLAHOĞLU İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 15/06/2021 tarih ve 2021/29-I sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

……..……..

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki tüm bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada tarafıma ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Derya KARTAL

ÖZET

STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *Armillaria mellea* (BAL MANTARI) EKSTRAKTININ ANTİDİYABETİK, ANTİHİPERLİPİDEMİK VE ANTİOKSİDATİF ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

KARTAL, Derya
Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Necati ÖZOK
Mayıs 2021, 99 sayfa

Bu çalışmada, *Armillaria mellea* sulu ekstraktının (AML) diyabet üzerine etkilerinin, STZ ile indüklenen diyabetik sıçan modeli kullanarak değerlendirilmesi amaçlandı. Toplamda 42 adet Wistar albino sıçan (erkek, 250-350 gr) rastgele altı gruba ayrıldı (n:7); normal kontrol (NK), diyabet kontrol (DK), D+metformin (D+MET), D+100 mg/kg AML (D+AML-1), D+200 mg/kg AML (D+AML-2), D+400 mg/kg AML (D+AML-3). NK grubu dışındaki gruplarda 40 mg/kg STZ (intraperitoneal enjeksiyon) ile diyabet oluşturuldu. Sıçanlar 21 günlük uygulama süresinin sonunda sakrifiye edildi. Kan ve doku örnekleri alındı. AML uygulanan diyabetik gruplarda DK grubuna göre yem ve su tüketimi, glukoz, üre, kreatinin, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, trigliserid, total kolesterol, tümör nekroz faktör-α, interlökin-6, glukoz transporter-2, sodyum glukoz ko-transporter-1 ve 2, α-glukozidaz, malondialdehit düzeylerinin azaldığı ve insulin, C-peptid, peroksizom proliferatör aktive reseptör-γ, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol düzeylerinin arttığı görüldü ($p<0.05$). AML'nin oksidatif stresin neden olduğu hasarlara karşı antioksidan enzim aktiviteleri (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) üzerinde iyileştirici etkileri gözlendi ($p<0.05$). Ayrıca, AML'nin histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenen böbrek, karaciğer ve pankreas dokularındaki dejeneratif ve nekrotik lezyonları azalttığı görüldü. Sonuç olarak; diyabetik sıçanlarda AML'nin antihiperglisemik, antihiperlipidemik, antioksidatif ve antiinflamatuvar etkiler gösterdiği söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Antihiperglisemik, Antihiperlipidemik, *Armillaria mellea*, Diabetes mellitus, GLUT-2, İmmünohistokimya, PPAR-γ, SGLT, Sitokinler, STZ.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIDIABETIC, ANTIHYPERLIPIDEMIC AND ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF *Armillaria mellea* (HONEY MUSHROOM) EXTRACT IN EXPERIMENTAL DIABETIC RATS INDUCED BY STREPTOZOTOCIN (STZ)

KARTAL, Derya
Ph.D. Thesis, Department of Biyology
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Necati ÖZOK
May 2021, 99 pages

In this study, it was aimed to evaluate the effects of *Armillaria mellea* aqueous extract (AML) on diabetes using the STZ-induced diabetic rat model. A total of 42 Wistar albino rats (male, 250-350 g) were randomly divided into six groups (n:7); normal control (NK), diabetes control (DK), D+metformin (D+MET), D+100 mg/kg AML (D+AML-1), D+200 mg/kg AML (D+AML-2), D+400 mg/kg AML (D+AML-3). Diabetes was induced by 40 mg/kg STZ (intraperitoneal injection) in all groups except the control group. The rats were sacrificed at the end of the 21-days treatment period. Blood and tissue samples were taken. It was found that food and water intake, glucose, urea, creatinine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, triglyceride, total cholesterol, tumor necrosis factor-α, interleukin-6, glucose transporter-2, sodium glucose cotransporter-1 and 2, α-glucosidase, malondialdehyde levels decreased and insulin, C-peptide, peroxisome proliferator activated receptor-γ, high density lipoprotein cholesterol levels increased in AML treated diabetic groups compared with the DK group ($p<0.05$). The healing effects of AML were observed on antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase) against damages caused by oxidative stress ($p <0.05$). In addition, it was observed that AML reduced degenerative and necrotic lesions in kidney, liver and pancreatic tissues which were examined histopathologically and immunohistochemically. As a result; it can be said that AML shows antihyperglycemic, antihyperlipidemic, antioxidative and antiinflammatory effects in diabetic rats.

Key words: Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic, *Armillaria mellea*, Cytokines, Diabetes mellitus, GLUT-2, Immunohistochemistry, PPAR-γ, SGLT, STZ.

ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, değerli bilgilerini benimle paylaşan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Necati ÖZOK'a teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. İsmail ÇELİK'e, histopatolojik çalışmaların her aşamasında ilgi ve yardımlarını gördüğüm Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ'a, mantar materyali ile ilgili arazi ve laboratuvar çalışmalarında destek olan Doç. Dr. Ali KELEŞ ve Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Emre AKÇAY'a, mikrofotografi çalışmalarında yardımcı olan Doç. Dr. İsmail YILDIZ'a, immünohistokimya çalışmasında her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Fikret ALTINDAĞ ve Biyolog Tahir İGİT'e ve laboratuvar çalışmaları sırasında bana destek olan sevgili arkadaşlarım Biyolog Ayşe YEŞİLBAŞ, Biyolog Zehra ALKAN ve Biyolog Ayşe Nur KIRAÇÇAKALI'na teşekkür ederim. Hayatımın her aşamasında desteği ve iyi dilekleriyle zorlukları kolaylaştıran canım annem Remziye KARTAL'a minnet, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

2021

Derya KARTAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET i
ABSTRACT iii
ÖN SÖZ v
İÇİNDEKİLER vii
ÇİZELGELER LİSTESİ xi
ŞEKİLLER LİSTESİ xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR xv
1. GİRİŞ 1
1.1. Diabetes Mellitus 3
1.1.1. Diabetes mellitus tipleri 3
1.1.2. Diabetes mellitus'un önlenebilirliği 4
1.1.3. Diabetes mellitus komplikasyonları 5
1.1.4. Diabetes mellitus tedavisi 5
1.2. Oksidatif Stres 6
1.3. Serbest Radikaller 7
1.3.1. Serbest radikal kaynakları 7
1.3.2. Serbest radikallerin hasar yapıcı etkileri 8
1.3.2.1. Nükleik asit ve deoksiribonükleik asite (DNA) etkileri 8
1.3.2.2. Proteinlere etkileri 8
1.3.2.3. Karbonhidratlara etkileri 9
1.3.2.4. Lipidlere etkileri ve lipid peroksidasyonu 9
1.4. Antioksidan Savunma Sistemi ve Antioksidanlar 9
1.5. İnsülin 10
1.6. C-Peptid 11
1.7. Lipid Profili 11
1.7.1. Trigliserit (triasilgliserol veya triaçilgliserit) 11
1.7.2. Kolesterol 12
1.7.3. Plazma lipoproteinleri 12
1.7.3.1. Düşük yoğunluklu lipoprotein 13

Sayfa

1.7.3.2. Yüksek yoğunluklu lipoprotein 13
1.8. Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör-γ 14
1.9. Alfa-Glukozidaz 14
1.10. Glukoz Taşıyıcı Proteinler 14
1.10.1. Sodyum glukoz ko-transporter-1 ve 2 15
1.10.2. Glukoz transporter-2 15
1.11. Tümör Nekroz Faktör-α 16
1.12. İnterlökin-6 16
1.13. Kreatinin 16
1.14. Üre 17
1.15. Aspartat Aminotransferaz ve Alanin Aminotransferaz 17
1.16. Malondialdehit 18
1.17. Glutatyon 18
1.18. Süperoksit Dismutaz 18
1.19. Katalaz 19
1.20. Glutatyon Peroksidaz 19
1.21. Histopatolojik Olarak İncelenen Organlar 20
1.21.1. Böbrek 20
1.21.2. Karaciğer 21
1.21.3. Pankreas 22
1.22. *Armillaria mellea* ile İlgili Genel Bilgiler 22
1.22.1. *Armillaria mellea*'dan elde edilen bazı bileşikler ve etkileri 23
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ 25
3. MATERYAL VE YÖNTEM 29
3.1. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazır Kitler 29
3.2. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler 29
3.3. Mantar Materyali ve Ekstraktının Hazırlanması 30
3.4. Deney Hayvanları 31
3.5. Akut Toksisite Testi 31
3.6. Streptozotosinle Deneysel Diyabet Oluşturulması 31
3.7. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması 32

Sayfa

3.8. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması 32
3.9. Doku Homojenizasyonu 33
3.10. Biyokimyasal Analizler ve ELISA Yöntemi 33
3.11. Lipid Peroksidasyon (MDA) Tayini 36
3.12. Redükte Glutatyon Tayini 37
3.13. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini 37
3.14. Katalaz Aktivite Tayini 38
3.15. Glutatyon Peroksidaz Aktivite Tayini 40
3.16. Histolojik Çalışmalar ve Boyamalar 41
3.16.1. Parafine gömme 41
3.16.2. Hematoksilen-eozin boyama 42
3.16.3. İmmünohistokimyasal boyama 42
3.17. İstatistiksel Analizler 43
4. BULGULAR 45
4.1. Biyokimyasal Parametreler 47
4.2. Histopatolojik Bulgular 62
4.2.1. Böbrek histopatolojisi 62
4.2.2. Karaciğer histopatolojisi 64
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular 66
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 69
KAYNAKLAR 81
ÖZ GEÇMİŞ 99

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 3.1. Numune ve SOD ayıraçlarının reaksiyon küvetine pipetlenme oranları 38

Çizelge 3.2. CAT fosfat tamponu kimyasal içeriklerinin hazırlanışı 39

Çizelge 3.3. CAT fosfat tamponu kimyasal içeriklerinin karıştırılma oranları 39

Çizelge 3.4. Numune ve CAT tamponunun pipetlenme oranları 39

Çizelge 3.5. Numune ve GPx ayıraçlarının reaksiyon küvetine pipetlenme oranları 40

Çizelge 4.1. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının yem ve su tüketimi ile başlangıç ve son ağırlıkları 45

Çizelge 4.2. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında kan glukozunun periyodik ölçüm sonuçları 47

Çizelge 4.3. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında C-peptid ve insülin seviyeleri 48

Çizelge 4.4. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında TNF-α ve IL-6 seviyeleri 49

Çizelge 4.5. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının incebağırsak α-glukozidaz aktiviteleri ile böbrek ve incebağırsak SGLT-1 düzeyleri 50

Çizelge 4.6. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SGLT-2 düzeyleri 51

Çizelge 4.7. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GLUT-2 düzeyleri 52

Çizelge 4.8. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında ALT, AST, üre ve kreatinin düzeyleri 53

Çizelge 4.9. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının serum lipid profili 55

Çizelge 4.10. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında PPAR-γ düzeyleri 56

Çizelge 4.11. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında MDA seviyeleri 57

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.12. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GSH seviyeleri 58

Çizelge 4.13. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SOD aktiviteleri..... 59

Çizelge 4.14. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarınınfarklı dokularında CAT aktiviteleri..... 60

Çizelge 4.15. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GPx aktiviteleri 61

Çizelge 4.16. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında insülin immün pozitif β hücrelerin H score değerleri..... 68

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.1. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının yem ve su tüketimi 46

Şekil 4.2. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının başlangıç ve son ağırlıkları 46

Şekil 4.3. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında kan glukozunun periyodik ölçüm sonuçları 47

Şekil 4.4. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında C-peptid ve insülin seviyeleri 48

Şekil 4.5. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında TNF-α ve IL-6 seviyeleri 49

Şekil 4.6. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının ince bağırsak α-glukozidaz aktiviteleri 50

Şekil 4.7. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SGLT-1 düzeyleri 51

Şekil 4.8. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SGLT-2 düzeyleri 52

Şekil 4.9. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GLUT-2 düzeyleri 53

Şekil 4.10. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının ALT ve AST düzeyleri 54

Şekil 4.11. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında üre ve kreatinin düzeyleri 55

Şekil 4.12. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının serum lipid profili 56

Şekil 4.13. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında PPAR-γ düzeyleri 57

Şekil 4.14. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında MDA seviyeleri 58

Şekil 4.15. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GSH seviyeleri 59

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.16. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SOD aktiviteleri 60

Şekil 4.17. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında CAT aktiviteleri 61

Şekil 4.18. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GPx aktiviteleri 62

Şekil 4.19. Hematoksilen-eozin ile boyanan böbrek kesitleri 63

Şekil 4.20. Hematoksilen-eozin ile boyanan karaciğer kesitleri 65

Şekil 4.21. Langerhans adacıklarında insülin immünoreaksiyonu (immünohistokimyasal boyama) 67

Şekil 4.22. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında insülin immün Pozitif β hücrelerin H score değerleri 68

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılan bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
A°	Angstrom
α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
ε	Epsilon
γ	Gama
°C	Santigrat derece
Cu	Bakır
cm	Santimetre
d	Dansite
dk	Dakika
dL	Desilitre
Fe	Demir
G	Gravite, göreceli santrifüj kuvveti
gr	Gram
H	Hidrojen atomu
Kg	Kilogram
KHz	Kilohertz
km	Maksimum tepkime hizinin yarisina ulasmak icin gereken substrat konsantrasyonu
L	Litre
Log	Logaritma
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre

Simgeler	Açıklama
mM	Milimolar
mmol	Milimol
N	Normal
ng	Nanogram
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
O_2	Moleküler oksijen
Pg	Pikogram
Sn	Saniye
U	Ünite
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar	Açıklama
ADA	Amerikan Diyabet Derneği
AGEs	İleri glikasyon son ürünleri
AIDS	Kazanılmış bağışıklık yetersizliği sendromu
ALT	Alanin aminotransferaz
AML-1	100 mg/kg *Armillaria mellea* ekstraktı
AML-2	200 mg/kg *Armillaria mellea* ekstraktı
AML-3	400 mg/kg *Armillaria mellea* ekstraktı
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	Katalaz
cDNA	Komplementer DNA
CoA	Koenzim A
ΔA	Absorbans değişimi

Kısaltmalar	Açıklama
DAB	Diaminobenzidin
DH_2O	Distile su
DK	Diyabet kontrol grubu
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	5,5'-ditiyobis-2nitrobenzoik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	Enzim bağlı immünosorban testi
G6PD	Glukoz-6- fosfat degidrogenaz
GDM	Gestasyonel Diabetes mellitus
GLP-1A	Glukagon benzeri peptid-1 reseptör analoğu
GLUT	Glukoz transporter
GPx	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	Redükte glutatyon
GSSG	Okside glutatyon
GST	Glutatyon *S*-transferaz
HbA1c	Hemoglobin A1c
HCL	Hidroklorik asit
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HDL-C	Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromotografisi
HRP	Horseradish peroksidaz
IDDM	İnsüline bağımlı Diabetes mellitüs
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IDL	Orta yoğunluklu lipoprotein
IL-6	İnterlökin-6
INT	2-(-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolyum klörür

Kısaltmalar	Açıklama
İg	İntragastrik
İp	İntraperitoneal
KH_2PO_4	Potasyum dihidrojen fosfat
LD_{50}	%50 letal doz
LDL	Düşük yoğunluku lipoprotein
LDL-C	Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
MDA	Malondialdehit
MET	Metformin
NaCl	Sodyum klorür
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NaH_2PO_4	Sodyum dihidrojen fosfat
Na_2HPO_4	Disodyum hidrojen fosfat
NaOH	Sodyum hidroksit
NK	Normal kontrol grubu
$O_2\bullet^-$	Süperoksit radikali
OD	Optik yoğunluk
OGTT	Oral glukoz tolerans testi
OH·	Hidroksil radikali
OECD	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
PBS	Fosfat buffer salin
PP	Pankreatik polipeptit
PPAR	Proksizom proliferatör aktive reseptör
RNA	Ribonükleik asit
RONS	Reaktif oksijen ve nitrojen türleri
ROOH	Lipid hidroperoksit
ROS	Reaktif oksijen türleri
SEM	Ortalamanın standart hatası
SGLT	Sodyum glukoz ko-transporter
SGLT2-İ	Sodyum glukoz ko-transporter-2 inhibitörü

Kısaltmalar	Açıklama
SGOT	Serum glutamik oksaloasetik transaminaz
SGPT	Serum glutamik pirüvik transaminaz
SOD	Süperoksit dismutaz
STZ	Streptozotosin
TBA	Tribarbütik asit
TC	Total kolesterol
TCA	Trikloraasetik asit
T2D	Tip 2 diyabet
TG	Trigliserid
TNF	Tümör nekroz faktör
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
XO	Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)-Diyabet Atlası 2020 verilerine göre, dünyadaki diyabetli kişi sayısı 463 milyondur. Bu sayının 2030 yılında 578 milyon, 2045 yılında ise 700 milyon olacağı tahmin edilmektedir (Anonim, 2020a). Türkiye'de diyabetli kişilerin 2016 yılında toplam nüfus içindeki oranı %9.1 iken, 2019 yılında %10.2'ye yükselmiştir (Anonim, 2020b). Diabetes mellitüs (DM), pankreas beta (β) hücrelerinin otoimmün yıkımından veya değişken derecelerde insülin direnci ve eksikliğinden kaynaklanan, hiperglisemi ile karakterize, mikro ve makrovasküler komplikasyonlara neden olan endokrin bir hastalıktır (Anonim, 2020a). Uzun süreli mikro ve makro-vasküler komplikasyonları önlemek için diyabet hastalarının yeterli glisemik kontrolü sağlamaları gerekmektedir (Alkhatatbeh ve Abdul-Razzak, 2018). Diyabet tedavisinde yeni yaklaşımlar, çeşitli glukoz taşıyıcılarını ve karbonhidrat sindirim enzimlerini inhibe ederek kan glukozunu düşürme ve peroksizom proliferatör aktive reseptör (PPAR-γ) aktivasyonu ile lipid ve glukoz homeostazını sağlamaya yöneliktir (Janani ve Kumari, 2015; Ferrannini, 2017; Ningsih ve ark., 2020). Glukoz transporter (GLUT) ve sodyum glukoz ko-transporter (SGLT) aileleri, hücrelere glukoz taşınmasında görevli protein aileleridir. Genel olarak glukoz taşınmasını düzenleyemeyen hücrelerin hiperglisemiye karşı savunmasız olduğuna inanılmaktadır (Deng ve Yan, 2016; Nilsson ve ark., 2019). Bir nükleer reseptör olan PPAR ailesi glukoz metabolizması, enerji homeostazı ve lipid metabolizmasında anahtar rol oynamaktadır. PPAR-γ mutasyonu insulin direnci, dislipidemi (lipid metabolizması bozukluğu) ve diyabet gelişimiyle yakından ilişkilidir (Şenyiğit ve Kanat, 2017).

Kronik hiperglisemi, sinir sistemi ve kardiyovasküler sistemde, böbrek, karaciğer ve pankreas gibi dokularda ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir (Anonim, 2020a). Çeşitli bilimsel çalışmalarda DM'nin gidişatını, diyabete bağlı organ hasarı ile komplikasyonların derecesini ve uygulanan tedavinin etkinliğini gözlemleyebilmek için; kan glukozu, insülin, C-peptid, Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz **(**AST), üre, kreatinin, lipid profili [TC (total kolesterol), HDL-C (yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol), LDL-C (düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol) ve TG (trigliserid)], tümör nekroz faktör- α (TNF-α) ve

interlökin-6 (IL-6) gibi parametrelerdeki değişiklikler incelenmiştir. Karaciğer, hastalıklar, ilaçlar, virüsler, kimyasallar gibi faktörler sonucu hasar gördüğünde hücre zarlarının geçirgenliği bozulmakta, bu durum AST ve ALT salınımı ile sonuçlanmaktadır (Sobeh ve ark., 2017). Üre ve kreatinin seviyeleri, böbrek fonksiyonunu değerlendirmede kullanılan göstergelerdir ve diyabette bu parametrelerin serumdaki artışı böbrek fonksiyon bozukluğuna işaret etmektedir (Pandya ve ark., 2016). TNF-α ve IL-6, inflamatuvar yanıtı arttıran, oksidatif stresi uyaran, insülin direncinin ilerlemesinde ve Tip 2 diyabet gelişiminde anahtar rol oynayan ve dolayısıyla da diyabetle güçlü şekilde ilintili olan proinflamatuvar sitokinlerdir (Aytuğ, 2014; Liu ve ark., 2016; Yalçın ve Rakıcıoğlu, 2018).

Oksidatif stres, hücrelerde veya plazmada çeşitli oksidanların üretimi ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidanların, hepatositler ve pankreas β hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde insülin direncini indükleyebileceği veya şiddetlendirebileceği iyi bilinmektedir (Henriksen, 2019). Oksidatif stres ve antioksidan mekanizma yetersizliğinin her iki diyabet tipinde de diyabet komplikasyonlarının gelişmesine neden olmasıyla birlikte, sürekli hiperglisemi de antioksidan savunma sistemine zarar vererek oksidatif strese neden olmaktadır (Maritim ve ark., 2003; Gutierres ve ark., 2019; Krishnan ve ark., 2019). Hiperglisemide oksidatif stres ile artan lipid peroksidasyonu, bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) ölçümü ile belirlenebilir (Kumar ve ark., 2019). Antioksidan, oksidatif zincir reaksiyonlarının başlatılmasını veya çoğaltılmasını önleyerek lipidlerin veya diğer moleküllerin oksidasyonunu geciktirebilen veya inhibe edebilen ve böylece hücre hasarını önleyen veya onarabilen bir bileşiği ifade eder. Süperoksit radikallerinin ($O2^{\bullet-}$) hidrojen peroksite (H_2O_2) dönüştürülmesini katalize eden süperoksit dismutaz (SOD), H_2O_2'i moleküler oksijene ve suya dönüştüren katalaz (CAT), azaltılmış glutatyon (GSH) pahasına doymamış yağ asitlerinden kaynaklanan H_2O_2 ve hidroperoksitlerin bozulmasını katalize eden Glutatyon peroksidaz (GPx) antioksidan mekanizmanın önemli enzimleridir (İnal ve ark., 2001).

Tıbbi bitkiler ve mantarlar, sentetik ilaçlar reddedildiği için değil, canlı-akıllı sistemlerin, diğer canlı-akıllı sistemlerden elde edilen bilgilere en iyi şekilde yanıt vermesinden dolayı tercih edilmektedir (Hedayat ve ark., 2020). Tıbbi mantarlar yüzyıllarca geleneksel bir doğal biyoaktif bileşik kaynağı olarak değerlendirilmiş ve

potansiyel hipoglisemik ve antidiyabetik ajanlar olarak hedeflenmiştir (De Silva ve ark., 2012).

Bu çalışmada *Armillaria mellea* sulu ekstraktının STZ ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda kan glukozu, insülin, C-peptid, glukoz taşıyıcıları, PPAR-γ, lipid profili, enflamatuvar sitokinler, karaciğer ve böbrek hasarı biyobelirteçleri, oksidatif stress ve antioksidan kapasite üzerine etkilerinin ortaya konması amaçlandı. Bu parametreler üzerinden yola çıkarak *Armillaria mellea*'nın antihiperglisemik, antiinflamatuvar, antihiperlipidemik ve antioksidatif etkilerinin araştırılması hedeflendi.

1.1. Diabetes Mellitus

DM, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki kusurlar nedeniyle organizmanın karbonhidrat, lipid ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik, geniş spektrumlu bir metabolizma bozukluğudur (Anonim, 2019a).

1.1.1. Diabetes mellitus tipleri

1. Tip 1 DM: Pankreas β hücrelerinin otoimmün bir süreç sonunda (Tip 1a) veya otoimmünite dışı sebeplerle (Tip 1b) hasar görmesi ile meydana gelmektedir. Genetik ve çevresel faktörler, pankreasın adacık hücrelerine karşın otoimmün sürecin başlamasında tetikleyicidirler. Çevresel faktörler Tip 1 DM gelişiminde önemli olan otoimmunitenin başlamasında, baskılanmasında veya başlamış olan otoimmunitenin progresyonunun değişiminde önemli rol oynamaktadırlar. Bilinen en mühim olası çevresel faktörler; diyet, hijyen ve toksinlerdir. Hastalar, mutlak veya göreceli bir insülin yetersizliği söz konusu olduğundan, ömür boyu insülin hormonunu dışardan almak zorundandırlar. Bu nedenle Tip 1 diyabet, insüline bağımlı DM (IDDM) olarak da adlandırılmaktadır (Abacı ve ark., 2007).

2. Tip 2 DM: Hedef organlarda insülin direnci ve arka planda pankreas β hücre fonksiyon bozukluğunun neden olduğu göreceli insülin eksikliği ile karakterizedir. Tip 2 diyabetin doğal seyrinin erken dönemlerinde insülin direnci belirgin olsa da insülin salgısındaki telafi edici artış nedeniyle glukoz toleransı normal kalır. Normal glukoz toleransından hafif açlık hiperglisemisi (120-140 mg/dL) ile birlikte Tip 2 DM'ye

ilerleme süreci hiperinsülinemi ile karakterizedir. Açlık glukoz düzeyi sırasıyla yaklaşık 120 mg/dL ve 140 mg/dL üzerine çıktığında, plazma insülin seviyeleri kademeli olarak düşer. Glukoz homeostazı, karbonhidrat metabolizmasında görev alan ve glukozu en çok kullanan organlar ile sıkı bir şekilde bağlantılıdır. Tip 2 DM gelişiminde rol oynayan organlar arasında pankreas (β ve α hücreleri), karaciğer, iskelet kası, böbrekler, beyin, ince bağırsak ve yağ dokusu bulunur (DeFronzo, 2004; Chatterjee ve ark., 2017).

3. Gestasyonel DM (GDM): Gebeliğin ikinci veya üçüncü 3 aylık döneminde teşhis edilen ve hamilelik öncesinde açıkça anlaşılmayan diyabettir. Maternal aşırı kilo ve obezite, daha ileri yaşta hamilelik, önceki GDM öyküsü, ailede Tip 2 DM öyküsü ve etnik köken başlıca GDM risk faktörleridir. Teşhis genellikle bir oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile yapılır (McIntyre ve ark., 2019).

4. Diğer nedenlere bağlı spesifik DM türleri: Monojenik diyabet sendromları (yenidoğan diyabeti ve gençlerin olgunluk başlangıçlı diyabetleri), ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibroz ve pankreatit) ve ilaç veya kimyasallara bağlı DM (glukokortikoid kullanımı, AIDS tedavisinde veya organ nakli sonrası) (Anonim, 2020c).

1.1.2. Diabetes mellitus'un önlenebilirliği

Pankreatik β hücrelerinin devam eden otoimmün yıkımını durdurmayı amaçlayan çok sayıda klinik çalışma olsa da Tip 1 diyabetin önlenmesi için etkili ve güvenli bir müdahale mevcut değildir. Bununla birlikte, çocuklarda aşırı kilo ve yüksek büyüme oranının zayıf risk faktörleri olduğuna dair bazı kanıtlar vardır. Bu kanıtlar, yüksek riskli gruplar için (Tip 1 diyabetli çocukların kardeşleri gibi) aşırı beslenme ve hareketsizlikten kaçınan sağlıklı bir yaşam tarzının gerekliliğini göstermektedir. Tip 2 DM gelişimini etkileyen bir dizi faktör olmasına rağmen, en etkili olanın kentleşme ile ilişkili yaşam tarzı olduğu aşikardır. Bu yaşam tarzının özellikleri, sağlıksız gıda tüketimi ve hareketsizliktir. Dünyanın farklı yerlerinde yapılan bilimsel çalışmalar, yaşam tarzı değişikliğinin (fiziksel aktivite ve sağlıklı beslenme) Tip 2 DM'nin başlamasını geciktirebileceğini veya önleyebileceğini göstermiştir. Modern dünyadaki yaşam tarzları, fiziksel hareketsizlik ve uzun süren hareketsiz dönemlerle karakterizedir. Toplum temelli kampanyalar, eğitim ve sosyal pazarlama yoluyla bireylere ve ailelere

ulaşılabilir ve fiziksel aktiviteye teşvik edilebilir. IDF, haftada en az üç ila beş gün ve en az 30-45 dakika boyunca fiziksel aktivite önermektedir. Tip 2 DM ve komplikasyonlarını önlemek için bir yaşam seyri perspektifi edinmek gereklidir. Özellikle yaşamın erken dönemlerinde, beslenme ve fiziksel aktivite alışkanlıkları belirlenerek enerji dengesinin uzun vadeli düzenlenmesi programlanabildiğinde, aşırı kilo gelişimini önlemek ve Tip 2 DM riskini azaltmak için kritik bir pencere vardır. Sağlıklı yaşam tarzları, hayatın sonraki aşamalarında da sağlıklı olunmasını sağlayabilir. Nüfus temelli müdahaleler, ticaret, tarım, ulaştırma ve kentsel planlama politikaları aracılığıyla sağlıklı tercihlerin daha erişilebilir olmasını sağlar. Okul, işyeri, ev gibi ortamlarda sağlıklı seçimler (düzenli olarak egzersiz yapma ve doğru beslenme) teşvik edilebilir ve herkes için daha sağlıklı bir hayata katkıda bulunabilinir (Anonim, 2020d).

1.1.3. Diabetes mellitus komplikasyonları

DM hastalarında, bir dizi ciddi sağlık problemi gelişme riski vardır. Kan glukozunun sürekli yüksek seyretmesi, kalp ve kan damarlarını, gözleri, böbrekleri, sinirleri ve dişleri etkileyen ciddi hastalıklara yol açabilir. Tüm bunlara ilaveten, diyabetli kişilerde enfeksiyon gelişme riski daha yüksektir. DM, neredeyse tüm yüksek gelirli ülkelerde kardiyovasküler hastalık, körlük, böbrek yetmezliği ve alt ekstremite amputasyonunun önde gelen nedenidir. Doğru bir yaşam tarzı, kan glukozu, kan basıncı ve lipid seviyelerini normal veya normale yakın tutmaya, bu da diyabet komplikasyonlarını geciktirmeye veya önlemeye yardımcı olabilir. Bu nedenle DM hastaları düzenli olarak izlenmelidir (Anonim, 2020d).

1.1.4. Diabetes mellitus tedavisi

Günümüzde Amerikan Diyabet Derneği/Avrupa Diyabet Çalışma Derneği, Uluslararası Diyabet Federasyonu, Amerikan Endokrin Uzmanları Derneği/Amerikan Klinik Endokrinologlar Derneği, İskoçya Akademik Rehberler Ağı Komitesi, Joslin Diyabet Merkezi, Kanada Diyabet Derneği, Amerikan Hekimler Derneği, Birleşik Krallık Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü, Uluslararası Diyabet Merkezi, Almanya Diyabet Derneği, Finlandiya Diyabet Derneği, İtalya Diyabet Federasyonu ve

Avustralya Diyabet Derneği tarafından yayımlanan bütün kılavuzlarda DM tedavisinin, hastanın yaşam tarzı, alışkanlıkları, aterosklerotik kalp hastalığı, kronik böbrek hastalığı, hatta alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı başta olmak üzere eşlik eden sorunları, hipoglisemi riski, diyabet komplikasyonlarının varlığı, tedavi maliyeti, DM süresi ve daha önceki glisemik kontrol derecesi gibi özelliklerine uygun şekilde ve hastanın da tercihi dikkate alınarak planlanması önerilmektedir. Tip 1 DM'de hem ilk hem de ikinci evre insülin salınımı olmadığı için insülin enjeksiyonları ile normal fizyolojik insülin salınımı taklit edilmeye çalışılır. Tip 1 DM'de insülin ihtiyacını azaltmak ve glisemik kontrolü iyileştirmek amacıyla metformin, akarboz, pramlintid, glukagon benzeri peptid-1 reseptör analoğu (GLP-1A), dipeptidil peptidaz-4 inhibitörü, pioglitazon veya SGLT-2 inhibitörü (SGLT2-İ) gibi antihiperglisemik ilaçların insüline ek olarak kullanılabilmesi yönünde çalışmalar sürmektedir. Bu ilaçlardan akarboz dışındakilerin ülkemizde Tip 1 DM'li bireylerde kullanım onayı yoktur. Tip 2 DM'li hastalarda farmakolojik tedavi seçimi, hipergliseminin derecesine, diyabet süresine, ilaçların özelliklerine (etkinliği, gücü, yan etkileri, kardiyovasküler güvenliliği, kontrendikasyonları, hipoglisemi riski ve maliyeti), mevcut diyabet komplikasyonlarına, eşlik eden diğer hastalıklara, hastanın yaşam beklentisine ve tercihine bağlı olarak her hasta için bireysel temelde yapılmalıdır. Yeni tanı almış Tip 2 DM'li bireylerde yaşam tarzı düzenlemeleriyle birlikte, herhangi bir kontrendikasyon yoksa metformine başlanmalıdır. Hemoglobin A1c düzeyi (HbA1c) %10'un üzerinde olan ve hiperglisemik semptomları bulunan hastalarda, yaşam tarzı düzenlemeleri ile birlikte öncelikle insülin tedavisi tercih edilmelidir. Bunlar dışında daha önce sözü edilen faktörler dikkate alınarak farklı oral antihiperglisemik ilaçlar, GLP-1A veya SGLT2-İ kullanılabilir. Ayrıca her iki tip diyabette de ilaç tedavisinin sağlıklı olarak yürütülebilmesinde beslenme tedavisi, egzersiz ve fizisel aktivite önemli rollere sahiptir (Anonim, 2019a).

1.2. Oksidatif Stres

Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin (RONS) olumsuz etkileri, antioksidan savunma sistemi tarafından bertaraf edilir. Yani antioksidan savunma sistemi ile serbest radikal oluşumu bir denge halindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır.

Ancak çeşitli endojen ve eksojen süreçlerin etkisiyle RONS üretiminin artması ve antioksidan savunmanın zayıflaması sonucunda, oksidatif denge bozulur. Oksidatif dengenin bozulması durumu, oksidatif stres olarak isimlendirilir (Sies ve ark., 2017; Liguori ve ark., 2018).

1.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren yapılardır. Böyle bir yapı basit bir atom ya da kompleks yapılı organik bir molekül olabilir. Dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulunması serbest radikallerin reaktivitesini artırdığı için, serbest radikaller reaktivitesi yüksek olan kimyasal türlerdir (Kılınç ve Kılınç, 2002).

1.3.1. Serbest radikal kaynakları

1. Serbest radikal oluşturan endojen kaynaklar: Oksijenli solunum sırasında elektron transport sistemi tarafından katalize edilen oksijenler, yangı durumunda nötrofiller ve makrofajlar, lipit peroksidasyonu, otooksidasyon reaksiyonları sırasında ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz gibi enzim aktiviteleri, sitokrom p450 sisteminde meydana gelen elektron kaçakları, zihinsel stres veya vücut yorgunluğundan kaynaklanan stres, kortizol ve katekolamin gibi hormonların yol açtığı stres başlıca endojen kaynaklardır.
2. Serbest radikal oluşturan eksojen kaynaklar: X-ray, ultraviyole, gamma ve mikrodalga ışınları, pişirme sırasında organik maddelerin yakılması, orman yangınları, volkanik faaliyetler, asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve toluen gibi hava kirleticiler, temizlik ürünleri, tutkal, boya, tiner, parfümler ve böcek ilaçları gibi kimyasallar, kloroform ve diğer trihalometanlar gibi su kirletici maddeler, alkol ve sigara kullanımı, sigara dumanı, egzoz dumanı eksojen olarak serbest radikal üretimine katkıda bulunabilirler (Karabulut ve Gülay, 2016).

1.3.2. Serbest radikallerin hasar yapıcı etkileri

Serbest radikaller, hücrelerde protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asit gibi yapılara etki ederek bu yapılarda hasarlar meydana getirebilirler. Oksidatif stresin şiddetine, hedefteki hücrenin ve radikalin türüne göre farklı derecelerde hasara neden olabilirler (Cadet ve Davies, 2017).

1.3.2.1. Nükleik asit ve deoksiribonükleik asite (DNA) etkileri

Nükleik asitler, normal metabolizma, patofizyolojik süreçler ve hücre dışı kaynaklardan türetilen çok sayıda serbest radikale maruz kalırlar. RONS, nükleik asitlerdeki oksidatif hasarın ana kaynağıdır. Serbest radikallerin özellikle DNA üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarda, baz oksidasyonu, tek veya çift şeritli kırılmalar, DNA-protein çapraz bağları, zincir içi veya zincirler arası çapraz bağlanmalar gibi DNA hasarlarının görüldüğü bildirilmiştir. Oksidatif DNA hasarının onarılamadığı durumlarda mutasyonlar, heterozigotluk kaybı, kromozomal anormallikler, değiştirilmiş gen ekspresyonu ve sonunda sitostaz, sitotoksisite veya neoplastik büyüme gibi sonuçlar gözlenebilmektedir. Serbest radikallerden kaynaklanan DNA hasarı ayrıca, nörodejeneratif, kardiyovasküler ve otoimmün hastalıkları içeren bir dizi neoplastik olmayan patolojiyle de ilişkilendirilmektedir (Evans ve Cooke, 2004).

1.3.2.2. Proteinlere etkileri

Oksidatif stres sonucunda oluşan RONS, hücre içi proteinler üzerinde geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz oksidatif modifikasyona neden olur (Özcan ve ark., 2015). Hücre içi protein yapılar okside olduklarında yan zincirleri üzerinde karbonil gruplar oluşur ve bu protein karbonil türleri, protein oksidasyonun iyi birer göstergesi olarak kulanılabilir. Oksidatif stres sonucunda protein yapılarda oluşan oksidatif modifikasyonlar, hücre iskeletini oluşturan proteinlerde ve enzimlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açar (Gryszczyńska ve ark., 2017).

1.3.2.3. Karbonhidratlara etkileri

Fruktoz ve glukoz gibi monosakkaritlerin serbest radikal aracılı otooksidasyonu sonucu ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) oluşur. AGEs'in oluşumu protein ve lipit dejenerasyonunu tetikler (Lawrence ve ark., 2008). Ayrıca AGEs, diyabetik komplikasyonlar, Alzheimer hastalığı gibi çeşitli kronik hastalıklar ve inflamasyonla bağlantılıdır (Kobori ve ark., 2020).

1.3.2.4. Lipidlere etkileri ve lipid peroksidasyonu

Serbest radikaller, doymamış yağ asitleri (çift bağlı) içeren lipitlerle daha kolay tepkimeye girerler. Bu nedenle, hücrenin serbest radikallere karşı en hassas yapısı membran lipidleridir. Membran lipidleri hücresel zarların bütünlüğünün korunmasından sorumlu olduğu için, lipidlerin yoğun peroksidasyonu, membranların bileşimini, yapısını ve lipid-zar dinamiklerini etkiler. Peroksidasyon sonucu oluşan lipid peroksitler, oldukça reaktif bileşiklerdir. Bu bileşikler, DNA ve proteinleri çapraz bağlayabilen reaktif bileşiklere indirgenebilir veya ROS'un daha da artmasına neden olabilirler. Peroksidasyonun ilk basamağında, iki çift bağı köprüleyen metilen karbonundan bir H atomu çıkarılır. Oluşan karbon radikalinin oksijenle reaksiyona girmesiyle peroksil radikali meydana gelir. Peroksil radikali bir başka lipid molekülünden bir H atomu çıkararak lipid hidroperoksil oluşumuna neden olur. Sonuç olarak, kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu başlar (Gaschler ve Stockwell, 2017).

1.4. Antioksidan Savunma Sistemi ve Antioksidanlar

Canlı hücreler, RONS seviyelerini düşük tutmak için, onların oluşum ve inaktivasyon sürecini etkili bir şekilde dengelemek zorundadırlar. RONS inaktivasyonunu sağlayan, enzimatik ve nonenzimatik unsurlardan oluşan sistem, antioksidan savunma sistemi olarak adlandırılır (Tan ve ark., 2018). Antioksidan savunma sistemini oluşturan antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik olarak ikiye ayrılır;

1. Enzimatik antioksidanlar
    1.1. Primer enzimler: SOD, CAT, GPx
    1.2. Sekonder enzimler: Glutatyon redüktaz (GR), glukoz-6- fosfat degidrogenaz (G6PD)
2. Nonenzimatik antioksidanlar
    2.1. Vitaminler: Vitamin C (askorbik asit), Vitamin A (retinol), Vitamin E (tokoferoller, tokotrienoller), Vitamin K (2-metil-1,4-naftakinon)
    2.2. Antioksidan kofaktörler: Koenzim Q
    2.3. Organosülfür bileşikleri: Glutatyon, indoller, allil sülfid
    2.4. Mineraller: Selenyum, çinko
    2.5. Karotenoidler: β-karoten, likopen, lutein, zeaksantin
    2.6. Nonprotein nitrojen bileşikler: Ürik asit
    2.7. Polifenoller
        2.7.1. Flavonoidler: Kuersetin, kampferol, kateşin, pelargonidin, siyanidin, hesperidin, genistein
        2.7.2. Fenolik asitler: Ellajik asit, galik asit, ferulik asit, p-kumarik asit (Alkadi, 2020).

1.5. İnsülin

İnsülin, polipeptit bir hormondur. Hedef hücrelerin plazma membranındaki insülin reseptörlerine bağlanarak, besin mevcudiyetine entegre anabolik yanıtı düzenler. Ayrıca bir büyüme faktörüdür. Birçok somatik hücre tipi insülin reseptörlerini eksprese etmesine rağmen, insülinin glukoz homeostazındaki rolü, iskelet kası, karaciğer ve beyaz adipositler üzerindeki doğrudan etkileriyle tanımlanır. İskelet kasında glukoz taşınmasını ve net glikojen sentezini artırarak glukoz kullanımını ve depolanmasını destekler. Karaciğerde glikojen sentezini aktive eder, lipojenik gen ekspresyonunu artırır ve glukoneojenik gen ekspresyonunu azaltır. Beyaz yağ dokusunda lipolizi baskılar, glukoz taşınmasını ve lipogenezi artırır. Bu doğrudan etkilere ek olarak; beyaz adipoz dokuda lipolizi inhibe etmek yoluyla hepatik glukoneogenezi bastırmak, langerhans adacığından glukagon salınımını parakrin etki ile bastırmak, merkezi sinir

sistemi üzerindeki tesiri ile periferal metabolik kontrolde etkili olmak gibi önemli dolaylı etkileri de mevcuttur (Vigneri ve ark., 1016; Petersen ve Shulman, 2018).

1.6. C-Peptid

C-peptid, insülin molekülünün α ve β zincirlerini birbirine bağlayan proinsülin molekülünün bir parçası olarak 31 amino asitten oluşur. C-peptid proteolitik bölünmeye uğrar. Beta zincirinin karboksi terminalinde insülin reseptörüne sinyal transdüksiyonunu sağlar ve insülinin glikoregülatör fonksiyonlarını modüle eder. Yarılanma ömrü insülininkine göre daha uzun olduğu için (C-peptid 20-30 dk, insülin 3-5 dk) C-peptid seviyeleri, glukoz karışık öğüne β hücre yanıtını test etmek için daha tutarlı verilerdir (Anoop ve ark., 2019).

1.7. Lipid Profili

İnsülin direnci veya Tip 2 diyabet (T2D), plazmada (açlık ve postprandiyal) yüksek düzeyde trigliserit bakımından zengin lipoproteinler ve düşük seviyede HDL-C ile karakterize edilen dislipidemi ile yakından ilişkilidir (Taskinen ve Boren, 2015). Ayrıca diyabetli ve zayıf lipit profili olan hastalar, kardiyovasküler morbidite ve mortalite riski altındadır. Çünkü bu durumlar kardiyovasküler olaylar için ana risk faktörleridir (Anonim, 2020e).

1.7.1. Trigliserit (triasilgliserol veya triaçilgliserit)

TG'ler, bir gliserol ile esterleştirilmiş üç yağ asidi molekülü içerir ve yağ asitlerinin depolanmasını sağlarlar. TG eksojen olarak gıdalar ile alınır ve endojen olarak karaciğer tarafından sentez edilir. TG sentezi, adipoz doku ve karaciğer hücrelerinin endoplazmik redikulumunda gerçekleşir. Dolaşımda eksojen TG şilomikronlar, endojen TG ise çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) ile taşınır. TG'ler, adipoz dokuda lipid damlaları şeklinde depolanır. Apolar ve esnek moleküllerdir. Karbon-karbon tek bağlarının etrafında dönebilir ve birçok farklı konformasyon gösterebilirler. Üç apolar karbon zinciri, molekülü suda çözünmez kılan

lipofilik yapıdan sorumludur. TG yıkımı ile açığa çıkan yağ asitleri enerji kaynağı olarak kullanılır. Biyosentetik reaksiyonlar için karbon kaynağıdırlar. En önemlisi de asetil-CoA temin ederler (Çetinkalp, 2017). Artmış plazma TG konsantrasyonu, etnik kökene bakılmaksızın hepatik insülin direncinin, karaciğer yağlanmasının ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalığın önemli bir nedenidir (McAuley ve ark., 2001; Ismaiel ve Dumitraşcu, 2019; Raygor ve ark., 2019).

1.7.2. Kolesterol

Kolesterol, hücre zarlarının akışkanlığını ve biyofiziksel özelliklerini belirleyen temel bir bileşenidir. Birçok deneysel kanıt, kolesterolün sinyal verme ve proteoliz gibi olayların ince ayarlı modülasyonuna izin veren moleküllerin dinamik bölümlemesine katkıda bulunduğunu ileri sürmektedir. Ayrıca kolesterol, birkaç sinyal molekülünün öncüsü (safra tuzları, steroid hormonları ve D vitamini) veya kofaktörü olarak hizmet eder. Kolesterolün büyük bir kısmı (1 gr/gün) vücut tarafından sentezlenirken, ortalama bir diyetle küçük bir kısmı (yaklaşık 0.3 gr/gün) dışarıdan alınır. Dışarıdan alınan kolesterol, bağırsakta diğer yağlarla beraber emilerek şilomikronlar ve VLDL yapıları içinde dolaşıma geçer. Kandaki seviyesinin referans aralıkları içinde olması şartıyla yaşam için gerekli bir maddedir. Normal bir insanın kan kolesterol değeri 200 mg/dL civarındadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2004; Ledesma ve Dotti, 2006).

1.7.3. Plazma lipoproteinleri

Plazma lipoproteinleri suda çözünmeyen kolesterol, trigliserit gibi lipidlerin kandaki taşınma formlarıdır. Plazma lipoproteinleri yoğunluklarına göre beş gruba ayrılabilir; şilomikronlar, VLDL, düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL), ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL). Lipoproteinlerin yapısında, nispeten her lipoprotein tipi için karakteristik olarak kabul edilen ve alfabetik sırayla A, B, C, v.b. şeklinde adlandırılan yaklaşık 10 değişik apoprotein bulunmaktadır. Lipoproteinlerin farklı görevleri vardır. Şilomikronlar eksojen lipidlerin bağırsaklardan karaciğere taşınmasında görev alırken, LDL ve VLDL

dokuların lipid ihtiyaçlarının karşılanmasında; HDL ise kolesterolün dokulardan karaciğere taşınmasında görevlidir (Yalçın ve Çetin, 2001).

1.7.3.1. Düşük yoğunluklu lipoprotein

Yaklaşık olarak 200 Aº çapında olan LDL, boyut olarak öncülerine (VLDL ve IDL) göre daha küçüktür, fakat yoğunluğu artmış durumdadır (d = 1.019- 1.063 g/mL). LDL, %75 oranında lipid içerir. Baskın lipit grubu kolesteroldur ve LDL'nin yaklaşık %50'sini oluşturur. Birincil görevi kolesterolü karaciğerden periferik dokulara taşımaktır. Plazmadaki LDL'nin büyük miktarının VLDL'nin bir katabolizma ürünü olduğu düşünülmektedir. Apo B-100 LDL'deki tek apoproteindir. Plazmadan LDL'nin uzaklaştırılması büyük oranda karaciğer hücrelerince gerçekleştirilir. Plazma LDL'nin hepatositler tarafından LDL reseptörü aracılığıyla uzaklaştırılmasında, yapıdaki Apo B-100 ve hücre yüzeyindeki reseptör sayısı etkilidir. LDL, bilinen en aterojenik faktördür. Kandaki seviyesinin yükselmesi insanlarda aterosiklerozisin bir habercisi olarak kabul edilmektedir (Yalçın ve Çetin, 2001).

1.7.3.2. Yüksek yoğunluklu lipoprotein

HDL, lipoproteinler içerisinde yoğunluk olarak en fazla (d= 1.063-1.21 g/mL), çap olarak en küçük olanıdır (70-120 A°). Apo A-I ve Apo A-II HDL'deki ana apoproteinlerdir ve bir HDL partikülünün %50'sini oluştururlar. HDL'in esas görevi kolesterolü periferal hücrelerden karaciğere taşımaktır. HDL partikülleri, yoğunlukları dikkate alınarak HDL_1 (1.050-1.063 g/mL), HDL_2 (1.063-1.12 g/mL) ve HDL_3 (1.12-1.21 g/mL) olmak üzere üç sınıfa ayrılırlar. HDL_3, serbest kolesterolün mükemmel bir alıcısıdır. Alınan ve esterleştirilen serbest kolesterol miktarı arttıkça partikülün boyutu büyür ve HDL_2 oluşur. HDL_2, insanlarda bazı hayvanlara (fare, sıçan, köpek) göre kolesterol esterleri yönünden daha da zenginleşebilir ve aynı zamanda Apo E edinebilir. HDL grupları içerisinde Apo E'yi yapısında bulunduran tek fraksiyon HDL_1'dir ve total plazma Apo E'sinin yaklaşık %50'sine sahiptir. Aslında HDL'in az bir miktarını oluşturur, fakat metabolik olarak aktif bir alt sınıftır. HDL partikülleri antiaterojenik lipoprteinlerdir (Yalçın ve Çetin, 2001).

1.8. Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör-γ

PPAR ailesi PPAR-α, PPAR-δ ve PPAR-γ olmak üzere 3 alt sınıftan oluşur. Bunlar ligandla aktive edilen ve gelişimsel, metabolik ve antiinflamatuar süreçleri düzenleyen transkripsiyon faktörleridir (Jawerbaum ve Capobianco, 2011). Başlıca adipojenik transkripsiyon faktörü olan PPAR-γ, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını kontrol eden genlerin ekspresyonunun düzenlenmesinde vazifelidir. Ligandları metabolik sendrom ve Tip 2 DM tedavisinde kullanılır (Okuyucu ve ark., 2011; Egorov ve ark., 2015).

1.9. Alfa-Glukozidaz

Alfa-Glukozidaz, hayvanlar, bitkiler, bakteriler ve mantarlar dahil olmak üzere bir çok türde bulunan ve glukozit hidrolaz ailesinin 13 üyesinden biri olan bir enzimdir (Chiba, 1997). Bu enzim, ince bağırsak tarafından emilebilen ve böylece kan dolaşımına girebilen α-glukoz oluşturmak için, oligosakaritlerin indirgenmeyen uçlarından α-1,4 glukozidik bağların bölünmesini katalize eder (Ding ve ark., 2018).

1.10. Glukoz Taşıyıcı Proteinler

GLUT'lar, SGLT'ler ve yakın zamanda karakterize edilen SWEET'ler olmak üzere üç glukoz taşıyıcı protein ailesi mevcuttur.

GLUT'lar, SLC2 genleri tarafından kodlanan glukoz taşıyıcı proteinlerdir ve insanda GLUT-1'den GLUT-14'e kadar 14 üyesi tanımlanmıştır (Deng ve Yan, 2016). Monosakkaritlerin, poliollerin ve diğer küçük karbon bileşiklerinin ökaryotik hücrelerin zarları boyunca taşınmasına, GLUT bütünleşik zar proteinleri ailesinin üyeleri aracılık eder. GLUT ailesinin üyeleri, çeşitli substrat spesifitelerine sahiptir. H^+/miyo-inositol simporter olan HMIT dışında GLUT ailesinin tüm üyeleri kolaylaştırıcı (kolaylaştırılmış diffüzyon) taşıyıcılardır (Mueckler ve Thorens, 2013).

SGLT'lerin, SGLT-1'den SGLT-12'ye kadar 12 üyesi tanımlanmıştır. SGLT'ler, aynı kademeli moleküler taşıma şeklini paylaşan transmembran proteinleridir. Glukoz molekülleri sodyum konsantrasyon farkına bağlı olarak taşınır. Sodyum hücre dışı

yüzeye bağlandığında SGLT'lerin moleküler konformasyonu bir heksoz bağlanma alanı açığa çıkarılması için değişir. Heksoz molekülü bu alana bağlanır, protein hücre içi tarafa döner. Sodyum ve heksozu hücre sitoplazmasına bırakır ve son olarak orijinal konformasyona geri döner (Ferrannini, 2017).

1.10.1. Sodyum glukoz ko-transporter-1 ve 2

SGLT-1 yüksek afiniteli (glukoz için yaklaşık 0.4 mM ve sodyum için yaklaşık 3 mM) ve sodyum:glukoz için 2:1 stokiyometriye sahip düşük kapasiteli bir glukoz taşıyıcıdır. Tersine, SGLT-2 düşük afiniteli (glukoz için yaklaşık 2.0 mM ve sodyum için 0.1 mM) ve sodyum/glukoz için 1:1 stokiyometri ile yüksek kapasiteli glukoz taşıyıcıdır. SGLT-1 benzer kinetiklerle galaktozu da taşırken, SGLT-2 esasen sadece glukozu taşır (Tahrani ve ark., 2013). SGLT-1 bağırsak, böbrek, kalp, beyin, trake, testis ve prostat dokularında bulunur. SGLT-2 ise böbrek, beyin, karaciğer, tiroid, kas, kalp dokularında dağılım gösterir (Göksu, 2018).

1.10.2. Glukoz transporter-2

GLUT-2 ilk defa sıçan ve insan karaciğeri komplementer DNA (cDNA) kütüphanelerinden Slc2a2/SLC2A2 geninin klonlanması sonucu cDNA'nın karakterize edilmesiyle tespit edilmiştir (James ve ark., 1988; Kayano ve ark., 1988). GLUT-2, glukoza afinitesinin (Km 17 mM) düşük olmasından dolayı glukoz taşıyıcıları arasında benzersiz bir özelliğe sahiptir. Aynı zamanda düşük afiniteyle galaktoz (Km 92 mM), mannoz (Km 125 mM) ve fruktoz (Km 76 mM) taşıyabilir. Glukozamin (Km 0.8 mM) için çok yüksek bir afiniteye sahiptir. GLUT-2'nin, glukoz yükünün varlığında bağırsağın bazolateral tarafından apikal tarafına geçtiği ve glukoz alımının neredeyse %75'ine katkı sağladığı tespit edilmiştir. GLUT-2, böbrek proksimal tübülünde yeniden emilen toplam glukozun yaklaşık %90'ından sorumludur. Karaciğerde GLUT-2, çift yönlü glukoz akışını kontrol eder ve pankreas β hücrelerinde bir glukoz sensörü olarak görev yapar. Birçok beyin yapısına dağılmış az sayıda nöronda ve astrositlerde; aynı zamanda tanisitler ve üçüncü ventrikülün tabanını ve tavanını kaplayan özel hücrelerde de ifade edilir (Mueckler ve Thorens, 2013; Kamble ve ark., 2020).

1.11. Tümör Nekroz Faktör-α

TNF-α, birçok hastalığın inflamasyon patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle son yıllarda TNF-α inhibitörleri, psoriazis, psoriatik artrit, Crohn hastalığı, romatoid artrit ve ankilozan spondilit gibi birçok inflamatuvar hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. TNF-α, akut faz reaksiyonunu indükleyen proinflamatuvar bir sitokindir. Apopitotik hücre ölümünü ve inflamasyonu uyarır, tümör gelişimini ve viral replikasyonu engeller. Aktive makrofajlardan ve T hücrelerinden transmembran prekürsör proteini şeklinde sentezlenir. Prekürsör TNF-α'nın sitoplazmik kuyruğu, TNF-α converting enzyme tarafından parçalanır ve sonuçta TNF açığa çıkar. Üç TNF monomeri bir araya gelerek trimerik TNF'yi meydana getirir. Trimerik TNF, TNFR-1 veya TNFR-2 reseptörüne bağlanarak aktivite gösterir. TNF-α, inflamatuvar sitokinlerin (interlökin-1β, interlökin-6, interlökin-8) salınımını uyarır ve bir seri kemokinin artışına yol açar (MCP-1, MIP-2, RANTES, MIP-1α). Ayrıca endotel adezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1, eselektin) güçlü bir aktivatörüdür. TNF-α'nın bu işlevleri, inflamatuvar reaksiyonlarla ilgili sürecin başlamasını ve sürdürülmesini düzenler (Kalfa ve Aksu, 2011).

1.12. İnterlökin-6

Sitokinler, inflamatuvar yanıtta ve diyabet, kanser gibi hastalıkların patogenezinde önemli rol oynar. Sitokinlere en iyi örneklerden biri IL-6'dır. IL-6, multi-poietik bir sitokin olup karaciğerde sentezlenir. IL-6, tümör hücrelerinin büyümesini ve differansiyonunu sağlar. Lipoprotein lipaz aktivitesini, yağ asidlerinin sentezini ve yağ depolanmasını azaltır. Aynı zamanda, diğer sitokinlerin ekspresyonuna katkıda bulunur (Kemik ve ark., 2010; Yalçınkaya ve ark., 2017).

1.13. Kreatinin

Kreatinin, enzimatik olmayan halkalaşma ile kreatin veya kreatin fosfattan üretilir ve idrarla atılır. Kreatin ise genellikle glisin, arginin ve metiyoninden endojen olarak sentezlenir. Yaklaşık %90'ı kasta ve geri kalanı ise plazma ve beyinde bulunur.

Kreatin, ATP (adenozin trifosfat) hidrolizi ile birlikte tersine çevrilebilir bir reaksiyonla kreatin kinaz tarafından fosfokreatine dönüştürülür (Patel ve ark., 2020). Kreatin fosforilasyonu, yüksek enerjili fosfatların fosfokreatin şeklinde depolanmasını sağlar. Bu sayede kalp veya iskelet kasları gibi yüksek enerji ihtiyacı olan dokuların enerjisini yönetmede önemli bir rol oynar. İstirahat halindeki kasta ATP'den fosfokreatin, hareket halindeki kasta ise fosfokreatinden ATP sentezlenir. ATP'nin hidrolizi ile açığa çıkan enerji ile de kas kasılması sağlanmış olur (Chung ve ark., 2019).

1.14. Üre

Suda çözünebilen küçük bir molekül olan üre, karaciğerde amino asitlerin ve diğer azotlu metabolitlerin yıkımı sırasında oluşur. Serbest amonyaktan ve aspartattan gelen birer azot, ürenin azotlarını oluşturur. Yapısındaki karbon ve oksijen ise karbondioksitden gelir. Normal şartlarda üretildiği hızla böbrekler tarafından idrara atılır ve idrardaki azotlu bileşiklerin yaklaşık %90'ı üre şeklindedir. Böbrek işlevi bozulduğunda, kan üre yoğunluğu giderek artar. Bu nedenle, üre böbrek işlevinin, protein alımının ve diyaliz yeterliliğinin göstergesi olarak kullanılmıştır (Champe ve Harvey, 2004; Giardino ve ark., 2017).

1.15. Aspartat Aminotransferaz ve Alanin Aminotransferaz

AST (EC 2.6.1.1) ve ALT (EC 2.6.1.2) enzimleri esas olarak karaciğerde bulunmakla beraber kırmızı kan hücreleri, kalp kası, iskelet kası, pankreas ve böbrek gibi organlarda da bulunur. AST ve ALT'nin önceki adları, sırasıyla serum glutamik oksaloasetik transaminaz (SGOT) ve serum glutamik pirüvik transaminazdır (SGPT). Kandaki normal konsantrasyonlar AST için 5-35 U/L ve ALT için 5-40 U/L arasındadır. Ancak bu enzimlerin bulunduğu karaciğer veya kalp gibi organlar hasar gördüğünde, kan dolaşımına daha fazla AST ve ALT salınır. Bu nedenle kandaki AST ve ALT miktarı doku hasarının boyutu ile doğrudan ilişkilidir. Karaciğer hastalığına özgü olmamakla birlikte, çeşitli karaciğer bozukluklarının seyrini izlemek için diğer enzimlerle kombinasyon halinde kullanılabilir (Huang ve ark., 2006).

$$\text{L -Aspartat} + \alpha\text{ -ketoglutarat} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oksalasetat} + \text{Glutamat}$$

$$\text{L -Alanin} + \alpha\text{ -ketoglutarat} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{Glutamat} + \text{Pirüvat}$$

1.16. Malondialdehit

MDA, hücrelerde çoklu doymamış yağ asitleri peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir (Gawel ve ark., 2004). Birincil lipid hidroperoksit ürünlerinin miktarının belirlenmesi, kararsızlıkları ve reaktiflikleri nedeniyle zordur. Bu nedenle, lipid peroksidasyonunun düzeyi, genellikle birincil hidroperoksitlerden türetilen MDA gibi ikincil oksidasyon ürünlerinin miktarları ölçülerek tahmin edilir (Davey ve ark., 2005). Kimyasal olarak MDA, 1. ve 3. karbon konumlarında iki aldehit grubuna sahip olan, üç karbonlu reaktif bir organik moleküldür. MDA enzimatik olmayan şekilde ROS'un etkileri ile veya enzimatik olarak lipoksijenaz aktivitesi ile oluşabilir (Farmer ve Mueller, 2013).

1.17. Glutatyon

GSH ökaryotik hücrelerde en bol bulunan protein olmayan bir tioldür. Oksitlenmiş ortağı (GSSG) ile birlikte hücresel redoks dengesini sürdürür, S-glutatyonilasyon yoluyla protein fonksiyonlarını düzenler, demir-sülfür kümesi olgunlaşmasına katkıda bulunur ve gen ekspresyonunu doğrudan etkinleştirmek için bir sinyal molekülü ödevi görür. Bu önemli işlevler, GSH'nin hücre içi konsantrasyonu ve dağılımı ile dinamik olarak düzenlenir (Fratelli ve ark., 2005; Kumar ve ark., 2011; Pimentel ve ark., 2012; Ghezzi, 2013; Kannan ve ark., 2014; Reniere ve ark., 2015).

1.18. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ile moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen SOD (EC 1.15.1.1) enzimi, ilk defa 1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır (McCord ve Fridovich, 1968). Memelilerde üç SOD izoformu mevcuttur. CuZn-SOD veya SOD-1, sitozol ve çekirdekte bulunan başlıca hücre içi SOD'dur. Mn-SOD veya SOD-2 mitokondride bulunur. SOD-3 ise plazma,

lenf ve sinovyal sıvıda bulunur ve hücre dışı SOD (EC-SOD) olarak adlandırılır (Nozik-Grayck ve ark., 2005). SOD, antioksidan savunma sisteminin ilk basamağını meydana getirir. Normal metabolik süreç boyunca oksijenin kullanılmasından dolayı yüksek oranda $O_2•^-$ meydana gelir. Yüksek orandaki $O_2•^-$ hücre için son derece tehlikelidir. Bununla birlikte hücre içi $O_2•^-$ oranı SOD enzimi tarafından belirli bir seviyenin altında tutulur. Bu şekilde $O_2•^-$'nin hücreye zarar vermesi engellenmiş olur. Oksijen tüketimi nispeten fazla olan dokulardaki SOD aktivitesi, diğer dokulardaki SOD aktivitesine oranla daha yüksektir. Ekstrasellüler SOD aktivitesi ise oldukça düşük düzeydedir (Çakır, 1997; Kaminaka ve ark., 1999).

$$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2$$

1.19. Katalaz

CAT (H_2O_2: H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6), H_2O_2'yi su ve moleküler oksijene parçalar ve bu yolla biyolojik sistemleri H_2O_2'nin zararlı etkilerine karşı korumuş olur. İlk olarak 1937 yılında Sumner ve Dounce tarafından sığır karaciğerinden elde edilmiştir (Sumner ve Dounce, 1937). Bu enzim aktif merkezinde dört adet ferrihem grubu (Fe^{3+} protoforfirin) bulunduran bir hemoproteindir. Her alt birim, enzimi kendi substratı H_2O_2'ye karşı koruyan ve aktivitesini yükselten NADPH içerir. H_2O_2 bir radikal değildir fakat, Fe_2^+ varlığında çeşitli biyomoleküllere saldıran yüksek derecede reaktif hidroksil radikaline (OH•) indirgenebilir (Kirkman ve Gaetani, 2007; Tehrani ve Moosavi-Movahedi, 2018).

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{CAT}} 2H_2O + O_2$$
$$AH_2 + H_2O_2 \longleftrightarrow A + 2H_2O$$

1.20. Glutatyon Peroksidaz

İlk defa Mills tarafından 1957 yılında hayvan eritrositlerinden izole edilmiştir (Mills, 1957). GPx (EC 1.11.1.9), bir elektron vericisi olarak indirgenmiş glutatyon

kullanan ve H_2O_2 veya organik hidroperoksitlerin suya veya karşılık gelen alkollere indirgenmesini katalize eden çoklu izozimler ailesinin genel adıdır. Memeli dokularında selenyum bağımlı dört ana GPx izozimi vardır. Bunlar; eritrositlerde, karaciğerde, akciğerde ve böbrekte bulunan klasik GPx (GPx-1), gastrointestinal GPx (GPx-2), böbrek, akciğer, epididim, vas deferens, plasenta, seminal vezikül, kalp ve kas gibi farklı organlarda bulunan plazma GPx (GPx-3) ve fosfolipid GPx (PHGPx-4 veya GPx-4). Memelilerde tanımlanan diğer iki izozim, GPx-5 ve GPx-6, GPx-3 ile yakından ilişkilidir. GPx-1, GPx-2 ve GPx-3 homotetramerler olarak işlev görürken, GPx-4 bir monomer olarak işlev görür (Margis ve ark., 2008).

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{GPx} ROH + GSSG + H_2O$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} NADP^+ + 2GSH$$

1.21. Histopatolojik Olarak İncelenen Organlar

1.21.1. Böbrek

Böbrekler karın arka duvarında, onikinci torasik ve üçüncü lomber omur seviyeleri arasında uzanırlar. Sağ böbrek, karaciğerin sağ lobuyla olan ilişkisi nedeniyle soldan biraz daha düşük bir konuma sahiptir. Süperior olarak karaciğerin sağ lobu ve dalak tarafından örtülü olup sol tarafta ise mide ile sınırlanmıştır. Adrenal bezler, her böbreğin üst sonlamında süperomedial olarak uzanır. Böbrekler, posterior olarak üstte diyafram ve altta quadratus lumborum kasıyla ilişkilidir. Oniki parmak bağırsağı ve pankreasın kuyruğu sırasıyla sağ ve sol böbrek hilumunun hemen önünde yer alır. Böbrekler, medial olarak psoas majör kasın yanı sıra inferior vena kava ve abdominal aort ile sınırlanmıştır. Lifli bir kapsülle kaplıdırlar ve kendilerini çevreleyen perirenal yağ denen bir yağ tabakası vardır. Nefron, böbreğin temel yapısal ve fonksiyonel birimidir. Her insan böbreği yaklaşık 800.000 ila 1.200.000 nefron içerir. Nefron, renal korpüskül (bowman kapsülü ve glomerulus) ve renal tübülü içerir. Böbrek tübülü sırasıyla proksimal tübül, henle kulpunun ince uzuvları, kıvrımlı ve düz bir bölüm içeren distal tübül ve toplama kanalına boşalan bağlantı segmentinden oluşur. Tübüller,

nefronlar ve vasküler ağ arasında karmaşık uzaysal düzenlemeler sergiler. Bu yapısal organizasyon, renal korpüskülde glomerüler filtrasyonla üretilen ultrafiltratın konsantrasyonuna izin veren karşı akım sisteminin temelidir (Hallgrímsson ve ark., 2003). Böbrekler homeostazın merkezidir. Mükemmel duyusal mekanizmalar yoluyla kan basıncını, su, sodyum, potasyum, kemik mineralleri ile hemoglobin miktarını ve asiditeyi düzenlerler. Ancak temel görevi, metabolizmanın atık ürünlerinin idrarla atılmasıdır. Kalpten çıkan kanın yaklaşık %22'si böbreklere gider ve plazmanın yaklaşık %20'si süzülerek günde yaklaşık 170 L glomerüler filtrat üretilir. Bunun yüzde %99'u nefronlardan akarken yeniden emilir, bu nedenle günde sadece yaklaşık 1,5 L idrar oluşturulur. Filtrasyon, glomerüler filtrasyon bariyerinden gerçekleşir (Rayner ve ark., 2020).

1.21.2. Karaciğer

Karaciğer vücuttaki en büyük bezdir. Yetişkinlerde yaklaşık 1500 gr ağırlığında olup, toplam vücut ağırlığının %2.5'ini oluşturur. Sağ aşağı karın boşluğu ile sol diyaframın bir bölümünü kaplar ve Glisson kapsülü olarak bilinen lifli bir zarla çevrelenmiştir. Karaciğer ayrıca diyaframa doğrudan bitişik olduğu çıplak bir alan dışında, anterior ve posterior olarak viseral peritonla kaplıdır. Üstte koroner ligament tarafından diyaframdan, önde falciform ligament tarafından ve porta hepatiste gastrohepatik ve hepatoduodenal ligamentler tarafından asılır. Karaciğer, parankimal ve parankimal olmayan tipler olarak sınıflandırılabilen 5 tip özel hücreden oluşur. Karaciğer parankimi hücresel düzeyde altıgen lobüller halinde düzenlenmiştir. Hepatik arter, portal ven ve safra kanalının dalları, her lobülün çevresinde bir portal triad oluşturmak için düzenlenir. Lobüller ince duvarlı sinüzoidal kılcal damarlara sahiptir ve portal triadı merkezi bir vene doğru boşaltır. Her sinüzoidal kapiller, parankimal olmayan sinüzoidal endotel hücreleri (1) aracılığıyla portal kanın hepatositlerle iletişimine izin verir. Parankimal hepatositler (2), karaciğerin kütlesine hakimdir ve tek tek sinüzoidal kılcal damarları çevreleyen hücre kordonları halinde düzenlenmiştir. Sentez, depolama, ekzokrin, endokrin fonksiyonlar ve portal venöz kanın filtrasyonu dahil olmak üzere karaciğerin birçok fonksiyonundan sorumludurlar. Kupffer hücreleri (3), immünolojik ve fagositik fonksiyonlara sahip özel karaciğer makrofajlarıdır.

Hepatik yıldız hücreleri (4) tipik olarak hareketsizdir ancak hepatik fibroz ile ilişkili patolojik karaciğer yeniden modelleme sürecinin ayrılmaz bir parçasıdır. Safra kanalı epitel hücreleri (5) safrayı taşır, bikarbonat ve su salgılayarak pH'ını korur (Juza ve Pauli, 2014).

1.21.3. Pankreas

Pankreas, yaklaşık 100 gr ağırlığında ve 14-20 cm uzunluğunda olup, baş, gövde ve kuyruk kısımlarından oluşmaktadır. Pankreasın kuyruğu, karnın sol üst kadranında ve başı ise orta hattın hemen sağında (sağ üst kadranda) konumlanmıştır. Baş kısmı, onikiparmak bağırsağının yanında yer alır. Kuyruk kısmı, dalağın hilusuna kadar uzanır. (Longnecker, 2014). Pankreas, işlevselliklerinde farklılık gösteren ekzokrin ve endokrin dokulardan oluşur. Ekzokrin kısım (pankreasının yaklaşık %98'i), sindirim enzimlerini duodenuma salgılayan ve taşıyan asiner ve duktal hücrelerden oluşur. Endokrin kısmının (pankreasının yaklaşık %2'si) birincil işlevi kan şekeri düzeylerini dinamik bir şekilde düzenlemektir. Bu kısım**,** beş ayrı hormon üreten α hücreleri (glukagon), β hücreleri (insülin), δ hücreleri (somatostatin), PP hücreleri (pankreatik polipeptit) ve ε hücrelerini (grelin) içeren Langerhans adacıklarından oluşur (Andrei ve Ganon, 2020).

1.22. *Armillaria mellea* ile İlgili Genel Bilgiler

Armillaria mellea sistematiği (Anonim, 2019b).

- Domain: *Eukaryota*
- Alem: *Fungi*
- Şube: *Basidiomycota*
- Altşube: *Agaricomycotina*
- Sınıf: *Agaricomycetes*
- Altsınıf: *Agaricomycetidae*
- Takım: *Agaricales*
- Aile: *Physalacriaceae*
- Cins: *Armillaria*
- Tür: *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm 1871

Armillaria mellea, kuzey ılıman bölgelerde daha çok görülmekle birlikte tüm kıtalarda yaprak döken, iğne yapraklı ve karışık ormanlarda yayılabilen bir türdür. Ilıman iklimlerde, en çok temmuz-kasım ayları arasında, özellikle de ekim ayında bol miktarda gelişir. Bu tür; kütükler üzerinde saprofitik olarak gelişebilen, yaprak döken ve iğne yapraklı ağaçların köklerini parazitik olarak enfekte edebilen veya Asya, Avustralya ve Yeni Zelanda'da görülen orkide türü *Gastrodia elata* ile mikorizal bir ilişki içinde simbiyotik olarak yaşayabilen bir türdür (Muszyńska ve ark., 2011). *Armillaria mellea* yenilebilir mantarlar arasında gösterilmektedir (Muszyńska ve ark., 2013).

1.22.1. *Armillaria mellea*'dan elde edilen bazı bileşikler ve etkileri

Armillaria mellea Avrupa ve Asya'da tıbbi bir mantar olarak kabul edilir. Karbonhidratlar, steroller, sfingolipitler, yağ asitleri, seskiterpenler, halüsinojenik olmayan indol bileşikleri, peptitler, enzimler, adenozin türevleri gibi farklı organik bileşik gruplarını ihtiva etmektedir. Bu bileşikler antibakteriyel, fibrinolitik, antikanser, antiaterojenik ve immün sistemi uyarıcı potansiyele sahiptirler. Beyin ve kemik iliği hücreleri üzerinde koruyucu etkileri ve önemli diyetetik değerleri vardır (Muszyńska ve ark., 2011). *Armillaria mellea*'dan izole edilen bileşiklerin olumlu etkilerini araştıran birçok bilimsel çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde *Armillaria mellea* polisakkaritlerinin, in vitro olarak tümör hücrelerinde apopitotik etki yoluyla güçlü antitümör aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir (Wu ve ark., 2012). Bir başka çalışmada *Armillaria mellea*'da, antiinflamatuar, antioksidan, antikarsinojenik etkisi olduğu bilinen fenolik asitler (protokatekuik asit, p-hidroksibenzoik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit, vanilik asit) ve sinamik asit varlığı, yüksek performanslı sıvı kromotografisi (HPLC) ile gösterilmiştir (Muszyńska ve ark., 2013). *Armillaria mellea*'dan elde edilen bir bileşik olan armillarikin'in, insan lösemi K562, U937 ve HL-60 hücrelerinde mitokondri disfonksiyonu, kaspaz aktivasyonu ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini içeren bir mekanizma yoluyla büyümeyi inhibe ettiği ve apopitozu indüklediği tespit edilmiştir (Chen ve ark., 2014). Li ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Armillaria mellea*'dan elde edilen 5-hydroksil-armillarivin, armillaridin, armillartin, armillarilin, armillasin, armillarigin ve melleolide gibi

protoilludan seskiterpen aril esterlerinin HEPG2 (karaciğer tümör hücre kültürü) hücrelerinde antitümör aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Alzheimer hastalığı ile ilgili yapılan bir çalışmada; *Armillaria mellea* polisakkaritlerinin nükleer apopitozu baskılamak, hücre içi ROS birikmesini engellemek, kaspaz-3 aktivasyonunu önlemek ve mitokondriyal membran potansiyelini iyileştirmek yoluyla sıçan beyin hücrelerinde apopitozu azalttığı ve nörodejeneratif hastalıkları tedavi etmek veya önlemek için nöroprotektif bir aday olarak önerilebileceği bildirilmiştir (An ve ark., 2017). Chang ve ark. (2018), *Armillaria mellea*'dan izole edilen ksilosil 1,3-galaktofukanın, RAW264.7 makrofajlarında (hücre hattı) TNF-α ve sitokin monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) salınımını önemli ölçüde baskıladığı için yeni bir antiinflamatuar ajan olarak tanınabileceğini bildirmişlerdir.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

DM, milyonlarca kişiyi etkileyen metabolik bir hastalıktır (Berber ve ark., 2019). Diyabette ortaya çıkan iki yaygın mekanizma, insülin salınımı ve aktivitesinin azalmasıdır ki bunların her ikisi de oksidatif stres ile daha da artar. İnsülin eksikliği veya aktivite yetersizliği sonucu artan glukoz, plazmada bulunan proteinlerle reaksiyona girdiğinde ayrıca ROS üreten gelişmiş glikasyon son ürünlerinin oluşumuna yol açar (Ighodaro, 2018). Yani, artan oksidatif stres, diyabetin hem önemli bir nedeni hem de sonucudur (Thakur ve ark., 2018). Oksidatif stresin artışı, antioksidan savunmaları tüketerek hücrelerde hasara yol açar (Dludla ve ark., 2017). Bu nedenlerle CAT, GPx, SOD, GR ve GST gibi endojen antioksidan enzimlerin eksojen antioksidan ajanlar kullanılarak güçlendirilmesi, DM'nin organlar üzerindeki yan etkilerini azaltabilir (Sadeghi ve ak., 2018). Diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, tedavi edilmeyen diyabetik sıçanlarda serum insülin seviyeleri ile pankreas SOD, CAT, GPx, GST ve GR enzim aktivitelerinin azaldığı, MDA düzeylerinin ise arttığı bildirilmiştir (Nna ve ark., 2018).

Diyabette oksidatif stresin yanı sıra, TNF-α ve IL-6'nın önemli aracılar olduğu sistemik bir inflamatuvar reaksiyon da vardır (Tilg ve Moschen, 2008). Oksidatif stres dokulardaki proinflamatuvar süreçlerin aşırı aktivasyonu ile birleştiğinde, DM'nin ilerlemesinden ve yaşamı sınırlayan komplikasyonlardan sorumlu olur (Kafle ve ark., 2013). Diyabetli (n:1631) ve normal bireyler (n:1429) üzerinde yapılan bir çalışma sonucuna göre, TNF-α düzeylerinin, yaş, cinsiyet ve ırk farketmeksizin diyabetik bireylerde yüksek olduğu ve yüksek TNF-α düzeyleri ile diyabet arasında pozitif bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir (Qiao ve ark., 2017). Bir başka çalışmada diyabet hastalarının (n:102) kan serumlarında, bir inflamatuvar sitokin olan IL-6'nın normal bireylere oranla yüksek olduğu bildirilmiştir (Rodrigues ve ark., 2017).

Diyabet makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonları nedeni ile morbidite ve mortalite oranı yüksek bir hastalıktır (Eroğlu, 2018). Diyabet hastalarının %20-40'ında görülen diyabetik nefropati, hipertansiyon, ödem, proteinüri ve böbrek yetersizliği ile karakterizedir (Umanath ve Lewis, 2018). Nefropati varlığını anlamak için, serum glukoz, üre, kreatinin, albümin, total protein ve C-peptid düzeyleri

kullanılabilir (Jassim ve Alsaady, 2020). DM ayrıca glikojen ve lipid metabolizmasını etkileyerek karaciğerde yapısal ve fonksiyonel anormalliklere neden olabilmektedir. Diyabetik hastaların %55-80'inde karaciğerde aşırı glikojen birikimi, fibroz, siroz, steatohepatit ve biliyer sistem hastalığı bildirilmiştir (Adeyemi ve ark., 2014). Karaciğer hasarı serum ALT ve AST ölçümü ile değerlendirilebilir ve bu enzimler karaciğere özgü olmasa da hepatosit hasarını yansıtır (Lehmann-Werman ve ark., 2018).

Diyabet yönetimi; diyet ve yaşam tarzı değişikliklerine ilaveten eksojen insülin verilmesi ve oral antidiyabetik ilaçlar yoluyla insülin salınımının teşvik edilmesi, insülin duyarlılığının artırılması, gastrointestinal sistemden karbonhidrat emiliminin azaltılması, idrar glukoz atımının artırılması gibi tedavi yöntemlerini içermektedir (Dinççağ, 2011; McCulloch, 2016). Oral antidiyabetik ilaçlardan olan PPAR-γ agonistleri, PPAR-γ aktivasyonu ile insüline cevap veren genlerin transkripsiyonunu düzenler ve periferik dokuların insülin duyarlılığını arttırmak yoluyla etkili olurlar. Alfa glukozidaz inhibitörleri, kompleks karbonhidratların bağırsaktan absorpsiyonunu geciktiren ilaçlardır. SGLT-2 inhibitörleri, renal proksimal tubuluslarda SGLT-2 inhibisyonuna yol açarak böbrekten glukoz geri emilimini azaltır ve idrar yolu ile glukoz atılımını artırırlar (Salmanoğlu, 2019).

DM tedavisinde doğal bitki bazlı ilaçların sentetik ilaçlara güvenli ve etkili alternatifler olduğu düşünülmektedir (Samarakoon, 2020). Yenilebilir mantarlar, lifler, polisakkaritler, fenolikler ve alkaloidler gibi doğal bileşikler açısından zengindirler ve antik çağlardan beri antidiyabetik, antikanser, antioksidan, antihiperlipidemik ve antiinflamatuvar etkiler sağladıkları bilinmektedir. Dahası, mantar polisakkaritleri prebiyotik olarak hareket etmekte ve bağırsak mikroflorasının bileşimini modüle ederek insülin direncini azaltabilmektedirler (Liu ve ark., 2013; Chang ve ark., 2018; Khursheed ve ark., 2020). Nitekim iki farklı çalışmada *Armillaria mellea* alkali polisakkaritlerinin, diyabetik sıçanlarda insülin direnci ve kan şekerini düşürücü etki gösterdiği bildirilmiştir (Yang ve ark., 2019a; Yang ve ark., 2019b).

Çeşitli bitki türleri veya terapotik ajanların diyabet üzerine etkilerinin araştırıldığı ve bu çalışmayla paralellik arz eden birçok bilimsel araştırma mevcuttur. Bu araştırmalardan bazıları aşağıda sunuldu;

Osorio ve ark. (2012), ursodeoksikolik asitin diyabetik sıçanlarda SGLT-2'nin aşırı ekspresyonunu önleyerek kan glukozunu düşürdüğünü ve diyabetik sıçanlarda değişen CAT ve GPx aktivite düzeylerini restore ettiğini belirtmişlerdir.

Gallo ve ark. (2016), diyabetik farelerde artan SGLT-2 ekspresyonunun hiperglisemi ile ilişkili olduğunu ve SGLT-2 inhibitörünün uygulandığı diyabetik farelerde bu artışın zayıflatıldığını bildirmişlerdir.

Mohammed ve ark. (2016), diyabetik ratlarda yüksek serum glukozu, insülin direnci, dislipidemi ve düşük serum insülini ile β hücresi fonksiyonu gözlendiğini ve *Xylopia aethiopica* ekstraktı uygulanan diyabetik gruplarda bu değişimlerin normale yakın düzeye döndüğünü bildirmişlerdir.

Samarghandian ve ark. (2017), STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanlarda azalan SOD, CAT aktivitesi ile GSH, HDL-C düzeyleri ve artan MDA, TG, TC, LDL-C düzeylerinin *Crocus saivus L.* ekstraktı uygulaması sonrası tersi eğilim gösterdiğini bildirmişlerdir.

Zhu ve ark. (2017), STZ ile deneysel diyabet oluşturdukları farelerin hematoksilen-eozin ile boyanan pankreas kesitlerini histopatolojik olarak incelemiş ve diyabetik farelere uyguladıkları sikoik asitin pankreas β hücrelerindeki harabiyeti nispeten önlediğini bildirmişlerdir.

Nisha ve ark. (2018), *Boerhavia erecta* özütünün, diyabetik sıçanlarda artan kan glukozu, ALT, AST, TC, LDL, TG seviyelerinde önemli azalmayı ve diyabetik sıçanlarda azalan HDL seviyelerinde önemli derecede artışı sağladığını bildirmişlerdir.

Jamali-Raeufy ve ark. (2019), diyabetik sıçanlarda normal kontrol grubuna göre artan kan şekeri, oksidatif stres (MDA) ve enflamasyonun (TNF-α), bir kuersetin türevi olan izorhamnetin etkisiyle azaldığını tespit etmişlerdir.

Wen ve ark. (2019), diyabetik sıçanların pankreasında anti-insülin antikoru kullanarak yaptıkları immünohistokimyasal boyama sonucunda, Langerhans adacıklarında insülin immün pozitif β hücre sayısının azaldığını bildirmişlerdir. *Annona reticulata* tohum özütünün uygulandığı diyabetik sıçanlarda ise insülin immün pozitif β hücre sayısının DK grubu sıçanlarına göre artış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Broholm ve ark. (2019), Sorbus berry karbonhidrat ve polifenol fraksiyonunun, diyabetik sıçanlarda α-glukozidaz enzim inhibisyonunu sağlayarak kan glukoz düzeylerini düşürdüğünü göstermişlerdir.

Kartal ve Özok (2019), *Vicia ervilia* tohum özütünün diyabetik sıçanlarda artan kan glukozu, ALT, AST, LDH, üre ve kreatinin değerlerinde anlamlı azalma ve bağırsak α-glukozidaz aktivitesinde anlamlı derecede inbibisyon sağladığını bildirmişlerdir.

Kuroda ve ark. (2019), sentetik olarak ürettikleri C-fenil D-glusitol bileşiğinin ratlarda SGLT-1 ekspresyonunu azaltarak kan glukozunu düşürdüğünü bildirmişlerdir.

El-Nasr ve ark. (2020), diyabetik kontrol grubu sıçanlarının karaciğerinde vasküler konjesyon, enflamasyon hücrelerinin infiltrasyonu, kupffer hücre proliferasyonu gibi histopatolojik değişiklikler tespit etmişlerdir. Olmesartan ve pioglitazon kombinasyonu uyguladıkları diyabetik sıçanlarda ise bu histopatolojik değişikliklerin hafif derecede olduğunu rapor etmişlerdir.

Wang ve ark. (2020), probiyotiklerin STZ indüklü diyabetik sıçanlarda SGLT-1 ve GLUT-2'nin aşırı ekspresyonunu azaltarak kan glukozunu düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Wittrisch ve ark. (2020), tesaglitazar'ın diyabetik farelerde PPAR-γ'yı aktive ederek, adiposit prekürsör hücrelerinde adiposit farklılaşmasını düzenlediğini rapor etmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazır Kitler

Alfa-glukozidaz enzim kiti [Katolog no (kat. no): AD2717Ra, Andygene, Çin], BHT, C-peptid (kat. no: AD3224Ra, Andygene, Çin), disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), DTNB, EDTA, Etanol, GLUT-2 (kat. no: AD3285Ra, Andygene, Çin), GSH, GPx enzim kiti (Randox, Ransel, Birleşik Krallık), hidroklorik asit (HCl), H_2O_2, IL-6 (kat. no: AD3249Ra, Andygene, Çin), İnsülin (kat. no: CK-bio-14821, Shanghai Coon Koon Biotech Co., Ltd, Çin), ketamin, ksilazin, ksilol, metformin, paraformaldehit, PBS, potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), primer insülin antikor kiti (kat. no: sc-8033, Santa Cruz Biotechnology, dilution ratio: 1/50, Amerika), PPAR-γ (kat. no: AD1538Ra, Andygene, Çin), SGLT-1 (kat. no: AD3287Ra, Andygene, Çin), SGLT-2 (kat. no: AD2558Ra, Andygene, Çin), SOD enzim kiti (Randox, Ransod, Birleşik Krallık), sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum klorür (NaCl), sodyum sitrat, STZ [2-deoxy-2-3(methyl-3-nitrosoureido)-D glucopyranose], TNF-α (kat. no: AD1444Ra, Andygene, Çin), TBA, triklor asetik asit (TCA).

3.2. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Alüminyum folyo, biyokimya tüpleri, buzdolabı, cam baget, cerrahi set, derin dondurucu (Wisecryo WUF-500, -80 °C, Güney Kore), Elisa okuyucu (DAS, İtalya), enjektör, erlen, etüv (Dedeoğlu, Türkiye), evaporatör (BUCHI, İsviçre), Glukometre (Accu-chek Performa Nano, Roche, Almanya), hassas terazi (Precisa XR-205SM-DR, İsviçre), ışık mikroskopları (Nikon Y-IM 7551012, Japonya ve Leica, Almanya), kurutma kağıdı, liyofilizatör (Telstar LyoQuest, İspanya), makas, manyetik karıştırıcı (ARE Heating Magnetic Stirrer/WELP Scientifica, İtalya), mezür, mikropipet, mikrotom (Micron, Almanya), neşter, otoanalizör (Roche Cobas 8000 Modular Analyzer, Japonya) parafilm, pH metre (Mettler Toledo İnlab Expert Pro-ISM Seven Excellence, İsviçre), plastik falkon tüp (50 mL), safsu cihazı (KrosClinic Rentro 1000,

Türkiye), Soğutmalı santrifüj (Hettich Universal 320R; 16.000 rpm/24.900 G, Almanya), Spektrofotometre (Shimadzu UV/VIS-1201, Japonya), Su banyosu (NÜVE NB 20, Türkiye), Ultrasonik homojenizatör (20 KHz Jencons, Birleşik Krallık), Vorteks (Nüve NM 110, Türkiye).

3.3. Mantar Materyali ve Ekstraktının Hazırlanması

Çalışma materyalini oluşturan mantarlar, Trabzon ilinin Of ilçesi sınırları içerisinde, ekim-kasım aylarında yapılan arazi çalışmaları neticesinde toplandı. Araziden toplanan mantar örnekleri, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Fungaryumu'na (VANF) taşınarak açık ve gölgelik alanda kurutuldu. Kurutulan mantar örnekleri, çeşitli boyutlardaki kilitli polietilen poşetlere yerleştirilerek etiketlendi ve fungaryum materyali haline getirildi. Etiketli poşetlerler içerisindeki örnekler, iç ve dış parazitlerden koruma amacıyla 24 saat süreyle -20 ºC'ye ayarlanan derin dondurucuda bekletildi. Mantarın tür teşhisi Doç. Dr. Ali KELEŞ tarafından yapıldı. Tür teşhisi yapılan örnekler, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Fungaryumunda VANF-7882 numarası ile muhafaza edilmektedir.

Liyofilize ekstre, Kaisoon ve ark. (2012) metoduna göre modifiye edildi. Mantarın kuru materyali bir öğütücü yardımıyla toz haline getirildi. Toz haline getirilen materyalden 50 gr tartılıp, üzerine 1000 mL saf su eklendi. Karışım manyetik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında 24 saat çalkalandı. Homojenize edilen karışım +4 °C'de 10 dakika santrifüj (15.562 G) edildi ve süpernatant toplandı. Ardışık ekstraksiyonlardan elde edilen süpernatantlar birleştirildi ve çözücü, bir evaporatör kullanılarak 40 °C'de, indirgenmiş basınç altında buharlaştırıldı. Elde edilen yoğun ekstre, liyofilize edilmiş toz elde etmek için vakum altında dondurularak kurutuldu. Kuruyan ekstrakt, çalışmada kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edildi. Ekstraktlar ratlara verilmeden önce, gruplara ve canlı sıçan ağırlığına göre hesaplanan toz ekstre miktarları tartılıp belirlenen miktardaki saf suda vorteks yardımıyla çözündü. Daha sonra sıçanlara gavaj yoluyla verildi.

3.4. Deney Hayvanları

Bu araştırmada, canlı deney hayvanı materyali olarak 250-350 gr ağırlığında, 3-4 aylık, 47 adet sağlıklı erkek sıçan (Wistar albino) kullanıldı. Sıçanlar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney başlamadan bir hafta önce ortam koşullarına adapte olmaları sağlandı. Hayvanlar optimum ortam koşullarında (22±0.5 °C sıcaklık ve %50–%60 nem) ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü altında barındırıldı. Tüm hayvanlar standart hayvan yemi ve su ile ad libitum tarzda beslendi. Deneysel çalışmalar, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 02.05.2019 tarih ve 04 sayılı kararı ile belirlenen şartlar altında gerçekleştirildi.

3.5. Akut Toksisite Testi

Akut toksisite testi, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü'nün 425. Rehberinde belirtilen 2000 mg/kg limit testi prosedürüne göre yapıldı (Anonim, 2008). Uygulama için önce bir adet sıçan bir gece aç bırakıldı. Akabinde canlı ağırlığı tartıldı, gavaj yoluyla 2000 mg/kg dozunda (1 mL hacim) ekstrakt verildi. Bu sıçan ayrı bir kafese alınarak 24 saat boyunca aralıklı olarak davranışları gözlemlendi. Gözlem süresinin sonunda ölüm olmadığı için, ardışık olarak dört hayvan daha bir gece aç bırakıldıktan sonra ağırlıkları tartıldı ve yine 2000 mg/kg dozunda (1 mL hacim) ekstraktlar verildi. Bu sıçanlar da 24 saat boyunca periyodik olarak gözlemlendikten sonra tüm sıçanlar 14 gün boyunca günlük olarak gözlemlendi. Doz uygulaması yapılan beş hayvan da hayatta kaldığı için LD_{50} (%50 letal doz) değerinin 2000 mg/kg'dan büyük olduğu anlaşıldı.

3.6. Streptozotosinle Deneysel Diyabet Oluşturulması

Sıçanlar bir gece boyunca aç bırakıldı. Sonrasında NK grubu dışındaki her bir sıçana 40 mg/kg STZ [0.1M soğuk sitrat (pH: 4.5) tamponu içinde çözünen] enjekte (ip) edildi (Mostafavinia, 2016). NK grubundaki sıçanlara ise sadece sitrat tamponu enjekte edildi. STZ uygulamasından 72 saat sonra sıçanların kuyruk veninden alınan kanda

glukometre (Accu-Chek Performa Nano-Roche/elektrokimyasal biosensör, Almanya) aracılığıyla kan glukoz değerleri ölçüldü (Krishnan ve ark., 2019). Kan glukoz değerleri 200 mg/dL ve üzerinde olan sıçanlar diyabet olarak kabul edildi (Guex ve ark., 2019).

3.7. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

Toplamda 42 adet sıçan kullanılarak, her grupta 7 adet sıçan olmak üzere 6 grup (n:7) oluşturuldu. Sıçanlar, gruplara rastgele dağıtıldı. Buna göre;

Grup-1 (NK): Pelet yem ve musluk suyu verildi.

Grup-2 (DK): 40 mg/kg, tek doz STZ [intraperitoneal (ip)] enjeksiyonu ile deneysel diyabet oluşturuldu. Pelet yem ve musluk suyu verildi.

Grup-3 (D+MET): Tek doz STZ (40 mg/kg, ip) enkeksiyonu ile deneysel diyabet oluşturuldu. Pelet yem ve musluk suyu yanında, 21 gün boyunca, günlük 200 mg/kg (Li ve ark., 2019) metformin, intragastrik yolla (ig) verildi.

Grup-4 (D+AML-1): Tek doz STZ (40 mg/kg, ip) enkeksiyonu ile deneysel diyabet oluşturuldu. Pelet yem ve musluk suyu yanında, 21 gün boyunca, günlük 100 mg/kg (0.5-1 mL hacim) AML (ig) verildi.

Grup-5 (D+AML-2): Tek doz STZ (40 mg/kg, ip) enkeksiyonu ile deneysel diyabet oluşturuldu. Pelet yem ve musluk suyu yanında, 21 gün boyunca, günlük 200 mg/kg (0.5-1 mL hacim) AML (ig) verildi.

Grup-6 (D+AML-3): Tek doz STZ (40 mg/kg, ip) enkeksiyonu ile deneysel diyabet oluşturuldu. Pelet yem ve musluk suyu yanında, 21 gün boyunca, günlük 400 mg/kg (0.5-1 mL hacim) AML (ig) verildi.

3.8. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Deney süreci sonunda sıçanlara 80 mg/kg ketamin+10 mg/kg ksilazin ile anestezi uygulandı (Anonim, 2018; Aksoy ve Nuhoğlu, 2019). Anestezi altındayken hayvanların kalplerinden enjektör yardımıyla kan alınarak ötenazi yapıldı. Kan örnekleri biyokimya tüplerine konulduktan sonra serum parametrelerinin çalışılması için santrifüj (5 dk, 4000 rpm/6225 G) edildi. Elde edilen serumlar porsiyonlanarak, aynı gün içinde çalışılacak parametreler için +4 ^{o}C'de, diğer testler için -80 ^{o}C'de muhafaza edildi.

Ötenazi işlemini takiben karaciğer, böbrek, ince bağırsak ve pankreas dokuları çıkarıldı. Homojenijasyon işlemi yapılacak dokular, fizyolojik suyla yıkanıp fosfat tamponu çözeltisinden geçirildikten sonra homojenize edileceği ve analizlerin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda (-80 ^{o}C) muhafaza (Xia ve ark., 1994) edildi. Hematoksilen-eozin boyaması yapılacak karaciğer ve böbrek dokuları Bouin fiksatifi, immünohistokimyasal olarak boyanacak pankreas dokuları ise %4'lük paraformaldehit içerisine fikse edildi.

3.9. Doku Homojenizasyonu

Karaciğer, böbrek ve ince bağırsak dokuları 500'er mg tartılarak üzerlerine 5 mL soğuk fosfat buffer salin (PBS, pH: 7.4) eklendi. Dokular cam bagetle iyice ezilerek ultrasonic homojenizatörde 3 dk homojenize edildi. Ekstraktlar hemen soğutmalı santrifüj cihazında (+4 ^{o}C) 30 dakika santrifüj (9500 rpm/14785 G) edildi ve süpernatantlar toplandı (Rainis ve ark., 2007). Süpernatantlar hedeflenen parametre tayinlerinde kullanılana kadar -80 ^{o}C'de muhafaza edildi.

3.10. Biyokimyasal Analizler ve ELISA Yöntemi

AST ve ALT enzim aktiviteleri, kan glukozu, kreatinin, üre, TG, TC, LDL-C ve HDL-C düzeyleri otoanalizör (Roche Cobas 8000 Modular Analyzer, Japonya) aracılığıyla hazır kitler (Roche, Almanya) kullanılarak spektrofotometrik yötemle tespit edildi.

C-peptid, GLUT-2, IL-6, PPAR-γ, SGLT-1, SGLT-2 ve TNF-α düzeyleri ile α-glukozidaz aktiviteleri aynı marka kit (Andygene, Çin) ile çalışıldı. Bu nedenle, her parametre için kendine spesifik standart, horseradish peroksidaz (HRP)-konjugat, kromojen A ve kromojen B solüsyonları kullanılmak suretiyle, bahsi geçen tüm parametreler için aynı test prensibi uygulandı.

Prensip: Bu ELISA (enzime bağlı immünosorban testi) kiti, yöntem olarak Sandviç-ELISA'yı kullanmaktadır. Bu kitte sağlanan mikroplaka, teste özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler belirlenen sıraya göre mikroplaka kuyucuklarına eklenerek, spesifik antikorla birleşme sağlanmaktadır. Daha sonra her bir

kuyucuğa teste özgü bir HRP-konjuge antikor eklenmekte ve inkübe edilmektedir. Serbest bileşenler yıkandıktan sonra her bir kuyucuğa TMB substrat çözeltisi eklenmektedir. Yalnızca düzeyi ölçülen parametreyi ve parametrenin HRP konjuge antikorunu içeren kuyucuklar mavi renkte görünmekte ve stop çözeltisinin eklenmesinden sonra renk sarıya dönüşmektedir. Optik yoğunluk (OD), 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. OD değeri, varlığı araştırılan parametrenin konsantrasyonuyla orantılıdır. Numunelerdeki konsantrasyon, numunenin OD'sininin standart eğriyle karşılaştırılması ile hesaplanmaktadır.

Test prosedürü: Standart kuyucuklarına farklı konsantrasyondaki her standarttan 50 µL eklendi. Mikroplakada kontrol (blank) olarak boş bir kuyucuk bırakıldı. Numune kuyucuklarına, 40'ar µL numune sulandırma tamponu ve 10'ar µL numune eklendi. Mikroplaka hafifçe çalkalanarak içerik iyice karıştırıldı. Mikroplaka kapama membranı ile kapatıldıktan sonra 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Kapama membranı dikkatlice çıkarıldı. Kuyucuklar aspire edildi ve yıkama solüsyonuyla doldurulduu. Yıkama solüsyonu 30 saniye sonra aspire edildi. Yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı. Boş kontrol kuyucuğu dışındaki her kuyucuğa 50 µL HRP-Konjugat eklendi. Mikroplaka kapama membranı ile kapatıldıktan sonra 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Tekrar yıkama işlemi yapıldı (5 kez). Her kuyucuğa 50 µL kromojen A ve 50 µL kromojen B solusyonu eklendi ve mikroplaka hafifçe çalkalanarak içerik karıştırıldı. Mikroplaka, kapama membranı ile kaplanarak 37 ^{o}C'de 15 dakika inkübe edildi (renklendirme). Renklendirme sırasında ışıktan kaçınıldı. Reaksiyonu sonlandırmak için her bir kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklendi. Absorbanslar (OD), microtiter plaka okuyucu (DAS, İtalya) kullanılarak 450 nm'de okundu. Boş kontrol kuyucuğunun OD değeri sıfır olarak ayarlandı. Stop solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde okuma yapıldı.

Serum insülin düzeyleri farklı bir ELISA kiti (Shanghai Coon Koon Biotech Co., Ltd, kat. no: CK-bio-14821, Çin) kullanılarak belirlendiği için, daha önce belirtilen ELİSA kitlerinin prensibinden farklı bir prensip uygulandı.

Prensip: Kit, çift antikorlu sandviç-ELISA prensibine dayanarak sıçan İnsülin seviyesini test etmek için kullanılmaktadır. Önceden antikorla kaplanmış kuyucuklara standart veya numune eklenmektedir. Daha sonra bir immün kompleks oluşturmak için HRP-konjugat reaktifi eklenmektedir. İnkübasyon, bağlanmamış enzimin çıkarılması (yıkama) ve daha sonra A ve B substratının eklenmesi ile çözelti maviye

dönüşmektedir. Sonunda renk asit etkisiyle (stop solüsyon) sarıya dönüşmektedir. Renk derinliği veya ışığı, İnsülin konsantrasyonu ile pozitif korelasyon göstermektedir.

Test prosedürü: Standart kuyucuklarına farklı konsantrasyonlardaki standartlardan 50'şer µL eklendi. Numune kuyucuklarına 40'ar µL numune sulandırma tamponu ve 10'ar µL numune eklendi (blank için ayrılan kuyucuğa hiçbir şey konulmadı). Her kuyucuğa (standart ve numune kuyucukları) 100 µL HRP-konjugat reaktifi eklendi. Ardından mikroplaka, kapama membranı ile kaplandı ve 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Mikroplaka kapama membranı dikkatlice çıkarıldı, sıvı aspire edildi ve kurutuldu. Tüm kuyucuklar 350 µL yıkama çözeltisi ile dolduruldu ve bir dk bekletildikten sonra sıvı aspire edildi. Yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı ve mikroplaka kurulandı. Her kuyucuğa 50 µL kromojen A ve 50 µL kromojen B solüsyonu eklendi. Karıştırmak için mikroplaka hafifçe çalkalandı. Mikroplaka, membran ile kaplandı ve 37 ^{o}C'de 15 dakika ışıktan uzak inkübe edildi (renklendirme). Mikroplaka membranı dikkatlice çıkarıldı. Reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklendi. Blank kuyucuğu sıfır olarak alındı, stop solüsyonu ekledikten sonra 15 dakika içinde her bir kuyucuğun absorbansı 450 nm dalga boyunda okundu.

Hesaplama: Her test için, testin kendisine özgü ve farklı konsantrasyonlardaki standart solüsyonların OD'leri okundu. Regresyon analizi ile standart solüsyonların konsantrasyonlarına karşı OD eğrileri oluşturularak teste özgü formül elde edildi. Numunelerin optik dansiteleri elde edilen formülde yerine konarak hesaplamalar yapıldı. Testlerin hesaplama formülleri aşağıda verildi;

Alfa-glukozidaz: x=y+0.0428/0.009

C-Peptid: x=y+0.016/0.0002

GLUT-2: x=y+0.014/0.0774

IL-6: x=y+0.0208/0.0029

İnsülin: x=y-0.0627/0.0449

PPAR-γ: x=y+0.0223/0.0271

SGLT-1: x=y+0.0411/0.0005

SGLT-2: x=y+0.036/0.0228

TNF-α: x=y+0.0169/0.0009

y= Numunenin OD'si

x=Varlığı araştırılan parametrenin numunedeki konsantrasyonu

3.11. Lipid Peroksidasyon (MDA) Tayini

Prensip**:** MDA miktarı, MDA'nın tiyobarbiturik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucunda renkli forma dönüşmesi ile ölçülmektedir (Jain ve ark., 1989).

Ayıraçlar

1. 0.1 M EDTA Çözeltisi : 37.224 gr EDTA-Na_2H_2O 1 L distile suda eritildi.
2. BHT Çözeltisi : 0.220 gr BHT 25 mL saf alkolde çözdürüldü.
3. NaOH Çözeltisi (0.05 N) : 2 gr NaOH 1 L distile suda çözdürüldü.
4. TBA Çözeltisi (%1) : 1 gr TBA, 0.05 N NaOH içinde çözdürülüp 100 mL'ye tamamlandı.
5. TCA (%30) : 30 gr TCA 100 mL distile suda çözündü.
6. Fosfat Tamponu : 8.1 gr NaCl, 2.302 gr Na_2HPO_4 ve 0.194 gr NaH_2PO_4 distile suda çözdürülerek 1 litreye tamamlandı (pH 7.4).

Deneyin yapılışı: MDA miktarı, MDA'nın TBA reaktifi ile renk reaksiyonu sonucu spektrofotometrede (Shimadzu UV/VIS-1201) 532 nm'de okunan absorbanslarla ölçüldü. Tüplere doku süpernatantlarından 200 µL alındı, üzerlerine 800 µL fosfat tamponu, 25 µL BHT ve 500 µL %30'luk TCA eklendi. Tüpler vortekslendikten sonra 2 saat -20 ^oC'de derin dondurucuda tutuldu. Derin dondurucudan çıkarılan tüpler çözündükten sonra 15 dakika santrifüj (2000 rpm/3113 G) edildi. Süpernatantların 1 mL'si alınarak başka tüplere aktarıldı ve üzerlerine 75 µL EDTA Na_2H_2O ile 250 µL TBA eklendi. Tüpler vortekslendikten sonra 15 dakika benmaride (90 ^oC) bekletildi. Benmariden çıkan numuneler oda ısısına getirilerek 532 nm'de optik dansiteleri okundu (Jain ve ark., 1989). MDA düzeyleri, aşağıdaki formüle göre nmol/g olarak hesaplandı.

A = a x b x c

A = Absorbans a = Ekstinksiyon katsayısı

b = Işık yolu c = Konsantrasyon

1.Seyreltme: 0.2 + 0.8 + 0.025 + 0.5 = 1.525 / 0.2 = 7.625

2.Seyreltme: 1 + 0.075 + 0.25 = 1.325 / 1 = 1.325

Sonuç = 7.625 x 1.325 = 10.103 125=F

c = A/a x b = (A/mol x cm)/1.56 x 10^5 x L) x (1/cm) x (10^9 nM/mol) x (L/10^3x mL)

c = A x 1 x F x 10 / 1.56 = nmol/g

3.12. Redükte Glutatyon Tayini

Prensip: Doku supernetantlarında GSH, fosfat tamponu kullanılmasıyla oluşan berrak sıvıda sülfidril gruplarının DTNB [5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] ile reaksiyonu sonucu sarı rengin oluşumu ile ölçülmektedir.

Ayıraçlar:

1. Fosfat Çözeltisi: Distile su (DH_2O) kullanılarak 0.3 M Na_2HPO_4 hazırlandı.
2. DTNB (Ellman's Ayıracı) : 40 mg DTNB, %1 sodyum sitrat alındı. Son hacim DH_2O ile 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin yapılışı**:** Doku süpernatantlarından 1 mL alınıp üzerine 5 mL fosfat tamponu eklendi. Vortekslendikten sonra benmaride 60 ^oC'de 10 dakika bekletildi. Benmariden çıkartılan örnekler oda ısısına getirildi. Üzerlerine 1 mL DTNB ayıracı konuldu. Spektrofotometrede (Shimadzu UV/VIS-1201) 412 nm'de köre karşı standart ve numunelerin OD'leri okundu. Dokuların birimi mg/g olarak hesaplandı (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

3.13. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini

Prensip: Bu metotla, süperoksit radikalinin ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak 2-(-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolyum klörür (INT) ile kırmızı renk vermesi sağlanmaktadır. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülmektedir (McCord ve Fridovich, 1969).

$$\text{Ksantin} \xrightarrow{\text{Ksantin oksidaz}} \text{Ürik asit} + O_2{}^{\cdot -}$$

$$\text{I. N. T} \xrightarrow{O_2{}^{\cdot -}} \text{Formazan D (renkli bileşik)}$$

$$2O_2{}^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2$$

Ayıraçlar	Konsantrasyonları
1.Karışık Substrat	
Ksantin	0.05 mmol/L
I.N.T.	0.025 mmol/L

2.Tampon

CAPS 40 mmol/L, pH 10.2

EDTA 0.94 mmol/L

3.Ksantin Oksidaz (XO) 80 U/L

4.Standart

Deneyin yapılışı: SOD enzim aktivitesi, hazır SOD kiti (Randox-Ransod, Birleşik Krallık) kullanılarak spektrofotometrede (Shimadzu UV/VIS-1201) 505 nm'de 37 ^{o}C'de ölçüldü. Test materyali olarak daha önce hazırlanan ve derin dondurucuda (-80 ^{o}C) muhafaza edilen doku süpernatantları kullanıldı. Sonuçlar sulandırma oranları da hesaba katılarak U/g olarak hesaplandı. İnhibisyonun %30-60 arası olması sağlandı.

Çizelge 3.1. Numune ve SOD ayıraçlarının reaksiyon küvetine pipetlenme oranları

	Standart S1 (µL)	Standart S2 (µL)	Numune (µL)	Kontrol (µL)
Sulandırılmış Ransod Örneği	15	……..	……..	……..
Standart	……..	15	……..	……..
Sulandırılmış numune	……..	……..	15	……..
Sulandırılmış Kontrol	……..	……..	……..	15
Karışık Substrat (R1)	500	500	500	500
Ksantin Oksidaz (R2)	75	75	75	75

İçerik karıştırıldı. İlk absorbans (A_1) 30 saniye sonra, son absorbans (A_2) 3 dakika sonra okundu.

Hesaplama**:** Spektrofotometre yardımıyla okunan OD'ler aşağıdaki denklemde yerine konarak SOD enzimi % inhibisyonları hesaplandı.

$$100 - \frac{(\Delta A_{StdDk} x100)}{(\Delta A_{BlankDk})} = \%İnhibisyon \qquad 100 - \frac{(\Delta A_{ÖrnekDk} x100)}{(\Delta A_{BlankDk})} = \%İnhibisyon$$

SOD enzim aktivitelerini hesaplamak için standart grafiği elde edildi. Bu grafikten elde edilen formül ile sulandırma oranları da dikkate alnarak SOD aktiviteleri U/g olarak hesaplandı.

3.14. Katalaz Aktivite Tayini

Prensip: Enzim aktiviteleri doku süpernatantları kullanılarak belirlenmektedir. Enzim aktivitesi, H_2O_2'in tüketilme esasına dayanan spektrofotometrik metoda göre 37 ^{o}C ve 240 nm'de ölçülmektedir (Aebi, 1974).

Fosfat tamponu hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ve oranları çizelge 3.2 ve çizelge 3.3'de verildi.

Çizelge 3.2. CAT fosfat tamponu kimyasal içeriklerinin hazırlanışı (pH:7,5)

Kimyasal	MA (g/mol)	50 mM (g)	Son Hacim dH2O (mL)	Solusyon Adı
KH_2PO_4	136.09	6.805	1000	A
$Na_2HPO_4.12H_2O$	358.14	17.907	1000	B1
$Na_2HPO_4.2H_2O$	178.14	8.907	1000	B2
Na_2HPO_4 (saf)	141.96	7.098	1000	B3

Çizelge 3.3. CAT fosfat tamponu kimyasal içeriklerinin karıştırılma oranları

50 mM (L) Fosfat tamponu	A Solüsyonu (mL)	B Solüsyonu (mL)
pH 7,0	413	587
pH 7,5	160	840

H_2O_2 çözeltisi olarak, H_2O_2'li fosfat tamponu kullanıldı. H_2O_2'li fosfat tamponu şöyle hazırlandı; 300 mL kadar pH'ı 7,50 olan fosfat tamponu koyu renkli kaba (plastik, cam veya mika olabilir) aktarıldı. Spektrofotometre 240 nm'de fosfat tamponuna göre sıfırlandı. Renkli kaptaki fosfat tamponuna optik Dansitesi (OD) 0.500 oluncaya kadar 10-20 µL hacimlerle stok H_2O_2 ilave edildi.

Deneyin yapılışı: H_2O_2'li fosfat tamponuna numune ilavesinden sonra kuartz küvetin ağzı bekletilmeden kapatıldı ve alt-üst edilip absorbans okundu. Her 15 saniyede bir defa olmak üzere 5 dakika süre ile absorbanstaki azalma tespit edildi. 1 dakikalık lineer absorbans azalmasının en yüksek (OD_1) ve en düşük (OD_2) değerleri esas alınarak hesaplama yapıldı.

Çizelge 3.4. Numune ve CAT tamponunun pipetlenme oranları

	Kör (mL)	Numune (mL)
Fosfat Tamponu	2.99	-
H_2O_2 çözeltisi	0.01	2.99
Süpernatant	-	0.01

Hesaplama: CAT aktivitesi, K={[2.3 x log (OD1/OD2)]/Δt (sn)} formülü kullanılarak dokular için U/g olarak hesaplandı

3.15. Glutatyon Peroksidaz Aktivite Tayini

Prensip: GPx, GSH varlığında kümen hidroperoksitin indirgenmesini katalize etmektedir. Kümen hidroperoksidin indirgenmesiyle oluşan GSSG, GR ve NADPH varlığında NADPH'ın $NADP^{+}$'ye yükseltgenmesiyle redükte forma dönüşmektedir. Enzim aktivitesi, 340 nm'de absorbanstaki değişime göre ölçülmektedir (Paglia ve Valentine, 1967).

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{GPx} ROH + GSSG + H_2O$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} NADP^+ + 2GSH$$

Ayıraçlar	Konsantrasyonları
1.Ayıraç (R1a)	
Glutatyon	4.0 mmol/L
G. Redüktaz	≥ 0.5 U/L
NADPH	0.34 mmol/L
2.Tampon (R1b)	
Fosfat	0.05 mol/L pH 7.2
EDTA	4.3 mmol/L
3.Kumen Hidroperoksit (R2)	0.18 mmol/L
4.Sulandırma Ayıracı (R3)	

Deneyin yapılışı: GPx enzim aktivitesi, hazır GPx kiti (Randox-Ransel, Birleşik Krallık) kullanılarak spektrofotometrede (Shimadzu UV/VIS-1201) 340 nm'de 37 ^{o}C'de OD okunmasıyla belirlendi. Analiz materyali olarak derin dondurucuda (-80 ^{o}C) muhafaza edilen doku süpernatantları kullanıldı. Sulandırma oranları da hesaba katılarak sonuçlar tüm dokuda U/gr doku olarak hesaplandı.

Çizelge 3.5. Numune ve GPx ayıraçlarının reaksiyon küvetine pipetlenme oranları

	Sulandırılmış Numune	Ayıraç Körü (µL)
Numune	100	100
Ayıraç R1	500	500
Kümen (R2)	200	200

Küvet içerikleri karıştırılarak numune ve körün absorbansları okundu. Sürenin başlatılmasından belli bir zaman sonra absorbanslar tekrar ölçülerek dakika absorbans değişimi hesaplandı.

Hesaplama: U/g doku=8412 x 75 µL ΔA 340 nm/dakika. Numune değerinden (U/g), kör değeri (U/g) çıkarıldı. Sulandırma oranları da hesaba katılarak sonuçlar dokularda U/g olarak hesaplandı.

3.16. Histolojik Çalışmalar ve Boyamalar

3.16.1. Parafine gömme

Bouin fiksatifi içerisinde 24 saat (oda sıcaklığı) bekletilen dokular, daha sonra %70'lik alkol içerisine alındı. Dokular, rutin histolojik çalışmalar için öncelikle parafine gömme işleminden geçirildi.

Parafine gömme metodu basamakları;

1. %70'lik alkol * iki defa (toplam 1 saat)
2. %80'lik alkol * iki defa (toplam 1 saat)
3. %90'lık alkol * iki defa (toplam 1 saat)
4. %100'luk alkol * iki defa (toplam 1 saat)
5. %100'luk alkol + ksilol (toplam 15 dakika)
6. Ksilol-I (15 dakika)
7. Ksilol-II (15 dakika)
8. Ksilol + parafin (etüv) (15 dakika)
9. Parafin-I (etüv) (1 saat)
10. Parafin-II (etüv) (1 saat)
11. Parafin-III (etüv) (1 saat)
12. Parafin-III (etüv) aşamasından sonra dokular parafin bloklara gömüldü.

Parafine gömülen dokulardan mikrotom (Micron, Almanya) yardımıyla 5 µm'lik kesitler alındı. Alınan kesitler hematoksilen-eozin boyasıyla boyandı (Bancroft, 2008).

3.16.2. Hematoksilen-eozin boyama

Hematoksilen (Biostain, Birleşik Krallık) boyası hazır olarak kullanıldı. Eosin boyası hazırlamak için, 1 gr eosin (Merck, Almanya) 100 mL saf su içerisinde çözüldü. Boya hazırlama işlemini takiben, kesitler şalelere alınarak boyama işlemi gerçekleştirildi.

Şalelere alınan preparatların boyanma basamakları aşağıdaki gibidir:

1.	Ksilol-I	5 Dakika
2.	Ksilol-II	5 Dakika
3.	%100'lük alkol	3 Dakika
4.	%80'lik alkol	3 Dakika
5.	%70'lik alkol	3 Dakika
6.	Distile su	5 Dakika
7.	Hematoksilen	6 Dakika
8.	Çeşme suyu	15 Dakika
9.	Eozin	3 Dakika
10.	%70'lik alkol	3 Dakika
11.	%80'lik alkol	3 Dakika
12.	%100'lük alkol	3 Dakika
13.	Ksilol-I	5 Dakika
14.	Ksilol-II	5 Dakika

Preparatlar entellan ile kapatıldı ve ışık mikroskobunda (Leica, Almanya) incelenerek görüntüler alındı.

3.16.3. İmmünohistokimyasal boyama

Pankreas dokusu %4 paraformaldehit içerisinde fikse edildikten sonra %70'lik alkol içerisine alınarak, rütin histolojik aşamaları takiben parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom ile lizinli lamlara 4 μm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler deperafinize ve rehydrate edildi. Endojen peroksidaz enzim aktivitesini önlemek için %3'lük H_2O_2'de 10 dakika inkübe edildi. Çekirdekte antijen maskelemesini önlemek için, mikrodalga fırında antigen retrieval (sitrat buffer, ph 6.1) solüsyonu

içerisinde iki kez ısıtıldı. Daha sonra nonspesifik bağlanmayı önlemek çin, protein blok solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika inkübe edildi. Primer antikor olarak insulin antikoru (kat. no: sc-8033, Santa Cruz Biotechnology, dilution ratio: 1/50) kullanıldı. Antikor eklendikten sonra bir gece boyunca nemli ortamda +4 ^{o}C'de inkübe edildi. PBS ile durulandıktan sonra sırasıyla, biotinylated goat anti-polyvalent ve streptavidin–peroksidaz conjugat damlatılarak 10'ar dakika inkübe edildi. Kromojen olarak kullanılan diaminobenzidin (DAB) uygulamasından sonra Mayer's hematoxylin ile boyandı ve ışık mikroskobunda (Nikon Y-IM 7551012, Japonya) incelenerek fotoğrafları çekildi. İmmünohistokimyasal değerlendirmede, gruplardaki her bir hayvan için rastgele 10 tane alan seçildi. Seçilen alanlarda β hücreleri immün pozitiflik derecelerine göre negatif, zayıf pozitif, orta pozitif ve kuvvetli pozitif hücreler olarak sayıldı ve H-score formülü ile değerlendirildi.

H score = 1x[zayıf boyanan hücrelerin yüzdesi (1+)] + 2x[orta derecede boyanan hücrelerin yüzdesi (2+)] + 3x[kuvvetli boyanan hücrelerin yüzdesi (3+)] (Mazières ve ark., 2013; Seymen ve ark., 2019)

3.17. İstatistiksel Analizler

Çalışmanın istatistiksel analizi SPSS (versiyon 25.0 Inc, U.S.A) programı kullanılarak yapıldı. Tüm veriler ortalama±SEM (ortalamanın standart hatası) olarak sunuldu. Grup ortalamaları arasındaki fark, tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA), farkın derecesi ise Tukey post-hoc testi kullanılarak ortaya konuldu. Tüm istatistiksel testler için $p<0.05$, anlamlı bir fark olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Deney süreci boyunca sıçanlardaki davranışsal ve morfolojik değişiklikler incelendiğinde; diyabetik sıçanlarda kontrol grubu sıçanlarına göre tüy yapısının canlılığını ve parlaklığını nispeten kaybettiği ve hareketlerin nispeten yavaşladığı görüldü.

Deneme süreci sonunda sıçanlardan alınan karaciğer, böbrek, incebağırsak ve pankreas dokuları ile kan serumunda, biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler gerçekleştirildi.

Çizelge 4.1. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının yem ve su tüketimi ile başlangıç ve son vücut ağırlıkları

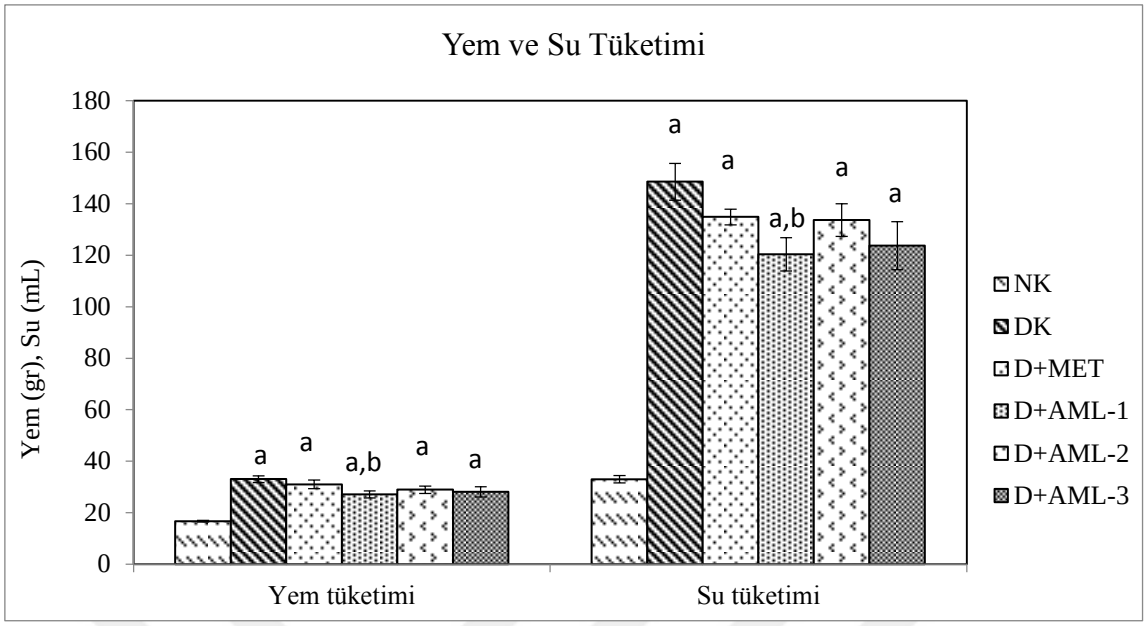
Yem ve Su Tüketimi ile Başlangıç ve Son Vücut Ağırlıkları						
Parametre	NK X ± SD	DK X ± SD	D+MET X ± SD	D+AML-1 X ± SD	D+AML-2 X ± SD	D+AML-3 X ± SD
Yem tüketimi (gr)	16.71±0.36	33.04±1.28[a]	31.01±1.70[a]	27.07±1.38[a,b]	28.95±1.43[a]	28.11±1.97[a]
Su tüketimi (mL)	32.96±1.43	148.54±7.16[a]	134.89±3.05[a]	120.41±6.48[a,b]	133.67±6.32[a]	123.76±9.32[a]
Canlı ilk ağırlık (gr)	226.45±20.75	261.33±4.85	244.00±9.03	253.50±8.61	248.33±5.26	255.17±17.59
Canlı son ağırlık (gr)	249.17±18.44	215.0±2.76	211.00±7.84	209.00±6.64	206.33±5.90	208.33±11.18

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b:DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.1'e göre, tüm diyabetik gruplarda yem tüketiminin NK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+AML-1 grubunda azaldığı belirlendi ($p<0.05$).

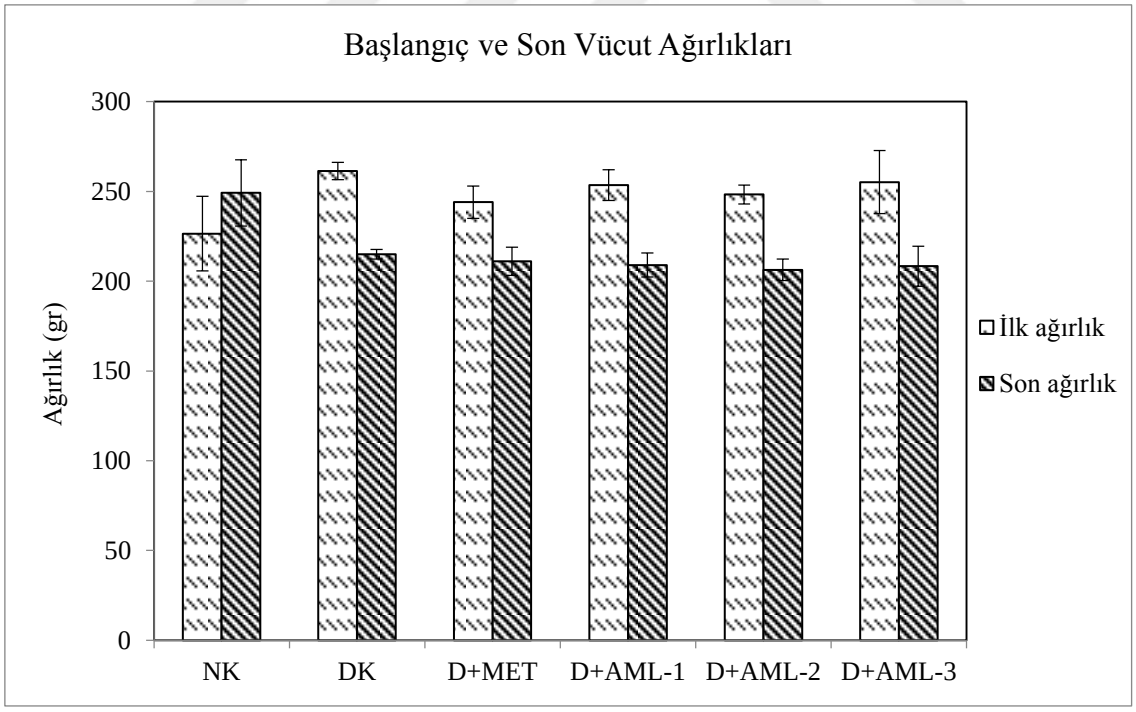
Çizelge 4.1'e göre, su tüketiminin tüm diyabetik gruplarda NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), DK grubuna kıyasla D+AML1 grubunda azaldığı görüldü ($p<0.05$).

Çizelge 4.1.'e göre, NK, DK ve uygulama gruplarındaki sıçanların başlangıç ve son ağırlıkları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı anlaşıldı ($p>0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.1. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının yem ve su tüketimi.



Şekil 4.2. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının başlangıç ve son ağırlıkları.

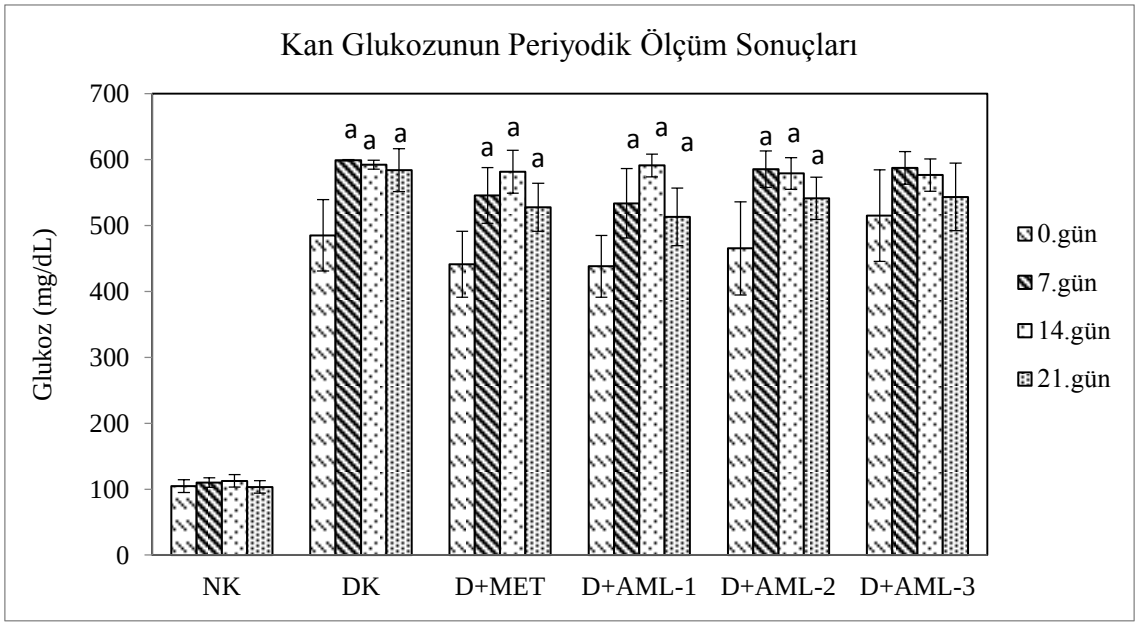
4.1. Biyokimyasal Parametreler

Çizelge 4.2. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında kan glukozunun periyodik ölçüm sonuçları

Gruplar	Kan Glukozunun Periyodik Ölçüm Sonuçları			
	0. Gün X ± SEM	7. Gün X ± SEM	14. Gün X ± SEM	21. Gün X ± SEM
NK	104.50±9.81	110±7.29	112.5±9.4	103.33±9.4
DK	485±54.18	599.17±0.98[a]	592.17±7[a]	583.83±32.5[a]
D+MET	441.33±50	545.50±42.21[a]	581.67±35.55[a]	527.50±36.47[a]
D+AML-1	438.17±46.87	533.67±52.72[a]	591±17.23[a]	513.00±43.71[a]
D+AML-2	465.33±70.76	585.33±27.68[a]	579±24.06[a]	541.17±32[a]
D+AML-3	515±69.52	587.50±24.80	576.50±24.40	543.33±51.40

a: Grupların 0. gün ile 7. gün, 14. gün ve 21. gün arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.2'ye göre, NK ve D+AML-3 grubuplarının 7. gün, 14. gün ve 21. gün kan glukoz değerleri ile 0. gün kan glukoz değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$). DK grubunun 7. gün, 14. gün ve 21. gün kan glukoz değerlerinin 0. güne göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi ($p<0.05$). D+MET, D+AML-1 ve D+AML-2 grubunun 7. gün, 14. gün ve 21. gün kan glukoz değerlerinin 0. güne göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p<0.05$).



a: Grupların 0. gün ile 7. gün, 14. gün ve 21. gün arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.3. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında kan glukozunun periyodik ölçüm sonuçları.

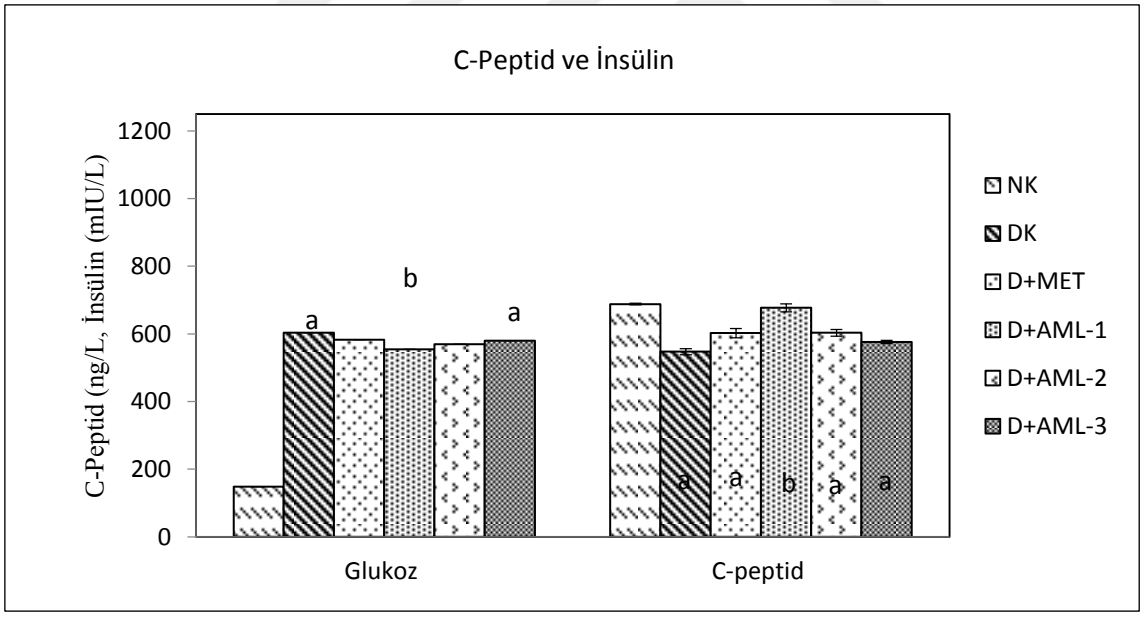
Çizelge 4.3. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında C-peptid ve insülin seviyeleri

Dokular	C-peptid ve İnsülin					
	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
C-peptid (ng/L)	688±27.86	547.17±21.20[a]	602.17±32.80	677.17±15.53[b]	603±23.34	576.33±4.36[a]
İnsülin x10 (mIU/L)	112.24±1.87	98.06±1.25[a]	101.89±4.49[a]	108.49±0.92[b]	100.85±2.21[a]	99.96±1.72[a]

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.3'e göre, C-peptid değerlerinin DK ve D+AML-3 gruplarında NK grubuna göre azaldığı ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+AML-1 grubunda arttığı gözlendi ($p<0.05$).

Çizelge 4.3'e göre, insülin değerlerinin D+AML-1 dışındaki diyabetik gruplarda NK grubuna göre azaldığı görülürken ($p<0.05$), D+AML-1 grubunda DK grubuna kıyasla arttığı tespit edildi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.4. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında C-peptid ve insülin seviyeleri.

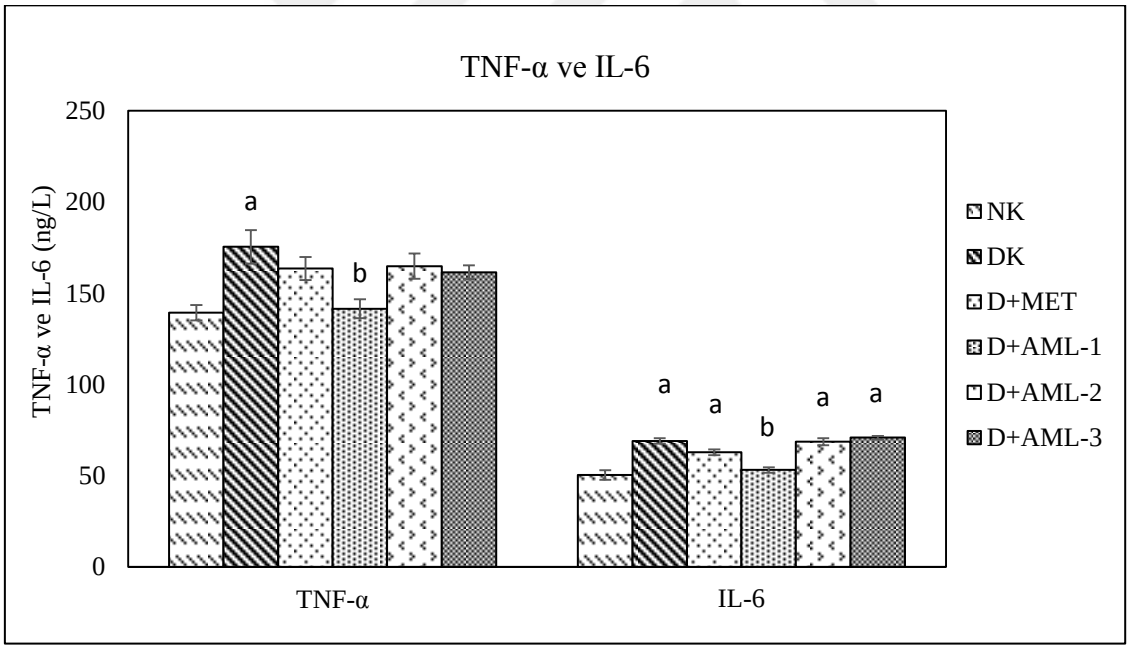
Çizelge 4.4. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında TNF-α ve IL-6 seviyeleri

	TNF-α ve IL-6					
Parametreler	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Tümör nekroz faktör-α (ng/L)	139.33±4.19	175.44±9.21[a]	163.96±6.32	141.56±5.19[b]	164.89±6.90	161.56±3.79
İnterlökin-6 (ng/L)	50.33±2.62	69.07±1.46[a]	62.86±1.50[a]	53.15±1.45[b]	68.67±1.94[a]	70.85±0.92[a]

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.4'e göre, TNF-α düzeylerinin DK grubunda NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), DK grubu ile yapılan kıyaslama sonucunda ise D+AML-1 grubunda azaldığı görüldü ($p<0.05$).

Çizelge 4.4'e göre, IL-6 düzeylerinin NK grubuna göre D+AML-1 grubu dışındaki tüm diyabetik gruplarda artış gösterdiği ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+AML-1 grubunda azaldığı belirlendi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.5. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında TNF-α ve IL-6 seviyeleri.

Çizelge 4.5. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının incebağırsak α-glukozidaz aktiviteleri ile böbrek ve incebağırsak SGLT-1 düzeyleri

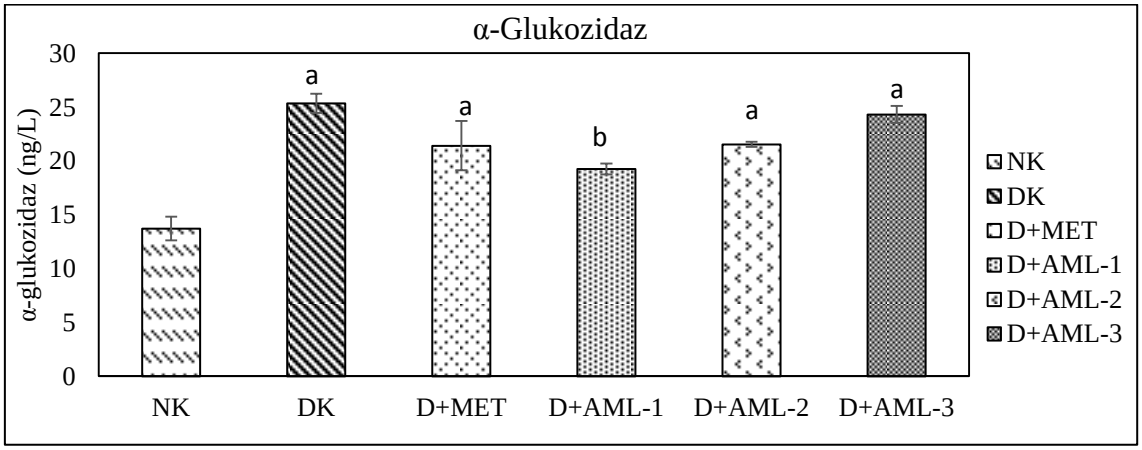
α-Glukozidaz ve SGLT-1						
Parametreler	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
α-Glukozidaz (ng/L)	13.72±1.11	25.35±0.90[a]	21.40±2.29[a]	19.26±0.50[b]	21.53±0.24[a]	24.31±0.79[a]
SGLT-1 böbrek (pg/mL)	327.2±13.41	597.2±63.15[a]	413.2±12.06[b]	421.87±16.18[b]	423.53±18.06[b]	484.2±6.04[a]
SGLT-1 ince bağırsak (pg/mL)	377.2±12.70	615.53±29.62[a]	535.53±42.14[a]	564.2±12.91[a]	580.2±17.26[a]	584.2±8.41[a]

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.5'e göre, ince bağırsak α-glukozidaz aktivitesinin D+AML-1 dışındaki diyabetik gruplarda arttığı ($p<0.05$), DK grubu ile yapılan kıyaslamaya göre ise D+AML-1 grubunda azaldığı gözlendi ($p<0.05$).

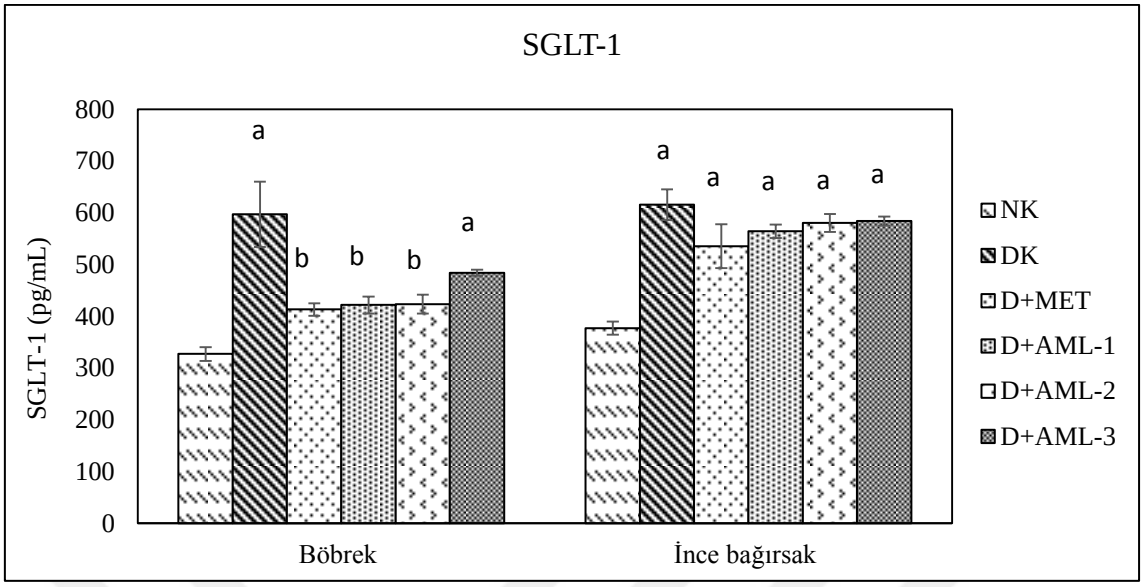
Çizelge 4.5'e göre, böbrek SGLT-1 düzeylerinin DK ve D+AML-3 gruplarında NK grubuna göre arttığı görüldü ($p<0.05$). Grupların DK grubu ile kıyaslanma sonuçlarına göre D+MET, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarının SGLT-1 düzeylerinde anlamlı azalma olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Çizelge 4.5'e göre, ince bağırsak SGLT-1 düzeylerinin tüm diyabetik gruplarda NK grubuna göre arttığı belirlendi ($p<0.05$). Grupların DK grubu ile kıyaslanma sonuçlarına göre anlamlı değişiklikler görülmedi ($p>0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.6. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının incebağırsak α-glukozidaz aktiviteleri.



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.7. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SGLT-1 düzeyleri.

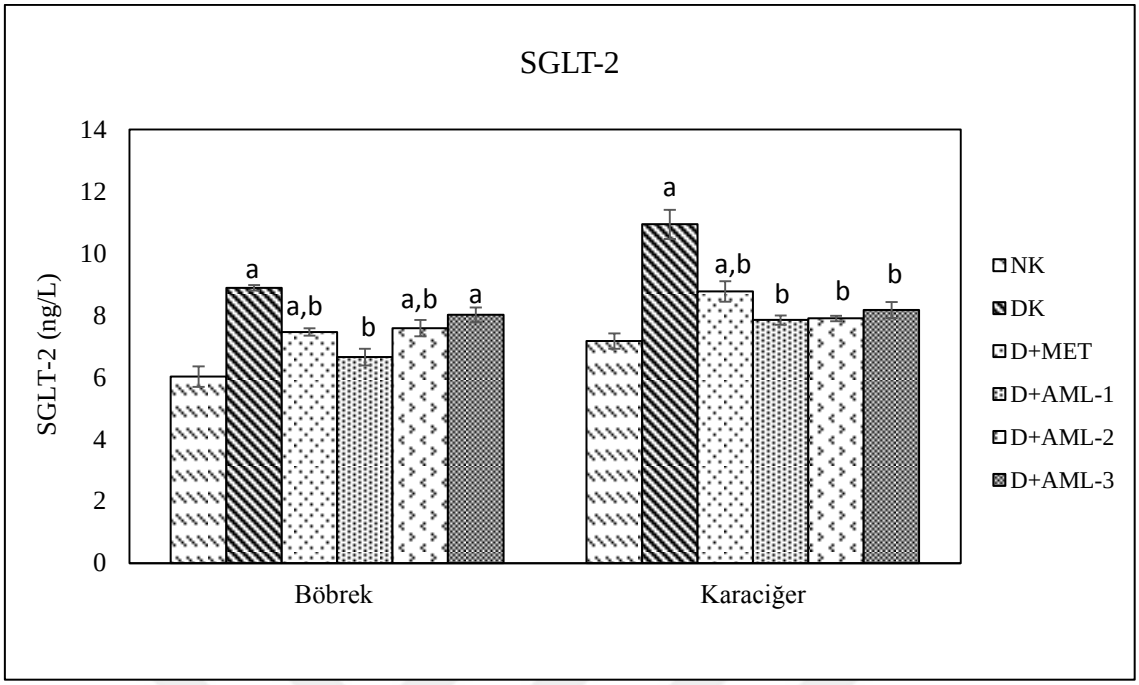
Çizelge 4.6. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SGLT-2 düzeyleri

	SGLT-2					
Dokular	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Böbrek (ng/L)	6.02±00.33	8.89±0.09^{a}	7.46±0.12^{a,b}	6.65±0.27^{b}	7.59±0.26^{a,b}	8.02±0.24^{a}
Karaciğer (ng/L)	7.17±0.25	10.94±0.47^{a}	8.77±0.33^{a,b}	7.85±0.15^{b}	7.90±0.09^{b}	8.17±0.26^{b}

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.6'ya göre, böbrek SGLT-2 düzeylerinin D+AML-1 grubu dışındaki diyabetik gruplarda NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), DK grubuna kıyasla D+MET, D+AML-1 ve D+AML-2 gruparında azaldı görüldü ($p<0.05$).

Çizelge 4.6'ya göre, karaciğer SGLT-2 düzeylerinin NK grubuna göre DK ve D+MET gruplarında arttığı ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+MET ve tüm ekstre gruplarında azaldığı gözlendi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.8. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SGLT-2 düzeyleri.

Çizelge 4.7. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GLUT-2 düzeyleri

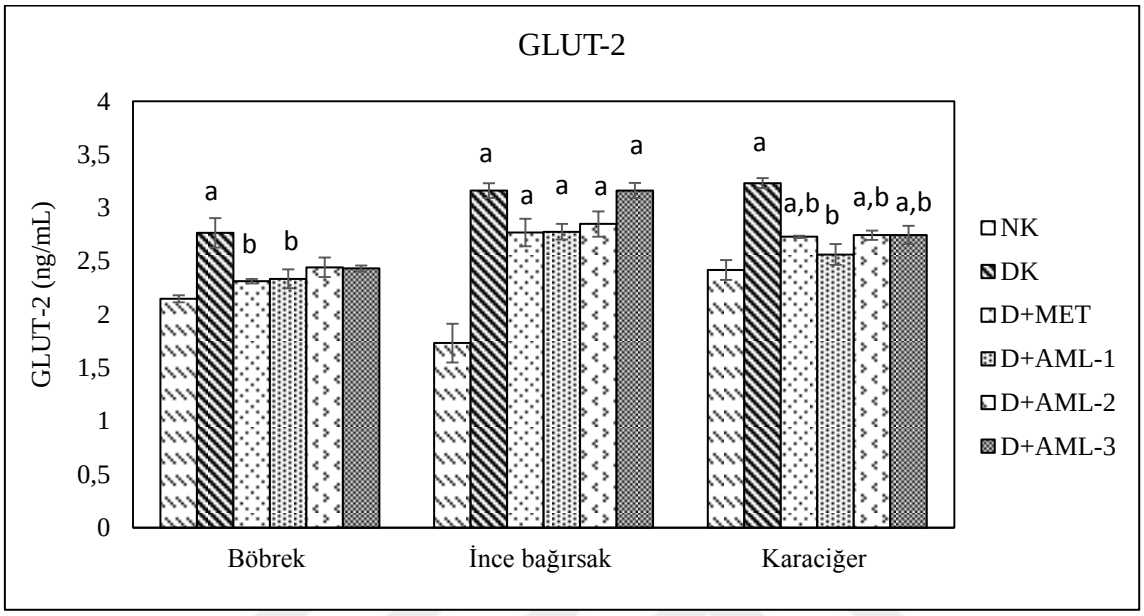
GLUT-2						
Dokular	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Böbrek (ng/mL)	2.15±0.03	2.77±0.14^{a}	2.31±0.02^{b}	2.33±0.09^{b}	2.44±0.09	2.43±0.03
İnce bağırsak (ng/mL)	1.73±0.18	3.16±0.07^{a}	2.77±0.13^{a}	2.78±0.07^{a}	2.85±0.12^{a}	3.16±0.07^{a}
Karaciğer (ng/mL)	2.42±0.09	3.23±0.05^{a}	2.73±0.01^{a,b}	2.56±0.10^{b}	2.74±0.04^{a,b}	2.75±0.09^{a,b}

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.7'ye göre, böbrek GLUT-2 düzeylerinin NK grubuna göre DK grubunda arttığı ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+MET ve D+AML-1 gruplarında azaldığı belirlendi ($p<0.05$).

Çizelge 4.7'ye göre, ince bağırsak GLUT-2 düzeylerinin tüm diyabetik gruplarda NK grubuna göre arttığı görüldü ($p<0.05$). Grupların DK grubu ile kıyaslanma sonuçlarına göre anlamlı değişiklikler gözlenmedi ($p>0.05$).

Çizelge 4.7'ye göre; karaciğer GLUT-2 düzeylerinin D+AML-1 grubu dışındaki diyabetik gruplarda NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+MET ve tüm ekstre gruplarında azaldığı tespit edildi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.9. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GLUT-2 düzeyleri.

Çizelge 4.8. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında ALT, AST, üre ve kreatinin düzeyleri

	Serum Parametreleri					
Parametreler	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
ALT (U/L)	40.28±3.09	226.67±11.11^{a}	112.17±8.38^{a,b}	76.35±4.03^{b}	133.72±14.38^{a,b}	108.55±14.61^{a,b}
AST (U/L)	96.8±3.51	231.32±6.69^{a}	139.42±12.59^{b}	79.57±6.89^{b}	182.30±19.51^{a,b}	153.6±9.14^{a,b}
Kreatinin (mg/dL)x100	32.83±0.95	51.17±1.20^{a}	38.50±0.43^{a,b}	40.50±0.92^{a,b}	46.20±1.73^{a}	41.83±1.01^{a,b}
Üre (mg/dL)	31.90±1.30	100.68±4.32^{a}	67.28±1.68^{a,b}	57.50±1.16^{a,b}	96.10±2.88^{a}	74.10±3.99^{a,b}

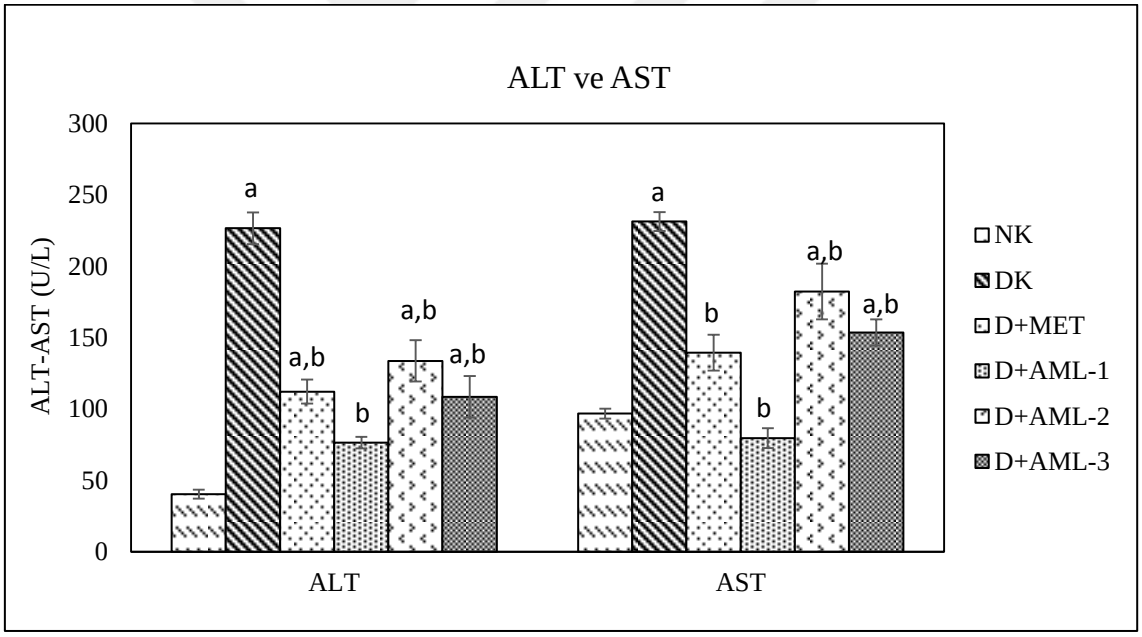
a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.8'e göre, ALT değerlerinin D+AML-1 dışındaki diyabetik gruplarda NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), DK grubuna göre yapılan kıyaslamada D+MET ve tüm ekstre gruplarında azaldığı görüldü ($p<0.05$).

Çizelge 4.8'e göre, AST değerlerinin D+MET ve D+AML-1 grupları dışındaki diyabetik gruplarda NK grubuna göre yükseldiği ($p<0.05$), DK grubuna göre D+MET ve tüm ekstre gruplarının AST düzeylerinin düştüğü görüldü ($p<0.05$).

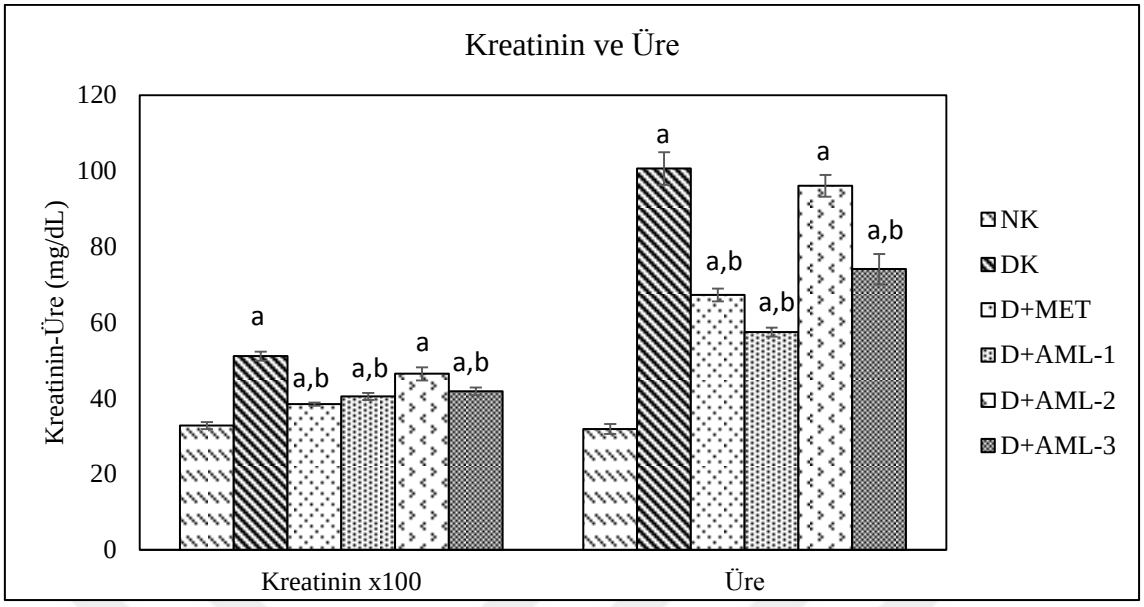
Çizelge 4.8'e göre, kreatinin değerlerinin tüm diyabetik gruplarda NK grubuna kıyasla arttığı tespit edildi ($p<0.05$). DK grubuna göre yapılan kıyaslamada ise D+MET, D+AML-1 ve D+AML-3 gruplarında azaldığı tespit edildi ($p<0.05$).

Çizelge 4.8'e göre, üre değerlerinin tüm diyabetik gruplarda NK grubuna göre yükseldiği ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+MET, D+AML-1 ve D+AML-3 gruplarında düştüğü gözlendi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.10. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının ALT ve AST düzeyleri.



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.11. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında üre ve kreatinin düzeyleri.

Çizelge 4.9. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının serum lipid profili

	Serum Lipid Profili					
Parametreler	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
HDL-C (mg/dL)	34.67±0.88	29.00±1.00[a]	28.67±0.67[a]	34.00±0.58[b]	33.17±0.79[b]	33.33±0,67[b]
LDL-C (mg/dL)	4.50±0.44	5.92±0.14[a]	4.88±0.07[a]	5.30±0.43[a]	5.92±0.27[a]	5.93±0.12[a]
Total-C (mg/dL)	36.4±1.04	44.60±0.60[a]	36.30±1.56[b]	38.37±1.08[b]	41.37±1.95	42.6±1.42[a]
TG (mg/dL)	38.90±1.72	56.5±1.02[a]	39.67±0.75[b]	40.6±1.85[b]	45.47±2.15[b]	49.63±2.61[a]

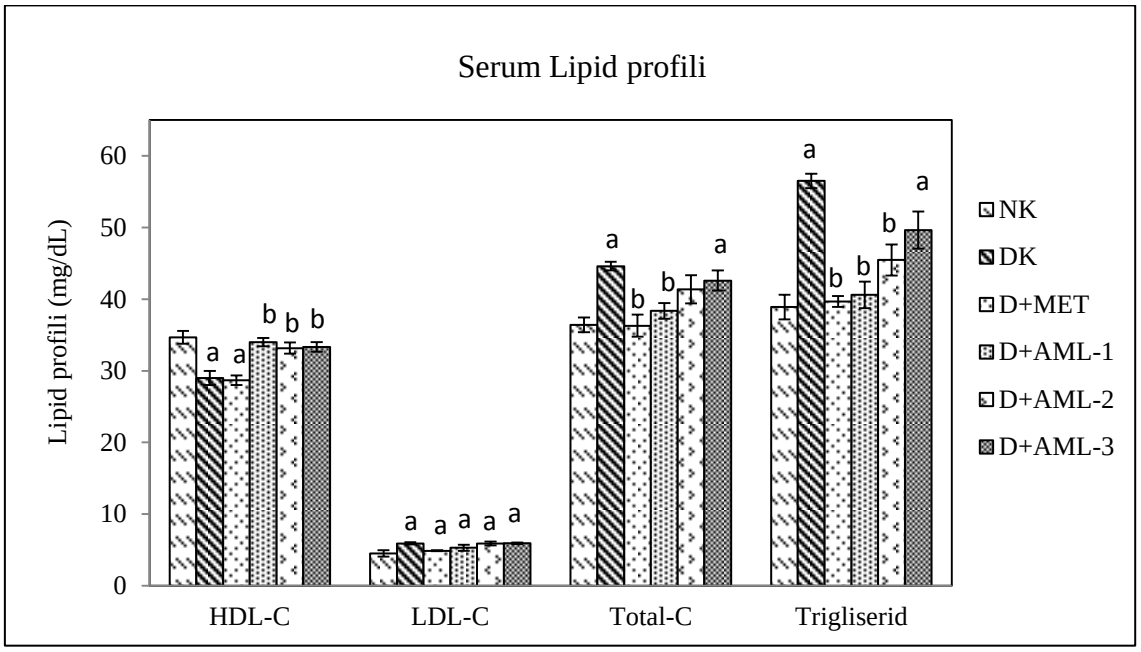
a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.9'a göre, HDL-C değerlerinin DK ve D+MET gruplarında NK grubuna göre azaldığı ($p<0.05$), ekstre gruplarında DK grubuna göre arttığı anlaşıldı ($p<0.05$).

Çizelge 4.9'a göre, LDL-C değerlerinin tüm diyabetik gruplarda NK grubuna göre arttığı görüldü ($p<0.05$). DK grubuna göre yapılan kıyaslamalarda anlamlı değişiklikler gözlenmedi ($p>0.05$)

Çizelge 4.9'a göre, total kolesterol değerlerinin DK ve D+AML-3 gruplarında NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), D+MET ve D+AML-1 gruplarında DK grubuna göre azaldığı tespit edildi ($p<0.05$).

Çizelge 4.9'a göre, trigliserid değerlerinin DK ve D+AML-3 gruplarında NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), D+MET, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında DK grubuna göre azaldığı gözlendi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.12. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının serum lipid profili.

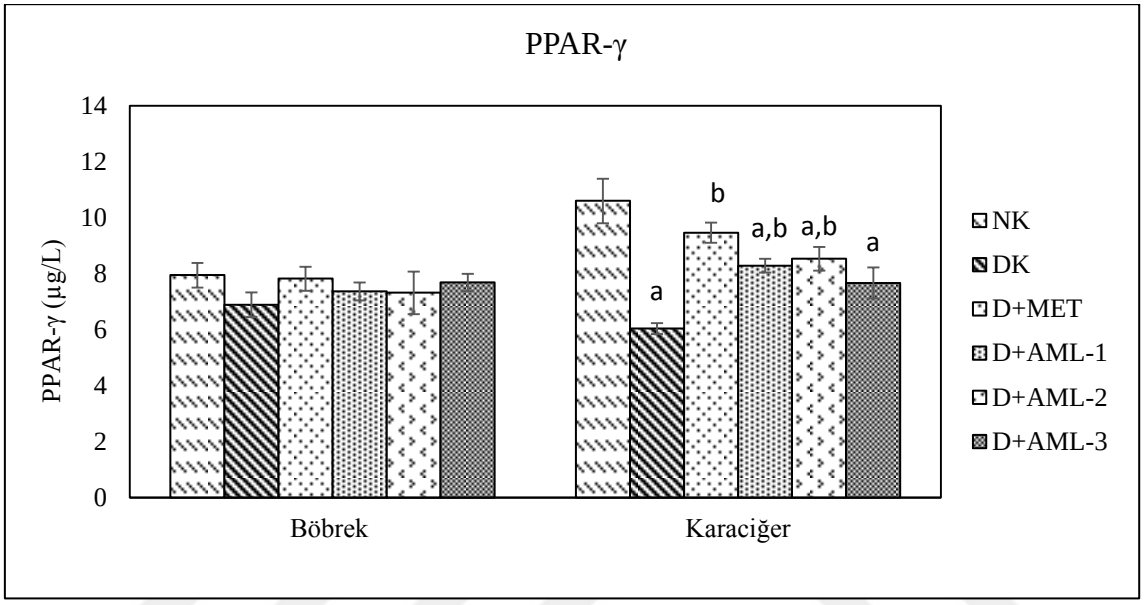
Çizelge 4.10. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında PPAR-γ düzeyleri

	PPAR-γ					
Dokular	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Böbrek (µg/L)	7.95±0.44	6.89±0.44	7.82±0.43	7.37±0.32	7.32±0.76	7.69±0.31
Karaciğer (µg/L)	10.6±0.80	6.04±0.20[a]	9.46±0.36[b]	8.28±2.46[a,b]	8.54±0.42[a,b]	7.67±0.56[a]

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.10'a göre, böbrek dokusu PPAR-γ seviyelerinde gruplar arası farklılıklar olsa da istatistiksel açıdan anlamlılık görülmedi ($p>0.05$).

Çizelge 4.10'a göre, karaciğer dokusu PPAR-γ seviyelerinin D+MET dışındaki diyabetik gruplarda NK grubuna göre azaldığı ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+MET, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında arttığı belirlendi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.13. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında PPAR-γ düzeyleri.

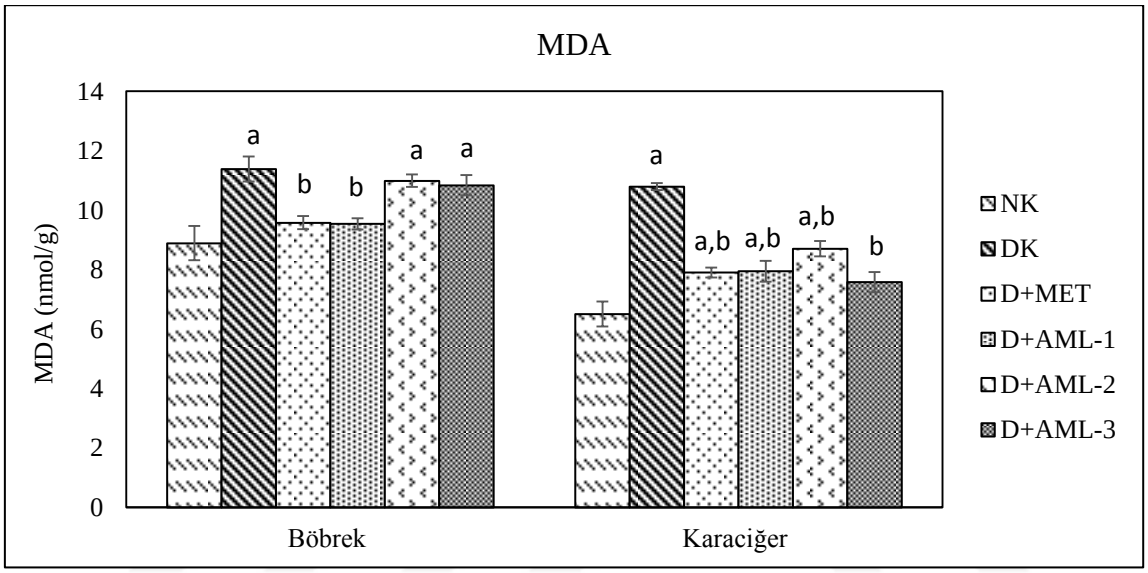
Çizelge 4.11. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında MDA seviyeleri

	MDA					
Dokular	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Böbrek (nmol/mg)	8.89±0.58	11.38±0.42[a]	9.58±0.22[b]	9.54±0.19[b]	10.99±0.21[a]	10.84±0.34[a]
Karaciğer (nmol/mg)	6.51±0.43	10.79±0.12[a]	7.90±0.17[a,b]	7.94±0.35[a,b]	8.70±0.26 [a,b]	7.57±0.31[b]

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.11'e göre, böbrek dokusu MDA seviyelerinin DK, D+AML-2 ve D+AML-3 gruplarında NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), D+MET ve D+AML-1 gruplarında DK grubuna göre azaldığı görüldü ($p<0.05$).

Çizelge 4.11'e göre, karaciğer dokusu MDA seviyelerinin D+AML-3 dışındaki diyabetik gruplarda NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), D+MET ve tüm ekstre gruplarında DK grubuna kıyasla azaldığı gözlendi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.14. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında MDA seviyeleri.

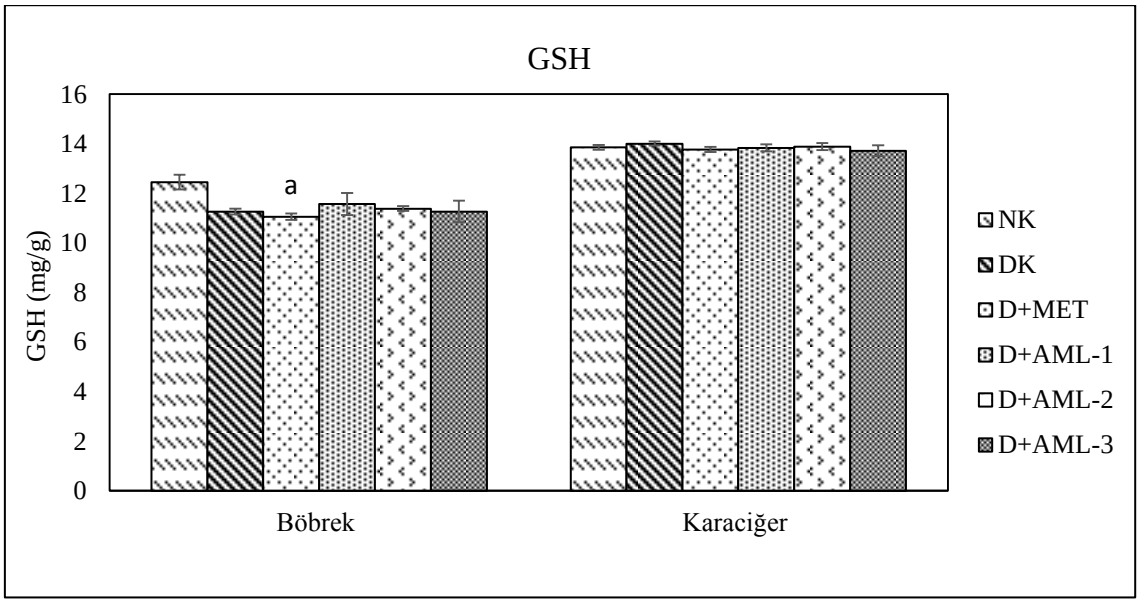
Çizelge 4.12. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GSH seviyeleri

	GSH					
Dokular	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Böbrek (mg/g)	12.45±0.30	11.26±0.12	11.06±0.13[a]	11.57±0.45	11.38±0.10	11.26±0.43
Karaciğer (mg/g)	13.85±0.10	14.01±0.10	13.77±0.13	13.83±0.15	13.88±0.14	13.71±0.22

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.12'ye göre, böbrek dokusu GSH seviyelerinin D+MET grubunda NK grubuna göre azaldığı görüldü ($p<0.05$). DK grubuna göre yapılan kıyaslama sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler gözlenmedi ($p>0.05$).

Çizelge 4.12'ye göre, karaciğer dokusu GSH seviyelerinin D+MET ve uygulama gruplarında NK ve DK gruplarına göre anlamlı farklılıklar göstermediği belirlendi ($p>0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.15. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GSH seviyeleri.

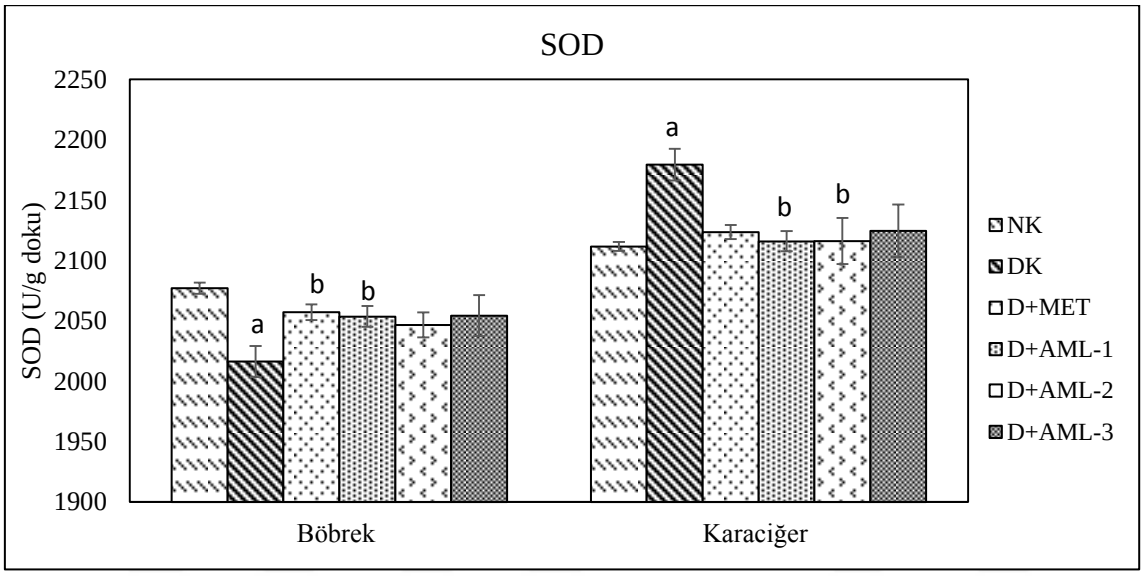
Çizelge 4.13. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SOD aktiviteleri

	SOD					
Dokular	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Böbrek (U/g)	2077.08±4.63	2016.36±12.94[a]	2057.14±6.56[b]	2053.62±8.66[b]	2046.64±10.37	2054.36±16.87
Karaciğer (U/g)	2111.70±3.70	2179.45±13.15[a]	2123.65±5.80	2115.98±8.41[b]	2116.11±19.18[b]	2124.67±21.67

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.13'e göre, böbrek dokusu SOD aktivitesinin DK grubunda NK grubuna göre azaldığı ($p<0.05$), DK grubuna kıyasla D+MET ve D+AML-1 gruplarında arttığı gözlendi ($p<0.05$).

Çizelge 4.13'e göre, karaciğer dokusu SOD aktivitesinin DK grubunda NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında DK grubuna göre azaldığı tespit edildi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.16. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında SOD aktiviteleri.

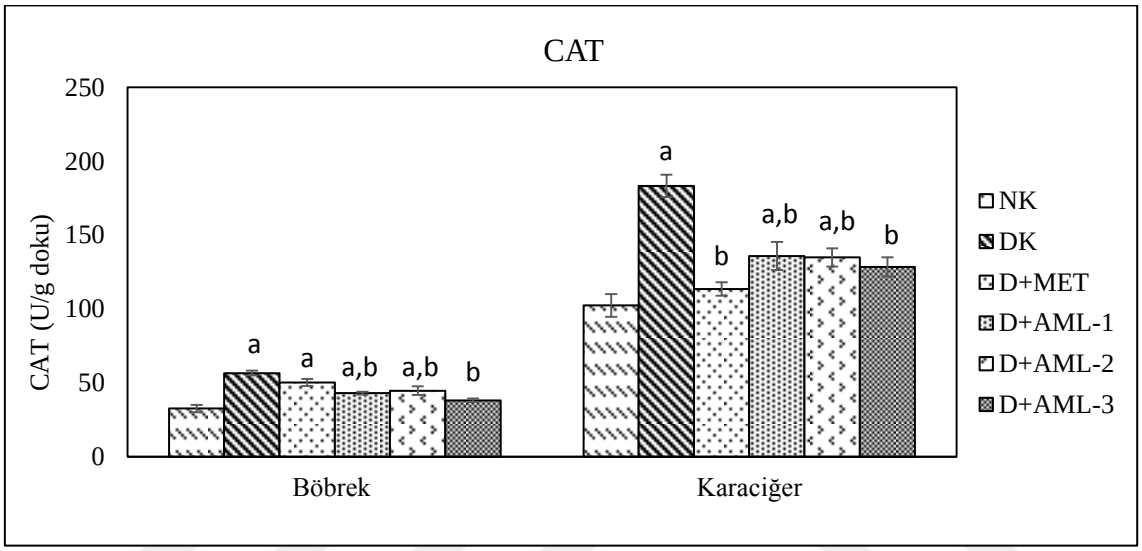
Çizelge 4.14. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında CAT aktiviteleri

	CAT					
Dokular	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Böbrek (U/g)	32.57±2.54	56.54±1.60[a]	50.25±2.42[a]	43.04±0.98[a,b]	44.67±2.97[a,b]	38.16±1.12[b]
Karaciğer (U/g)	102.37±7.72	183.33±7.55[a]	113.54±4.49[b]	135.87±9.53[a,b]	134.94±6.19[a,b]	128.43±6.45[b]

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.14'e göre, böbrek dokusu CAT aktivitelerinin D+AML-3 dışındaki diyabetik gruplarda NK grubuna göre yükseldiği ($p<0.05$), tüm ekstre gruplarında DK grubuna göre düştüğü gözlendi ($p<0.05$).

Çizelge 4.14'e göre, karaciğer dokusu CAT aktivitelerinin DK, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), D+MET ve tüm ekstre gruplarında DK grubuna göre azaldığı belirlendi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.17. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında CAT aktiviteleri.

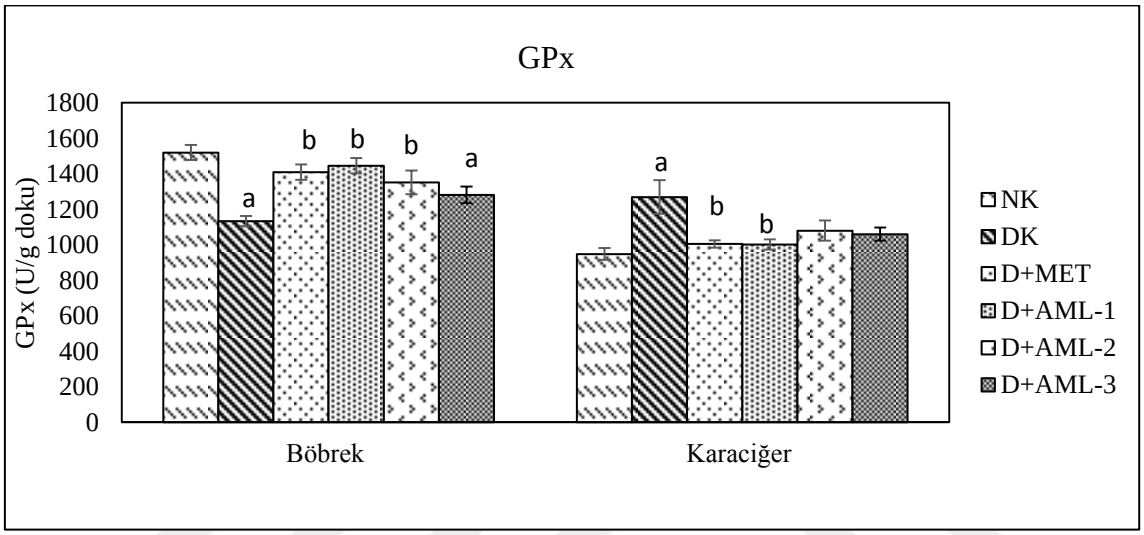
Çizelge 4.15. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GPx aktiviteleri

	GPx					
Dokular	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
Böbrek (U/g)	1519.07±41.87	1131.97±28.69[a]	1408.54±43.55[b]	1444.53±43.86[b]	1350.97±65.94[b]	1280.54±47.41[a]
Karaciğer (U/g)	947.43±33.56	1268.72±94.90[a]	1003.97±20.75[b]	1000.89±28.19[b]	1079.03±56.98	1059.49±37.67

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.15'e göre, böbrek dokusu GPx aktivitesinin DK ve D+AML-3 gruplarında NK grubuna göre azaldığı ($p<0.05$), DK grubuna göre ise D+MET, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında arttığı görüldü ($p<0.05$).

Çizelge 4.15'e göre, karaciğer dokusu GPx aktivitesinin DK grubunda NK grubuna göre arttığı ($p<0.05$), DK grubuyla yapılan kıyaslamaya göre ise D+MET ve D+AML-1 grubunda azaldığı belirlendi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

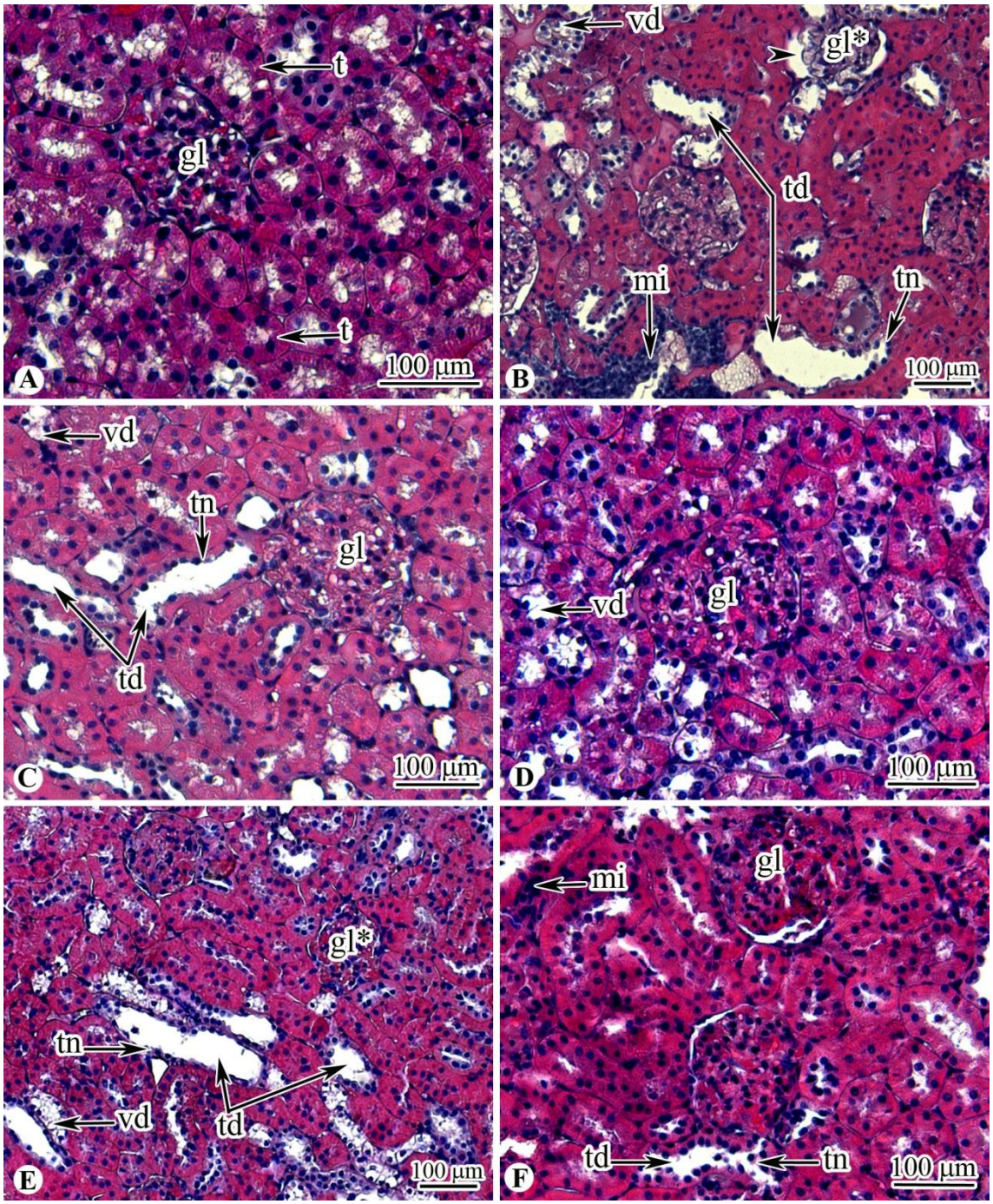
Şekil 4.18. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarının farklı dokularında GPx aktiviteleri.

4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Böbrek histopatolojisi

Böbrek kesitleri üzerinde yapılan semikantitatif histopatolojik değerlendirmeye göre; NK grubu sıçanlarında, tübüllerin ve glomerulusun normal görünümüyle karakterize edilen normal böbrek yapısı gözlendi (Şekil 4.19A). DK grubu sıçanlarında glomerulus çapında küçülme, bowman kapsül boşluğunda genişleme, inflamasyon odakları (mononükleer hücre infiltrasyonu), tübüler dilatasyon, tübül epitel hücrelerinde vakuolar dejenerasyon ile nekroz görüldü (Şekil 4.19B). Ekstre gruplarında, DK grubunda gözlenen glomerulus çapında küçülme, bowman kapsül boşluğunda

genişleme, inflamasyon odakları (mononükleer hücre infiltrasyonu), tübüler dilatasyon, tübül epitel hücrelerinde vakuolar dejenerasyon gibi histopatolojik değişikliklerin daha hafif derecede olduğu gözlendi (Şekil 4.19D, Şekil 4.19E, Şekil 4.19F).

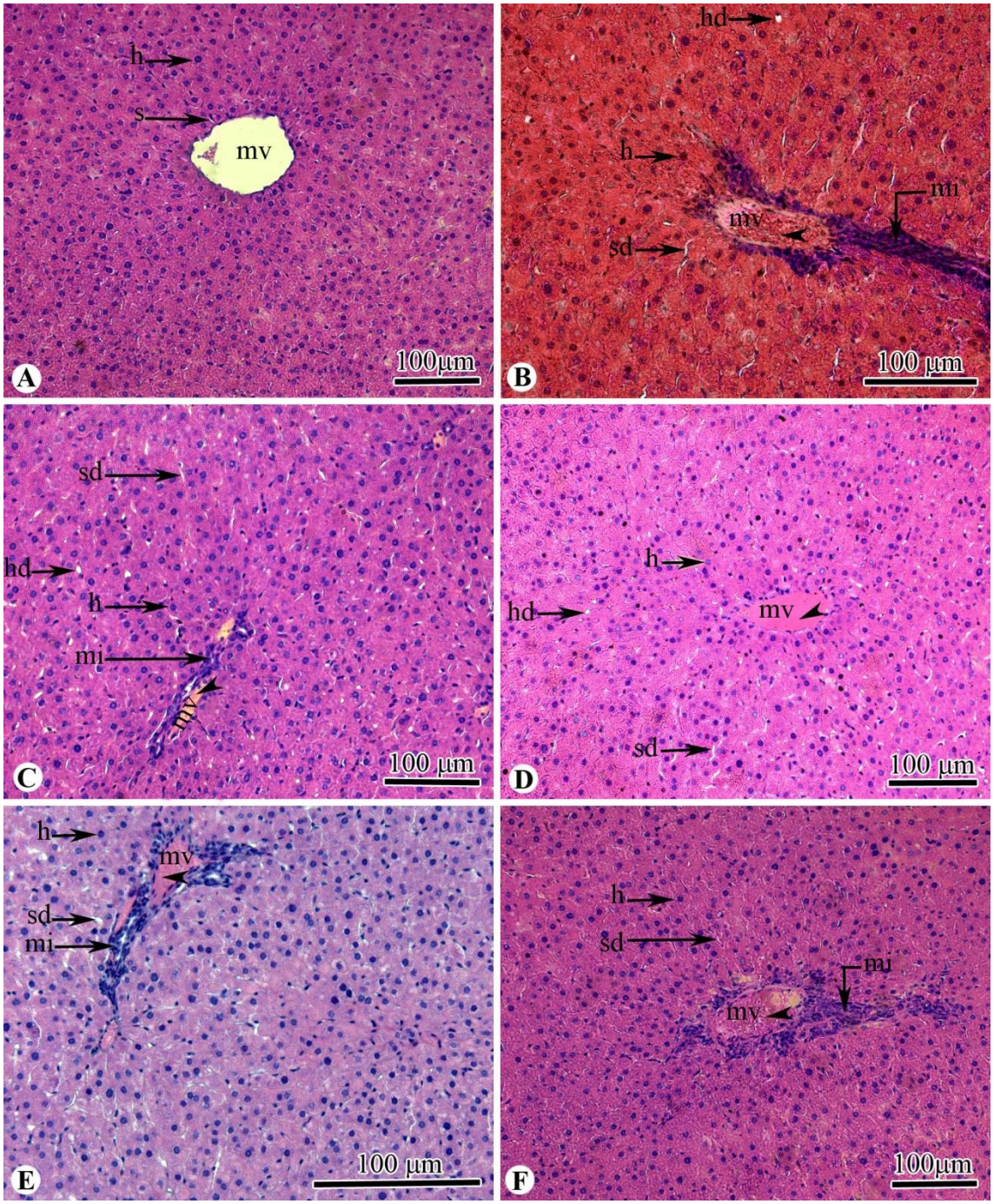


A (NK), B (DK), C (D+MET), D (D+AML-1), E (D+AML-2), F (D+AML-3). Glomerulus (gl), tübüler yapı (t), glomerulus hacminde küçülme (gl*), bowman kapsül boşluğunda genişleme (ok başı), mononükleer hücre infiltrasyonu (mi), tübüler dilatasyon (td), tübüler epitel hücre nekrozu (tn), tübül epitellerinde vakuolar dejenerasyon (vd).

Şekil 4.19. Hematoksilen-eozin ile boyanan böbrek kesitleri.

4.2.2. Karaciğer histopatolojisi

Karaciğer kesitleri üzerinde semikantitatif olarak yapılan histopatolojik değerlendirmede; NK grubu sıçanlarında, sinüzoid kanalların ayırdığı hepatosit dizilerinin merkezi ven etrafında tek sıra halinde ve ışınsal şekilde düzenlendiği normal karaciğer histolojik yapısı gözlendi (Şekil 4.20A). DK grubu sıçanlarının karaciğer kesitlerinde ise yoğun inflamasyon odakları (mononükleer hücre infiltrasyonu), sinüzoidal dilatasyon, vasküler konjesyon ve hidropik dejenerasyon gibi histopatolojik değişikliklerin meydana geldiği görüldü (Şekil 4.20B). Ekstre gruplarındaki bu histopatolojik değişiliklerin D+AML-1 grubunda hafif derecede (Şekil 4.20D), D+MET (Şekil 4.20C) ve D+AML-2 (Şekil 4.20E) gruplarında orta derecede, D+AML-3 (Şekil 4.20F) grubunda nispeten daha yoğun olduğu tespit edildi. Ancak tüm ekstre grupları DK grubu ile kıyaslandığında, sinüzoidal dilatasyon, vasküler konjesyon, hidropik dejenerasyon ve mononükleer hücre infiltrasyonunun azaldığı gözlendi.

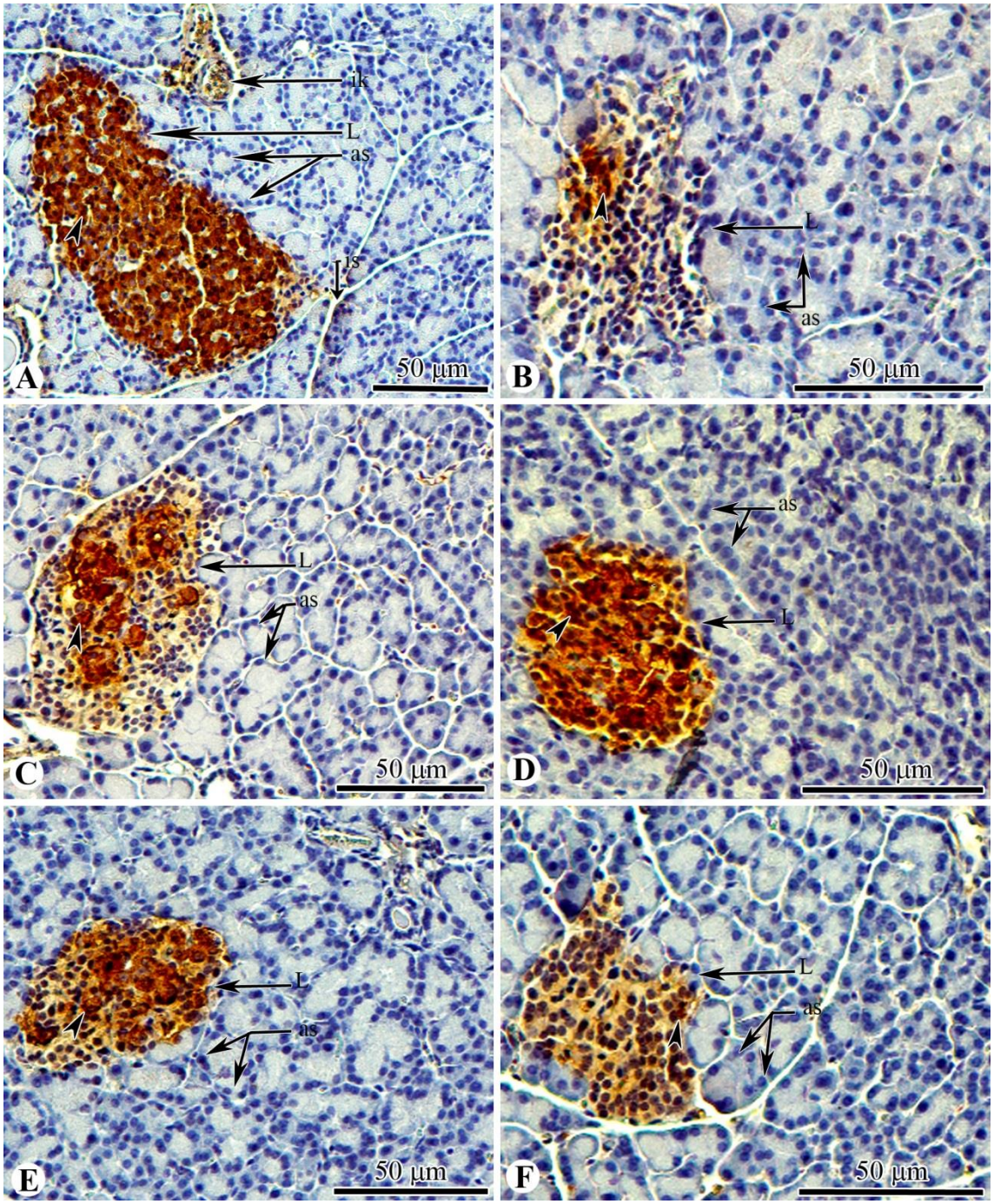


A (NK), B (DK), C (D+MET), D (D+AML-1), E (D+AML-2), F (D+AML-3). Hepatosit (h), hidropik dejenerasyon (hd), mononükleer hücre infiltrasyonu (mi), sinüzoid (s), Sinüzoidal dilatasyon (sd), merkezi ven (mv), vasküler konjesyon (ok başı).

Şekil 4.20. Hematoksilen-eozin ile boyanan karaciğer kesitleri.

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

Pankreasda semikantitatif olarak yapılan immünohistokimyasal incelenmede; NK grubu sıçanlarında pankreas dokusunun, yüksek yoğunlukta insülin immün pozitif β hücrelerini içeren düzgün konturlu Langerhans adacık yapısı ile birlikte histolojik olarak normal görünümde olduğu gözlendi (Şekil 4.21A). DK grubundaki sıçanların Langerhans adacıklarında ise insülin immün pozitif β hücre sayısının azalmasına paralel olarak atrofi ve adacık konturlarında düzensizlikler görüldü (Şekil 4.21B). Ancak D+AML-1 (Şekil 4.21D) ve D+AML-2 (Şekil 4.21E) gruplarında DK grubuna göre daha düzgün konturlu adacık yapısının gözlenmesiyle birlikte insulin immün pozitif β hücre sayısının da daha fazla olduğu tespit edildi.



A (NK), B (DK), C (D+MET), D (D+AML-1), E (D+AML-2), F (D+AML-3). Langerhans adacığı (L), insülin üreten adacık β hücreleri (ok başları) asiner hücreler(as), interlobüler septa (is), interlobüler kanal (ik).

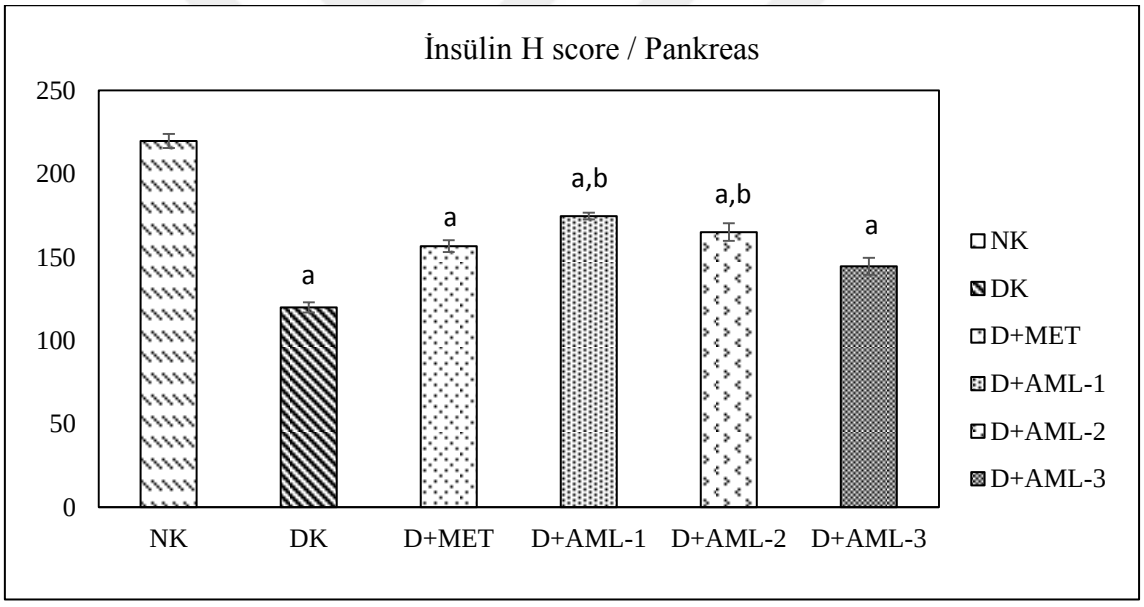
Şekil 4.21. Langerhans adacıklarında insülin immunoreaksiyonu (immünohistokimyasal boyama).

Çizelge 4.16. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında insülin immün pozitif β hücrelerinin H score değerleri

İnsülin Hscore / Pankreas						
	NK X ± SEM	DK X ± SEM	D+MET X ± SEM	D+AML-1 X ± SEM	D+AML-2 X ± SEM	D+AML-3 X ± SEM
İnsülin H score	219.73±4.28	119.85±3.01[a]	156.58±3.52[a]	174.62±2.00[a,b]	164.99±5.28[a,b]	114.51±5.14[a]

a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelde 4.16'ya göre, tüm diyabetik gruplarda insülin immün pozitif β hücreleri H score değerlerinin NK grubuna göre azaldığı görüldü ($p<0.05$). DK grubuna göre yapılan kıyaslamada ise D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarının H score değerlerinin arttığı tespit edildi ($p<0.05$).



a: NK grubu ile DK, D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).
b: DK grubu ile D+MET, D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p<0.05$).

Şekil 4.22. NK, DK, D+MET ve uygulama gruplarında insülin immün pozitif β hücrelerinin H score değerleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diyabet, karbonhidratlar, yağlar ve proteinlerde düzensiz metabolizma ile kendini gösteren, hiperglisemi ve hiperlipidemiye neden olan karmaşık bir metabolik bozukluktur (Oguntibeju, 2019). Diyabet yönetimi için farmakolojik (insülin sekretagogları, insülin duyarlılaştırıcılar ve α-glukozidaz inhibitörleri) ve farmakolojik olmayan (diyet, egzersiz ve kilo kaybı) yaklaşımlardan oluşan çeşitli tedaviler mevcuttur. Ancak diyabet hastaları, bu tedavilerin minimal veya ihmal edilebilir yan etkilerini göz önünde bulundurduklarında, genellikle tamamlayıcı ve alternatif ilaçları tercih etme yoluna gitmektedirler (Grossman ve ark., 2018). Dolayısıyla, küresel olarak diyabet tedavisine yönelik bitkisel ilaçların araştırılması yönünde büyük bir talep vardır (Sathasivampillai ve ark., 2017). Mantarlar, yüzyıllar boyunca geleneksel tıpta yer almakta, şapka ve gövdelerinden kurutulmuş ekstraktlar, batı ülkelerinde bitkisel ilaç pazarında önemli bir yer tutmaktadır (Money, 2016). Bu çalışmada, deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda *Armillaria mellea* ekstraktının antihiperglisemik, antihiperlipidemik, antioksidatif, ve antiinflamatuvar etkileri araştırıldı.

Deneysel DM oluşturmak için uygulanan STZ'nin sitotoksik etkisi, β hücrelerinde harabiyete ve glukoz kullanımı için gerekli olan insülin sekresyonunda azalmaya neden olur (Erbaş, 2015). Bu durum, vücudun enerji kaynağı olarak yağları ve hücresel proteinleri kullanmasıyla sonuçlanır ve sitotoksik etki, diyabetik sıçanlarda ciddi vücut ağırlığı kaybı ile kendini gösterir (Elberry ve ark., 2015). Vücut ağırlığında azalma ile birlikte yüksek gıda ve su alımı diyabetin patofizyolojik özelliklerindendir (Omolaoye ve ark., 2018). Diyabetle ilgili farklı deneysel çalışmalarda, antidiyabetik etkisi olduğu düşünülen maddelerin uygulandığı diyabetik sıçanlarda yem ve su tüketiminin DK grubuna göre azaldığı ve ciddi ağırlık kaybının önlendiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2019; Adams ve Yakubu, 2020; Seedevi ve ark., 2020). Bu çalışmada, diyabetik sıçanlarda artan yem ve su tüketiminin, DK grubuna göre D+AML-1 grubunda azaldığı görüldü ($p<0.05$).

Diyabetin makro ve mikro vasküler komplikasyonları esas olarak uzamış hiperglisemiye bağlıdır (Wu ve ark., 2016). Hiperglisemi genellikle göreceli veya tam insülin yetmezliği ya da insülin direnci ile tetiklenir (Shi ve ark., 2019). C-peptid,

pankreatik β hücrelerinde insülinle 1:1 oranında sentezlenir ve insülin eksikliği ile birlikte C-peptid eksikliği de diyabetik komplikasyonların gelişmesinde rol oynar (Derkach ve ark., 2020). Bu çalışmada, tüm diyabetik sıçanlarda insülin ve C-peptid seviyelerinin NK grubuna göre azaldığı, kan glukozunun ise arttığı görüldü ($p<0.05$). Ancak DK grubuna göre D+AML-1 grubunda insülin ve C-peptid seviyeleri artarken, D+MET, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında 21. gün kan glukoz değerlerinin 0. güne göre azaldığı gözlendi ($p<0.05$). Pankreas dokusunda insülin antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal incelemelerin sonuçları da bu verileri destekler niteliktedir. Normal kontrol sıçanlarında yüksek oranda insülin immün pozitif β hücreleri içeren langerhans adacıkları normal boyutlarda ve düzgün konturlu iken (Şekil 4.21A), diyabetik sıçanlarda adacıkların boyutlarının küçüldüğü, konturlarının bozulduğu ve insülin immün pozitif β hücre popülasyonun azaldığı tespit edildi (Şekil 4.21B). DK grubuna göre ise D+AML-1 (Şekil 4.21D) ve D+AML-2 (Şekil 4.21E) gruplarında daha düzgün konturlu adacık yapısının gözlenmesiyle birlikte, H score formülü ile yapılan değerlendirmeye göre insülin immünpozitif hücre sayısının arttığı belirlendi ($p<0.05$). Diyabetle ilgili çeşitli çalışmalarda diyabetik sıçanlarda azalan serum C-peptid ve insülin seviyelerinin β hücrelerinin harabiyetinin bir sonucu olduğu, bununla birlikte kan glukozunun da arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmalarda uygulama gruplarında serum C-peptid ve insülin seviyelerinin DK grubuna göre daha yüksek olmasıyla beraber kan glukozunun düştüğü bildirilmiştir (Erukainure ve ark., 2019; Idris ve ark., 2020; Joshua ve ark., 2020). Deneysel diyabet oluşturulan sıçan ve farelerin pankreası üzerinde anti-insülin antikoru kullanılarak yapılan bazı immünohistokimyasal çalışmalarda; NK grubuna göre DK grubunda azalan insülin immün pozitif β hücre sayılarının, uygulama gruplarında daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Karatuğ ve Bolkent, 2013; Nojehdehi ve ark., 2018; Samaha ve ark., 2019). *Armillaria mellea* ile yapılan çalışmalarda, mantar bünyesindeki bazı bileşiklerin diyabetik sıçanlarda kan şekerini düşürücü etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Yang ve ark., 2019a; Yang ve ark., 2019b). Bu bulgular ışığında *Armillaria mellea*'nın, β hücrelerinin ileri derecede harabiyetini önlemek yoluyla antihiperglisemik etki göstermiş olduğu söylenebilir.

İnflamatuvar süreçler, glikotoksisite, lipotoksisite ve oksidatif stres gibi patolojik mekanizmalar ile yakından ilişkilidir. Diyet bileşenleri, fiziksel hareketsizlik, sigara, alkol tüketimi gibi uyaranlar çeşitli dokulardan TNF-α ve IL-6 gibi

proinflamatuvar faktörlerin salınımını artırır. Bu durum insülin direnci, hücre disfonksiyonu ve nihayetinde Tip 2 diyabet gelişimi için risk faktörü olarak tanımlanan kronik düşük dereceli inflamasyona neden olur (Yalçın ve Rakıcıoğlu, 2018). Öte yandan hiperglisemi ve hiperlipidemi, ek olarak IL-6 ve TNF-α salgılanmasına ve kronik inflamasyon ile ilişkili ROS oluşumuna neden olur. İnflamatuvar sitokinler ve ROS, insülin aktivitesini bozar ve insülin direncini daha da artırır (Liang ve ark., 2020). Ayrıca inflamatuvar sitokinler her iki tip diyabet patogenezinde, nefropati, retinopati ve kardiovasküler hastalıklar gibi komplikasyonların gelişminde önemli rol oynar (Williams ve Nadler, 2007). Diyabetik ratlar üzerinde yapılan bazı bilimsel çalışmalarda TNF-α ve IL-6 seviyelerinin diyabetik kontrol sıçanlarında anlamlı düzeyde arttığı, tedavi edilen diyabetik sıçanlarda ise azaldığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmalarda uygulama gruplarında TNF-α ve IL-6 seviyelerinde gözlenen azalmanın, uygulanan maddenin antiinflamatuvar etkisinden kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir (Samarghandian ve ark., 2016; Rashid ve ark., 2019; Liang ve ark., 2020). Bu çalışmada, diyabetik kontrol grubu TNF-α ve IL-6 seviyelerinde anlamlı artış gözlendi ($p<0.05$). Mantar ekstresi verilen D+AML-1 grubunda ise TNF-α ve IL-6 düzeylerinin anlamlı olarak düştüğü tespit edildi ($p<0.05$). Bu verilere dayanarak, *Armillaria mellea* ekstresinin 100 mg/kg dozunun antiinflamatuvar etki gösterdiği düşünülebilir.

Karaciğer, fizyolojik ve DM gibi patolojik durumlarda glukoz regülasyonu için hayati önemi olan, çeşitli eksojen ve endojen bileşiklerin metabolizması, detoksifikasyonu, salgılanması ve depolanması gibi farklı fizyolojik süreçlerde yer alan bir organdır. Çeşitli hastalıklar ve maruz kaldığı metabolitler nedeniyle, karaciğerin rejenerasyon kapasitesi aşıldığında hücre hasarı gerçekleşir. Ek olarak DM'de dislipideminin, karaciğerde serbest yağ asitleri ve lipidlerin birikiminde rol oynamak yoluyla, aşırı ROS üretimine ve lipid peroksidasyonuna yol açtığı düşünülmektedir. Buna bağlı olarak oksidatif stres ve karaciğer hasarı artmakta ve bu durum diyabetik kişilerin serumundaki karaciğer enzim seviyelerinin yükselmesine neden olmaktadır (Mohamed ve ark., 2016; Medhekar ve ark., 2017). Karaciğer hücre hasarında dolaşımdaki düzeyleri yükselen enzimlerden en klasik olanı ALT'dir. AST herhangi bir organa spesifik değildir fakat aktivitesindeki yükselme, en yaygın hepatosellüler hastalıklarda gözlenir (Lenaerts ve ark., 2005; McKenna ve ark., 2006). Diyabetli bireyler (n:453) ile yapılan bir çalışmada artan AST ve ALT düzeylerinin zayıf kontrol

edilen DM ile yüksek oranda ilişkili olduğu gösterilmiştir (Shahwan ve ark., 2019). Deneysel diyabetle ilgili birçok çalışmada, diyabetik sıçanlarda gözlenen ALT ve AST artışının diyabete bağlı karaciğer hasarını gösterdiği ve uygulama gruplarında hasarın önlenmesine bağlı olarak bu değerlerin anlamlı derecede düştüğü bildirilmiştir (Swain ve ark., 2019; Adedapo ve ark., 2020; Maksoud ve ark., 2020). Bu çalışmada, NK grubuna kıyasla DK grubunda AST ve ALT enzimlerinin arttığı görüldü ($p<0.05$). Nitekim karaciğer kesitleri üzerinde yapılan histopatolojik incelemelerde DK grubunda inflamasyon odakları (mononükleer hücre infiltrasyonu), sinüzoidal dilatasyon, vasküler konjesyon ve hidropik dejenerasyon gibi yoğun histopatolojik değişiklikler görüldü (Şekil 4.20.B). Karaciğer dokusunda gözlenen bu histopatolojik değişiklikler, karaciğer harabiyetiyle ilgili yapılan bazı çalışmalarla paralellik göstermektedir (Karaca ve ark., 2014; Mercan ve ark., 2017; Yıldırım, 2017; Kocaman ve Dabak, 2019; Tie ve ark., 2020). Ancak, metformin ve ekstre gruplarında ALT ile AST seviyelerinin ve bahsi geçen histopatolojik değişikliklerin DK grubuna kıyasla daha düşük oranda olduğu tespit edildi (Şekil 4.20.C, Şekil 4.20.D, Şekil 4.20.E, Şekil 4.20.F). Ayrıca bazı ekstre gruplarında diyabetik kontrole göre lipid profilinde anlamlı iyileşmeler ve MDA düzeylerinde anlamlı azalmalar gözlendi ($p<0.05$). Bu bilgiler ışığında; *Armillaria mellea*'nın, lipid profilini iyileştirerek ROS üretimi ve lipid peroksidasyonunda, dolayısıyla da karaciğer hasarında azalmayı sağladığı sonucuna varılabilir.

Diyabette azalmış insülin sekresyonuna bağlı olarak lipid metabolizmasında gelişen değişiklikler ve insülin fonksiyonundaki bozukluklar, lipoprotein düzensizliklerine yol açar. Lipit metabolizmasındaki bu değişiklikler, aterojenik dislipidemi ile ilişkili kardiyovasküler hastalıkları arttırır ve ayrıca DM ile ilişkili diğer komplikasyonların ilerlemesinde önemli bir rol oynar. Dislipidemi, azalmış HDL kolesterol düzeyini, total kolesterol ile LDL-C'deki baskınlığı ve trigliserid yükselmesini yansıtır (Krauss, 2010; Lucchesi ve ark., 2015; Peterson ve ark., 2019). HDL kolesterol, kolesterolün periferik hücrelerden karaciğere taşındığı bir yol olan ters kolesterol taşınmasında önemli rol oynayan kardiyoprotektif bir lipid olarak kabul edilir (Kontush, 2020). Çok değişkenli modeller kullanan büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalar, yüksek trigliserid ve LDL-C seviyeleri ile kardiyovasküler risk arasındaki nedensel bağlantıyı ortaya koymuştur (Rosenson ve ark., 2014; Ference ve ark., 2017; Duprez ve ark., 2020; Borén ve ark., 2020). Lipid profilinin incelendiği ve STZ indüklü

diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, diyabetik sıçanlarda artan LDL-C, TG, TC ve azalan HDL-C seviyelerinin uygulama gruplarında tersi eğilim gösterdiği bildirilmiştir (Rezaei ve ark., 2020; Singh ve ark., 2020; Wu ve ark., 2020). Bu çalışmada DK grubunda LDL-C, TC ve TG seviyelerinin yükseldiği, HDL-C seviyelerinin ise azaldığı görüldü ($p<0.05$). Mantar ekstresi uygulanan gruplarda LDL-C seviyesinde anlamlı değişiklikler görülmese de, HDL-C (D+AML-1, D+AML-2 ve D+AML-3) seviyelerinin arttığı, TG ve TC seviyelerinin ise azaldığı (TG: D+AML-1 ve D+AML-2, TC: D+AML-1) tespit edildi ($p<0.05$). Bu durumun, *Armillaria mellea* ekstresinin antihiperlipidemik etki göstermiş olmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Diyabetik nefropati, diyabetik hastalarda meydana gelen böbrek hasarıdır (Alicic ve ark., 2017). Tip 2 diyabet hastalarının yaklaşık %40'ında diyabetik nefropati gelişirken, Tip 1 diyabette bu oran daha yüksektir. Diyabetik nefropati göz ardı edildiğinde, uzun vadeli böbrek hastalığı, son dönem böbrek hastalığı ve hatta böbrek yetmezliğine neden olabilir (Liu ve ark., 2020). Diyabetik nefropati sırasında kreatinin ve üre düzeylerinin arttığı belgelenmiştir (Lisowska-Myjak, 2010). Üre ve kreatinin, sırasıyla kana salınan amonyak ve kreatin katabolitleridir ve böbrek tarafından elimine edilirler (Bulle ve ark., 2016). Deneysel diyabetle ilgili birçok çalışmada, diyabetik sıçanlarda gelişen böbrek hasarı sonucu artan üre ve kreatinin değerlerinin, uygulama gruplarında azaldığı bildirilmiştir (Yang ve ark., 2017; Behera ve ark., 2019; Singla ve Singh, 2020). Bu çalışmada diyabetik sıçanlarda artan üre ve kreatinin değerlerinin, D+MET, D+AML-1 ve D+AML-3 gruplarında DK grubuna göre azaldığı görüldü ($p<0.05$). Böbrek kesitleri üzerinde semikantitatif olarak yapılan histopatolojik incelemelerde; DK grubunda glomerulus çapında küçülme, bowman kapsül boşluğunda genişleme, mononükleer hücre infiltrasyonu, tübüler genişleme, tübül epitellerinde vakuolar dejenerasyon ile nekroz gibi histopatolojik değiliklikler gözlendi (Şekil 4.19A). Bu değişiklikler diyabetik nefropati ile ilgili birçok histopatolojik çalışmayla benzerlik göstermektedir (Giribabu ve ark., 2017; Abou-Hany ve ark., 2018; Madić ve ark., 2021). D+MET (Şekil 4.19C), D+AML-1 (Şekil 4.19D) ve D+AML-3 (Şekil 4.19F) gruplarında ise DK grubuna göre, söz konusu histopatolojik değişikliklerde önemli iyileşme gözlendi. Sonuç olarak, *Armillaria mellea* ekstresinin 100 mg/kg ve 400 mg/kg dozunun diyabetik sıçanlarda gözlenen böbrek hasarında iyileşme sağladığı kanısına varılabilir.

PPAR-γ, adipogenez ve lipid metabolizmasının ana düzenleyicisi olmasının yanısıra, insülin duyarlılığında da rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (Huan ve ark., 2019). PPAR-γ agonistleri, Tip 2 diyabette yaygın olarak kullanılmaktadır (Tawfik, 2012). PPAR-γ, böbrekte albümin atılımını azaltıcı, renal fonksiyonu ve böprek patolojisini iyileştirici etkiler yapmaktadır. Karaciğerde ise glukoneogenezi ve trigliserid düzeyini azaltıcı, insülin duyarlılığı ve HDL düzeyini arttırıcı etki yaparak karbonhidrat ve lipid metabolizmasında etkili olmaktadır (Yılmaz, 2014). Xue ve ark. (2010), *Rheum palmatum*'dan elde edilen emodinin, diyabetik farelerde artan TG, TC ve LDL-C seviyelerini PPAR-γ düzeyini arttırmak yoluyla düşürdüğünü, DK grubunda azalan HDL-C düzeylerini ise arttırdığını bildirmişlerdir. Balakrishnan ve ark. (2018), deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara uyguladıkları bitki ekstraktının PPAR-γ ekspresyonunu arttırmak yoluyla antihiperglisemik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, böbrek dokusu PPAR-γ düzeyleri diyabetik sıçanlarda azalıp, ekstre gruplarında hafif derecede arttıysa da bu değişikliklerin anlamlı olmadığı görüldü. Karaciğer dokusunda, diyabetik gruplarda PPAR-γ düzeylerinin NK grubuna göre düştüğü, D+MET, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında ise DK grubuna göre yükseldiği belirlendi ($p<0.05$). Söz konusu gruplarda PPAR-γ düzeylerinin artışına paralel olarak TG ve TC düzeylerinin azaldığı, HDL düzeylerinin arttığı ve kan şekerinin düştüğü göz önünde bulundurulursa, mantar ekstresinin karaciğer PPAR-γ seviyeleri üzerinde etkili olarak lipid profilini iyileştirdiği ve kan şekerinin düzenlenmesine katkıda bulunduğu düşünülebilir.

Kandaki D-glukoz, ince bağırsakta besin karbonhidratlarının emiliminden, karaciğer ile böbrekte glukoneogenezden ve karaciğerdeki glikojenolizden elde edilir (Mithieux ve ark., 2004). Diyabette yeni tedavi yaklaşımları bu dokulardaki glukoz taşıyıcılarını veya karbonhidrat sindirim enzimlerini inhibe eden ilaçlar yoluyla kana verilen glukoz oranını azaltmak yönündedir (Göksu, 2018; Chen ve ark., 2019).

Diyabet tedavilerinin hedeflerinden biri, bağırsaklarda karbonhidrat sindiriminin son aşamasını katalize ederek glukozu serbest bırakan α-glukozidazdır. Bu enzim inhibe edildiğinde, kan dolaşımına daha az glukoz emilir ve net bir hipoglisemik etki ile sonuçlanır. Bu nedenle, α-glukozidaz inhibitörleri Tip 2 DM tedavisinde kullanılmıştır (Semotiuk ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020). Bitkilerden elde edilen flavonoidler, fenilpropanoidler, steroidler, organik asitler, alkoller ve aliller, bilinen α-glukozidaz

inhibitörleridir (Yin ve ark., 2014). Chen ve ark. (2019), diyabetik sıçanlarda natural flavonoidlerin α-glukozidaz aktivitesini inhibe ederek hiperglisemiyi hafiflettiğini bildirmişlerdir. Ademiluyi ark. (2014), STZ indüklü diyabetik sıçanlarda artan α-glukozidaz düzeylerinin uygulama gruplarında DK grubuna göre anlamlı olarak azaldığını bildirmişlerdir. Yine bir başka çalışmada tedavi amaçlı uygulanan bitki ekstraktının diyabetik sıçanlarda α-glukozidazı inhibe ettiği, bu nedenle de Tip 2 diyabet tedavisinde kullanılma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Broholm ve ark., 2019). Bu çalışmada DK grubunda artan α-glukozidaz aktivitesinin, düşük dozda (100 mg/kg) ekstre verilen D+AML-1 grubunda azaldığı gözlendi ($p<0.05$). *Armillaria mellea*'nın flavonoidler açısından zengin olduğu (Lung ve chang, 2011) göz önünde bulundurulursa, mantar ektresinin, bünyesinde bulunan flavonoidler aracılığıyla α-glukozidazı inhibe ettiği ve bu yolla antihiperglisemik etki göstermiş olduğu sonucuna varılabilir.

SGLT inhibitörlerinin, Tip 2 diyabette monoterapi olarak veya insülin dahil diğer glukoz düşürücü tedavilere ek olarak uygulandıklarında kan şekerini düşürmede etkin oldukları bilinmektedir (Tahrani ve ark., 2013). SGLT-1, bağırsak hücreleri boyunca glukoz ve galaktoz taşınmasında hız sınırlayıcı iken, böbreklerde proksimal tübüllerin S3 segmentinde glukozun geri emilimini (%10) gerçekleştirir (Batchelor ve ark., 2013; Koepsell, 2017). Ina ve ark. (2020), diyabetik olmayan sıçanlara uygulanan OGTT sonuçlarına göre, antihiperglisemik etkisini araştırdıkları pirinç albümininin, bağırsak SGLT-1 ifadesini inhibe ederek kan glukozu düzeylerindeki artışı önlediğini bildirmişlerdir. Io ve ark. (2019), STZ indüklü diyabetik sıçanlarda yemek sonrası, oral yolla uygulanan SGLT-1 inhibitörünün hiperglisemiyi önemli ölçüde azalttığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, ince bağırsak dokusunda diyabetik gruplarda artan SGLT-1 düzeylerinin ekstre gruplarında anlamlı değişiklikler göstermediği görüldü ($p>0.05$). Ancak böbrek dokusu DK grubunda artan SGLT-1 düzeylerinin metformin, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında azaldığı tespit edildi ($p<0.05$). SGLT-2, böbrek proksimal tübüllerinin S1 ve S2 segmentinde glukoz geri emiliminin %90'ından ve karaciğerde konsantrasyon gradiyentine karşı glukoz taşınımından sorumludur (Duran ve Kutlu, 2014; Koepsell, 2017). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetik kontrol grubunda böbrek SGLT-2 ekspresyonunun arttığı ve uygulama grubunda SGLT-2'nin aşırı ekspresyonunun önlenmesiyle hipergliseminin de önlendiği belirtilmiştir (Osorio

ve ark, 2012). Bu çalışmada böbrek dokusu SGLT-2 düzeylerinin, D+AML-1 grubu dışındaki tüm diyabetik gruplarda arttığı, DK grubuna göre ise D+AML-3 dışındaki ekstre gruplarında azaldığı belirlendi ($p<0.05$). Karaciğer dokusu SGLT-2 seviyeleri DK grubunda artarken, tüm ekstre gruplarında DK grubuna göre anlamlı azalmalar gözlendi ($p<0.05$). Bu sonuçlara göre, mantar ekstresinin, böbrek ve karaciğer dokularında SGLT-1 ve SGLT-2'nin aşırı ekspresyonunu önleyerek kan glukoz düzeyinin düşmesine katkıda bulunduğu düşünülebilir.

GLUT-2, bağırsak hücrelerinin bazolateral membranında ve böbrek proksimal tübül epitel hücrelerinde, SGLT-1 veya SGLT-2 tarafından başlatılan transepitelyal glukoz taşınmasının ikinci adımında işlev görür (Thorens, 2015). Ayrıca karaciğer tarafından glikojenoliz ve glukoneogenez ile glukoz salınımı yoluyla oluşan hiperglisemik yükten sorumludur. GLUT-2, şeker hastalarında aşırı ifade edilir. Bu nedenle, kan glukoz seviyesinin korunması zorunlu olsa da, GLUT-2 taşıyıcısının inhibisyonu, diyabet komplikasyonlarını önlemenin yeni bir yolu olarak sunulabilir (Im ve ark., 2005; Gerich, 2010). Daha önce yapılan bazı bilimsel çalışmalarda, diyabetik sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında GLUT-2 seviyelerinin arttığı, diyabetik tedavi gruplarında ise DK grubuna göre azaldığı bildirilmiştir (Chunudom ve ark., 2020; Kamble ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020). Bu çalışmada, GLUT-2 düzeylerinin diyabetik sıçanların karaciğer, böbrek ve incebağırsak dokularında arttığı gözlendi ($p<0.05$). Ekstre gruplarının ince bağırsak dokusu GLUT-2 seviyelerine DK grubuna göre gözlenen azalmalar anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Ancak, DK grubuna göre metformin ve tüm ekstre gruplarının karaciğer dokusunda, metformin ve D+AML-1 gruplarının böbrek dokusunda GLUT-2 düzeylerinin azaldığı belirlendi ($p<0.05$). Bu veriler dikkate alındığında, mantar ekstresinin karaciğer ve böbrek dokularında GLUT-2 ekspresyonunu inhibe ederek antihiperglisemik etki göstermiş olduğu söylenebilir.

Oksidatif stres, her iki tip DM patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Serbest radikaller, diyabette orantısız olarak glukoz oksidasyonu, proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonu ve ardından glikolize proteinlerin oksidatif bozunması ile oluşur. Anormal derecede yüksek serbest radikal seviyeleri ve aynı anda antioksidan savunma mekanizmalarının zayıflaması, hücresel organellerin ve enzimlerin hasar görmesine, lipid peroksidasyonunun artmasına ve insülin direncinin gelişmesine neden olabilir. Oksidatif stresin bu sonuçları, DM komplikasyonlarının gelişimini teşvik edebilir

(Maritim ve ark., 2003). Enzimatik ve nonenzimatik bileşenlerden oluşan antioksidan sistem, oksidatif stresin neden olduğu hasarı önleyebilir (Gate ve ark., 1999; Birben ve ark., 2012). Mantarlarla ilgili birçok çalışmada, bazı yenilebilir mantarların içerdikleri bileşikler aracılığıyla antioksidatif ve antihiperglisemik etki gösterdiği bildirilmiştir (De Silva ve ark., 2012; Liu ve ark., 2016; Zavastin ve ark., 2016; Xu ve ark., 2019; Wu ve ark., 2021).

Oksidatif hasarın bir belirteci olan MDA, artan ROS'un doymamış yağ asitlerine bağlanarak yapılarını değiştirmesi ile gerçekleşen lipid peroksidasyonu sonucu üretilir (Ayala ve ark., 2014). Diyabette oksidatif hasar ile ilgili bazı çalışmalarda, diyabetik sıçanların çeşitli dokularında ROS artışı sonucu MDA düzeylerinin arttığı, fakat bitki ekstreleri veya antidiyabetik ilaçların uygulandığı diyabetik gruplarda anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Saha ve ark., 2018; Masola ve ark., 2018, Qi ve ark., 2021). Bu çalışmada, diyabetik kontrol grubu sıçanlarının böbrek ve karaciğer dokularında yüksek MDA seviyelerinin anlamlı olduğu gözlendi ($p<0.05$). Bu durum, artmış hücresel oksidatif hasar durumunu düşündürmektedir. Metformin ve ekstre gruplarında ise anlamlı derecede düşük MDA seviyeleri görüldü ($p<0.05$). Bu veriler sonucunda söylenebilir ki; *Armillaria mellea* ekstresi, diyabetik sıçanların böbrek ve karaciğerinde ROS ile indüklenen lipid peroksit üretimini azaltarak bu dokulardaki oksidatif hasarı sınırlandırmış olabilir.

SOD, süperoksit radikalini H_2O_2'e dönüştürür. H_2O_2 molekülleri daha sonra GPx ve CAT tarafından moleküler oksijen ve suya parçalanır (Kaleem ve ark., 2006). Oksidatif strese neden olan etkenlerin dozlarına ve oksidatif stresin büyüklüğüne bağlı olarak gelişen adaptasyonla birlikte, hücredeki SOD aktivitesi artar (Akkuş, 1995). Serbest radikal artışına bağlı olarak lipid peroksidasyonun uzun süre devam etmesiyle hücresel antioksidan savunma sistemi aşılabilir. Bunun neticesinde sülfür içeren aminoasitlerin ROS ile oksitlenmesi ve proteinlerin üç boyutlu yapılarının bozulmasıyla enzim aktivitelerinde azalma gerçekleşir (Meister ve Anderson, 1983; Akkuş, 1995). Diyabetik sıçanlarda SOD aktivitesinin azaldığını bildiren çalışmalar (Li ve ark., 2019; Singla ve Sing, 2020) yanında, diyabetik sıçanlarda (Aydın ve ark., 2001; Yeğin ve Mert, 2013) ve 3. evreye kadar olan kanser hastalarında (Irawan ve ark., 2020) SOD aktivitesinin arttığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmada SOD aktivitesinin diyabetik kontrol sıçanlarının böbrek dokusunda azalırken, karaciğer dokusunda arttığı

belirlendi ($p<0.05$). Daha önce verilen bilgilere göre karaciğer dokusu için, diyabetik sıçanlarda artan SOD aktivitesinin, büyük olasılıkla $O_2^{\bullet -}$ üretimine karşı savunma neticesinde gerçekleştiği düşünülebilir. Bununla birlikte, diyabetik kontrol sıçanlarının karaciğer dokusu MDA seviyelerinin, kontrole kıyasla yüksek olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Bu durum MDA düzeylerindeki artışın SOD tarafından metabolize edilmeyen diğer radikal(ler)den kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. Diyabetik sıçanların böbrek dokusunda SOD aktivitesinin azalması ise lipid peroksidasyonunun uzun süre devam etmesi sonucu hücresel antioksidan savunma sisteminin aşılmasına bağlanabilir. Karaciğer dokusu DK grubunda artan SOD aktivitesinin D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarında azaldığı tespit edildi ($p<0.05$). Böbrek dokusu DK grubunda azalan SOD aktivitesinin ise D+MET ve D+AML-1 gruplarında arttığı görüldü ($p<0.05$). Her iki dokuda SOD aktivitesinin ekstre gruplarında diyabetik kontrol grubuyla tersi eğilim göstermesi, uygulanan ekstrenin serbest radikalleri azaltma veya antioksidan kapasiteye destek sağlama etkisinden kaynaklanmış olabilir.

CAT, normal redoks koşulları altında peroksizomda bulunan ve aşırı üretilen H_2O_2'nin neden olduğu hasara karşı hücreyi koruyan bir antioksidan enzimdir (Nitta ve ark., 2020). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda, diyabetik sıçanlarda artan CAT aktivitesinin diyabette oksidatif strese karşı telafi edici bir mekanizma ile olduğu, bitki ekstresi uygulanan diyabetik grupta ise diyabetik kontrol grubuna göre CAT aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (Cho ve ark., 2002; Erukainure ve ark., 2012). Bu çalışmada, DK grubunun hem karaciğer hem de böbrek dokusu CAT seviyelerinde görülen artışın ($p<0.05$), oksidatif strese karşı telafi edici bir mekanizma ile olduğu düşünülebilir. Ekstre verilen diyabetik gruplarda CAT aktivitesinin DK grubuna göre azalmasının ($p<0.05$) ise, *Armillaria mellea*'nın ihtiva ettiği antioksidan bileşiklerin etkisi ile ROS artışını ve dolayısıyla da CAT aktivitesinin aşırı derecede artışını önlemiş olmasından ileri geldiği düşünülebilir.

GPx, H_2O_2'yi suya ve moleküler oksijene dönüştürmede CAT'ı tamamlar (Sheehan ve ark., 2001). Diyabetik sıçanların çeşitli dokularında oksidatif stresin artmasına bağlı organ hasarından kaynaklı olarak GPx aktivitesinin azaldığı ve uygulama gruplarında DK grubuna göre arttığı daha önceki bilimsel çalışmalarda bildirilmiştir (Abdel-Wahab ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2019; AlAmri ve ark., 2020). Bu çalışmada, böbrek dokusu DK grubunda GPx aktivitesinin azaldığı gözlendi

($p<0.05$). Aynı dokuda SOD aktivitesinin de azaldığı ($p<0.05$) dikkate alındığında dokuda oksidatif stresin aşırı artmasıyla beraber antioksidan kapsitenin aşıldığı düşünülebilir. DK grubu ile yapılan kıyaslamada ise metformin, D+AML-1 ve D+AML-2 gruplarının GPx aktivitesinde artış olduğu gözlendi ($p<0.05$). Böbrek dokusu ekstre gruplarında gözlenen bu artışın, *Armillaria mellea* ekstresinin, içeriğindeki askorbik asit, flavonoidler, fenolik bileşikler (Lung ve Chang, 2011) gibi antioksidan bileşikler vasıtasıyla antioksidan kapasitenin aşılmasını önleme etkisinden kaynaklandığı düşünülebilir. Bunların yanında diyabetik sıçanlarda GPx aktivitesinin arttığını bildiren bir çalışma da mevcuttur (Ibuki ve ark., 2020). Bir başka çalışmada deneysel karaciğer hasarı oluşturulan sıçanların karaciğer dokusunda GPx aktivitesinin arttığı ve bu artışın artan oksidatif strese karşı adaptasyon mekanizması ile gerçekleşmiş olabileceği bildirilmiştir (Lizuka ve ark., 1991). Bu çalışmada, karaciğer dokusu DK grubunda GPx aktivitesi artarken, metformin ve D+AML-1 grubunda DK grubuna göre anlamlı azalma olduğu gözlendi ($p<0.05$). DK grubundaki aktivite artışı dokuda oksidatif stresin artışına karşın bir adaptasyon sonucu gelişmiş olabilir. 100 mg/kg ekstre verilen D+AML-1 grubunda GPx aktivitesinin DK grubuna göre azalmasının, ekstrenin dokuda oksidatif stres oluşturan serbest radikalleri azaltıcı etkisine paralel olarak gerçekleştiği söylenebilir.

KAYNAKLAR

Abacı, A., Böber, E., Büyükgebiz, A., 2007. Tip 1 diyabet. ***Güncel Pediatri***, **5** (1): 1-10.

Abdel-Wahab, A. F., Bamagous, G. A., Al-Harizy, R. M., ElSawy, N. A., Shahzad, N., Ibrahim, I. A., Al Ghamdi, S. S., 2018. Renal protective effect of SGLT2 inhibitor dapagliflozin alone and in combination with irbesartan in a rat model of diabetic nephropathy. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **103**: 59-66.

Abou-Hany, H. O., Atef, H., Said, E., Elkashef, H. A., Salem, H. A., 2018. Crocin mediated amelioration of oxidative burden and inflammatory cascade suppresses diabetic nephropathy progression in diabetic rats. ***Chemico-Biological İnteractions***, **284**: 90-100.

Adams, D. M., Yakubu, M. T., 2020. Aqueous extract of *Digitaria exilis* grains ameliorate diabetes in streptozotocin-induced diabetic male Wistar rats. ***Journal of Ethnopharmacology***, **249**: 112383.

Adedapo, A. A., Ogunmiluyi, I. O., Falayi, O. O., Ogunpolu, B. S., Oyagbemi, A. A., Orishadipe, A., Oguntibeju, O. O., 2020. The lyophilized aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* blunts streptozocin-induced diabetes in rats through upregulation of GLUT 4 signaling pathway and anti-oxidant effect. ***Scientific African***, **10**: e00619.

Ademiluyi, A. O., Oboh, G., Boligon, A. A., Athayde, M. L., 2014. Effect of fermented soybean condiment supplemented diet on α-amylase and α-glucosidase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Journal of Functional Foods***, **9**: 1-9.

Adeyemi, D. O., Ukwenya, V. O., Obuotor, E. M., Adewole, S. O., 2014. Anti-hepatotoxic activities of *Hibiscus sabdariffa* L. in animal model of streptozotocin diabetes-induced liver damage. ***BMC Complementary and Alternative Medicine***, **14 (1)**: 1-11.

Aebi, H., 1974. ***Catalase***. ***in Methods of Enzymatic Analysis*** (Editör: Bergemeyer, H U.). Academic Press, London. 673-684.

Akkuş, İ., 1995. ***Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri.*** Mimoza Yayınları, Konya.

Aksoy, Z. Nuhoğlu, A., 2019. Türkiye'de laboratuvar hayvanlarında anestezi, analjezi ve ötanazi. ***https://www.researchgate.net/profile/Abdurrahman_Aksoy/publication/335703206_Turkiye'deLaboratuvarHayvanlarindaAnesteziAnaljeziveOtanazi/links/5d769f69299bf1cb809527c3/TuerkiyedeLaboratuvarHayvanlarinda-Anestezi-Analjezi-ve-Oetanazi.pdf***. Erişim tarihi: 04.08.2019.

AlAmri, O. D., Albeltagy, R. S., Akabawy, A. M., Mahgoub, S., Abdel-Mohsen, D. M., Moneim, A. E. A., Amin, H. K., 2020. Investigation of antioxidant and anti-inflammatory activities as well as the renal protective potential of green coffee extract in high fat-diet/streptozotocin-induced diabetes in male albino rats. ***Journal of Functional Foods***, 103996.

Alicic, R. Z., Rooney, M. T., Tuttle, K. R., 2017. Diabetic kidney disease: challenges, progress, and possibilities. ***Clinical Journal of the American Society of Nephrology***, **12** (12): 2032-2045.

Alkadi, H., 2020. A review on free radicals and antioxidants. ***Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)***, **20** (1): 16-26.

Alkhatatbeh, M. J., Abdul-Razzak, K. K., 2018. Association between serum 25-hydroxyvitamin D, hemoglobin A1c and fasting blood glucose levels in adults with Diabetes mellitus. ***Biomedical Reports***, **9** (6): 523-530.

An, S., Lu, W., Zhang, Y., Yuan, Q., Wang, D., 2017. Pharmacological basis for use of *Armillaria mellea* polysaccharides in Alzheimer's disease: antiapoptosis and antioxidation. ***Oxidative Medicine and Cellular Longevity***.

Andrei, S. R., Gannon, M., 2020. Embryonic development of the endocrine pancreas. ***Transplantation, Bioengineering, and Regeneration of the Endocrine Pancreas***, **2**: 171–182.

Anonim, 2008. Acute oral toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP). ***https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecdtg425.pdf***. OECD, 425. Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD) Guideline for Testing of Chemicals. Erişim tarihi: 20.03.2017.

Anonim, 2018. Sedation/tranquilization, anesthesia and analgesia in laboratory animals and veterinarian recommended formularies. ***https://www.urmc.rochester.edu/MediaLibraries/URMCMedia/ucar/policies/documents/Anesthesia-and-Analgesia-in-Laboratory-Animals-at-UR-5-20-15_4.pdf***. Erişim tarihi: 04.08.2019.

Anonim, 2019a. Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu-2019.***https://temd.org.tr/admin/uploads/tbl_kilavuz/20200625154506-2020tbl_kilavuz86bf012d90.pdf***. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMD), Ankara. ISBN 978-605-4011-38-4. Erişim tarihi: 10.05.2020.

Anonim, 2019b. Index fungorum. ***http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=190066***. Erişim tarihi: 18.11.2020.

Anonim, 2020a. International diabetes atlas 9th edution 2019. ***https://www.diabetesatlas.org/en/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html.*** International Diabetes Federation (IDF). Erişim tarihi: 10.02.2020.

Anonim, 2020b. İstatistiksel tablolar-15 yaş ve üstü bireylerin son 12 ay içerisinde yaşadığı başlıca hastalık/sağlık sorunlarının cinsiyete göre dağılımı. ***https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=saglik-ve-sosyal-koruma-101&dil=1***. Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK), Ankara. Erişim tarihi: 25.01.2021.

Anonim, 2020c. Standards of medical care in diabetes-2020 abridged for primary care providers. American Diabetes Association (ADA). ***Clinical Diabetes***, **38 (1)**: 10-38.

Anonim, 2020d. About diabetes. ***http://www.idf.org/about-diabetes***. International Diabetes Federation (IDF). Erişim tarihi: 26.07.2020.

Anonim, 2020e. Health topics-Cardiovascular diseases. ***https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_2***. World Health Organization (WHO). Erişim tarihi: 15.02.2020.

Anoop, S., Misra, A., Bhatt, S. P., Gulati, S., Mahajan, H., 2019. High fasting C-peptide levels and insulin resistance in non-lean & non-obese (BMI> 19 to< 25 kg/m2) Asian Indians with Type 2 Diabetes are independently associated with high intra-abdominal fat and liver span. ***Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews***, **13** (1): 708-715.

Ayala, A., Munoz, M. F., Arguelles, S., 2014. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. ***Oxidative Medicine and Cellular Longevity***, 360438.

Aydın, A., Orhan, H., Sayal, A., Özata, M., Şahin, G., Işımer, A., 2001. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in Type II Diabetes mellitus: effects of glycemic control. ***Clinical Biochemistry***, **34** (1): 65-70.

Aytuğ, F., 2014. ***Tip 2 Diyabetik Mikroalbüminürik Hiperlipidemik Hastalarda Atorvastatin Tedavisinin Proinflamatuvar (IL-1), Antiinflamatuvar (IL10) Belirteçlere Etkisinin Araştırılması*** (uzmanlık tezi). T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul.

Balakrishnan, B. B., Krishnasamy, K., Choi, K.C., 2018. *Moringa concanensis* Nimmo ameliorates hyperglycemia in 3T3-L1 adipocytes by upregulating PPAR-γ, C/EBP-α via Akt signaling pathway and STZ-induced diabetic rats. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **103**: 719-728.

Bancroft, J. D., Gamble, M. (Eds.), 2008. ***Theory and Practice of Histological Techniques.*** 6th Edition.

Batchelor, D. J., German, A. J., Shirazi-Beechey, S. P., 2013. Relevance of sodium/glucose cotransporter-1 (SGLT1) to Diabetes mellitus and obesity in dogs. ***Domestic Animal Endocrinology***, **44** (3): 139-144.

Behera, S. R., Sekkizhar, M., Babu, S., 2019. Nephro-protective effect of aqueous extract of *Syzygium cumini* seed on streptozotocin induced diabetes in rats. ***International Journal of Chemical and Lifesciences***, **3** (2): 1285-1288.

Berber, B., Save, D., Kulak, E., Dedeoğlu, F. N., Temel, H., Yıldırım, M., Çifçili, S., 2019. Aile hekimliğine başvuran bireylerde Tip 2 diyabet risk düzeyinin belirlenmesi. ***Türkiye Aile Hekimliği Dergisi***, **23** (1): 20-30.

Beutler, E., Duron, O., Kelly, B. M., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. ***J. Lab. Clin. Med.***, **61** (5): 882-888.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. ***World Allergy Organ Journal***, **5** (1): 9–19.

Borén, J., Chapman, M. J., Krauss, R. M., Packard, C. J., Bentzon, J. F., Binder, C. J., Nordestgaard, B. G., 2020. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. ***European Heart Journal***, **41** (24): 2313-2330.

Broholm, S. L., Gramsbergen, S. M., Nyberg, N. T., Jäger, A. K., Staerk, D., 2019. Potential of *Sorbus berry* extracts for management of type 2 diabetes: Metabolomics investigation of 1H NMR spectra, α-amylase and α-glucosidase inhibitory activities, and in vivo anti-hyperglycaemic activity of *S. norvegica*. ***Journal of Ethnopharmacology***, **242**: 112061.

Bulle, S., Reddy, V. D., Hebbani, A. V., Padmavathi, P., Challa, C., Puvvada, P. K., Nallanchakravarthula, V., 2016. Nephro-protective action of *P. santalinus* against alcohol-induced biochemical alterations and oxidative damage in rats. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **84**: 740-746.

Cadet, J., Davies, K. J., 2017. Oxidative DNA damage & repair: an introduction. ***Free Radical Biology and Medicine***, **107**: 2-12.

Champe, P. C., Harvey, R. A., 2004. ***Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry.*** Third edition. Lippincott Williams Wilkins

Chang, C. C., Cheng, J. J., Lee, I. J., Lu, M. K., 2018. Purification, structural elucidation, and anti-inflammatory activity of xylosyl galactofucan from

Armillaria mellea. ***International Journal of Biological Macromolecules***, **114**: 584-591.

Chatterjee, S., Khunti, K., Davies, M. J., 2017. Type 2 diabetes. ***The Lancet***, **389** (10085): 2239-2251.

Chen, Y. J., Wu, S. Y., Chen, C. C., Tsao, Y. L., Hsu, N. C., Chou, Y. C., Huang, H. L., 2014. *Armillaria mellea* component armillarikin induces apoptosis in human leukemia cells. ***Journal of Functional Foods***, **6**: 196-204.

Chen, M., Wang, K., Zhang, Y., Zhang, M., Ma, Y., Sun, H., Zhang, Y., 2019. New insights into the biological activities of *Chrysanthemum morifolium*: Natural flavonoids alleviate diabetes by targeting α-glucosidase and the PTP-1B signaling pathway. ***European Journal of Medicinal Chemistry***, **178**: 108-115.

Chiba, S., 1997. Molecular mechanism in α-glucosidase and glucoamylase. ***Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry***, **61** (8): 1233-1239.

Cho S. Y., Park, J. Y., Park, E. M., Choi, M. S., Lee, M. K., Jeon, S. M., Jang, M. K., Kim, M. J., Park, Y. B., 2002. Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. ***Clin Chim Acta***, **317**: 109–117.

Chung, J. J., Jin, T., Lee, J. H., Kim, S. G., 2019. Chemical exchange saturation transfer imaging of phosphocreatine in the muscle. ***Magnetic Resonance in Medicine***, **81** (6): 3476-3487.

Chunudom, L., Thongsom, M., Karim, N., Rahman, M. A., Rana, M. N., Tangpong, J., 2020. *Tithonia diversifolia* aqueous fraction plays a protective role against alloxan-induced diabetic mice via modulating GLUT2 expression. ***South African Journal of Botany***, **133**: 118-123.

Çakır, M., 1997. ***Aspirin ve Vitamin E (A-Tokoferol)'nin Farelerde (Mus Musculus) Karaciğer Total Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktivitelerine Etkileri*** (yüksek lisans tezi, basılmamış). OMÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Çetinkalp, Ş., 2017. Soru 1–Trigliserit nedir? Normal fizyolojideki yeri nedir?. ***Turk Kardiyol Dern Ars***, **45** (1): 1-63.

Davey, M. W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J., Swennen, R. L., 2005. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. ***Analytical Biochemistry***, **347** (2): 201-207.

DeFronzo, R. A., 2004. Pathogenesis of Type 2 Diabetes mellitus. ***Medical Clinics***, **88** (4): 787-835.

Deng, D., Yan, N., 2016. GLUT, SGLT, and SWEET: Structural and mechanistic investigations of the glucose transporters. ***Protein Science***, **25** (3): 546-558.

Derkach, K. V., Zorina, I. I., Zakharova, I. O., Basova, N. E., Bakhtyukov, A. A., Shpakov, A. O., 2020. The influence of intranasally administered insulin and C-peptide on AMP-activated protein kinase activity, mitochondrial dynamics and apoptosis markers in the hypothalamus of rats with streptozotocin-iduced diabetes. ***Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology***, **56** (3): 207-217.

De Silva, D. D., Rapior, S., Hyde, K. D., Bahkali, A. H., 2012. Medicinal mushrooms in prevention and control of Diabetes mellitus. ***Fungal Diversity***, **56** (1): 1-29.

Dinççağ, N., 2011. Diabetes mellitus tanı ve tedavisinde güncel durum. ***İç Hastalıkları Dergisi***, **18** (4): 181-223.

Ding, H., Wu, X., Pan, J., Hu, X., Gong, D., Zhang, G., 2018. New insights into the inhibition mechanism of betulinic acid on α-glucosidase. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***. **66** (27): 7065-7075.

Dludla, P. V., Nkambule, B. B., Dias, S. C., Johnson, R., 2017. Cardioprotective potential of N-acetyl cysteine against hyperglycaemia-induced oxidative damage: A protocol for a systematic review. ***Systematic Reviews***, **6** (1): 1-5.

Duprez, D. A., Otvos, J., Tracy, R. P., Feingold, K. R., Greenland, P., Gross, M. D., Jacobs Jr, D. R., 2020. High-density lipoprotein subclasses and noncardiovascular, noncancer chronic inflammatory-related events versus cardiovascular events: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. ***Journal of the American Heart Association***, **4** (9): e002295.

Duran, C., Kutlu, O., 2014. Tip 2 diyabet tedavisinde yeni bir alternatif: Sodyum-glukoz cotransporter-2 inhibitörleri. ***Selçuk Tıp Derg***, **30** (1): 8-14.

Egorov, A. D., Penkov, D. N., Tkachuk, V. A. E., 2015. Molecular and cellular mechanisms of adipogenesis. ***Diabetes Mellitus***, **18** (2): 12-19.

Elberry, A. A., Harraz, F. M., Ghareib, S. A., Gabr, S. A., Nagy, A. A., Abdel-Sattar, E., 2015. Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. ***International Journal of Diabetes Mellitus***, **3** (1): 37-44.

El-Nasr, N. M. A., Saleh, D. O., Mahmoud, S. S., Nofal, S. M., Abdelsalam, R. M., Safar, M. M., El-Abhar, H. S., 2020. Olmesartan attenuates Type 2 diabetes-associated liver injury: cross-talk of AGE/RAGE/JNK, STAT3/SCOS3 and RAS signaling pathways. ***European Journal of Pharmacology***, **874**: 173010.

Erbaş, O., 2015. Deneysel diyabet modelleri. ***FNG & Bilim Tıp Dergisi***, **1** (1): 40-42.

Eroğlu, N., 2018. Diabetes mellitus'un komplikasyonları. ***Izmir Democracy University Health Sciences Journal***, **1** (2): 6-12.

Erukainure, O., L., Adeboyejo, F. O., Elemo, G. N., Ebuehi, O. A. T., 2012. Modulation of lipid peroxidation, hypolipidemic and antioksidant activities in brain tisues of diabetic rats by fibre enriched biscuits. ***Journal of Acute Disease***, 42-46.

Erukainure, O. L., Oyebode, O. A., Ijomone, O. M., Chukwuma, C. I., Koorbanally, N. A., Islam, M. S., 2019. Raffia palm (*Raphia hookeri* G. Mann & H. Wendl) wine modulates glucose homeostasis by enhancing insulin secretion and inhibiting redox imbalance in a rat model of diabetes induced by high fructose diet and streptozotocin. ***Journal of Ethnopharmacology***, **237**: 159-170.

Evans, M. D., Cooke, M. S., 2004. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. ***Bioessays***, **26** (5): 533-542.

Farmer, E. E., Mueller, M. J., 2013. ROS-mediated lipid peroxidation and RES activated signaling. ***Annual Review of Plant Biology***, **64**: 429-450.

Ference, B. A., Ginsberg, H. N., Graham, I., Ray, K. K., Packard, C. J., Bruckert, E., Watts, G. F., 2017. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. ***European Heart Journal***, **38** (32): 2459-2472.

Ferrannini, E., 2017. Sodium-glucose co-transporters and their inhibition: Clinical physiology. ***Cell Metabolism***, **26** (1): 27-38.

Fratelli, M., Goodwin, L. O., Ørom, U. A., Lombardi, S., Tonelli, R., Mengozzi, M., Ghezzi, P., 2005. Gene expression profiling reveals a signaling role of glutathione in redox regulation. ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, **102** (39): 13998-14003.

Gallo, L. A., Ward, M. S., Fotheringham, A. K., Zhuang, A., Borg, D. J., Flemming, N. B., Forbes, J. M., 2016. Once daily administration of the SGLT2 inhibitor,

empagliflozin, attenuates markers of renal fibrosis without improving albuminuria in diabetic db/db mice. ***Scientific Reports***, **6** (1): 1-17.

Gaschler, M. M., Stockwell, B. R., 2017. Lipid peroxidation in cell death. ***Biochemical and Biophysical Research Communications***, **482** (3): 419-425.

Gate, L., Paul, J., Ba, G. N., Tew, K. D., Tapiero, H., 1999. Oxidative stress induced in pathologies: The role of antioxidants. ***Biomedecine & Pharmacotherapy***, **53** (4): 169‑180.

Gawel, S., Wardas, M., Niedworok, E., Wardas, P., 2004. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. ***Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)***, **57** (9-10): 453-455.

Gerich, J. E., 2010. Role of the kidney in normal glucose homeostasis and in the hyperglycaemia of Diabetes mellitus: Therapeutic implications. ***Diabetic Medicine***, **27** (2): 136-142.

Ghezzi, P., 2013. Protein glutathionylation in health and disease. ***Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects***, **1830** (5): 3165-3172.

Giardino, I., D'Apolito, M., Brownlee, M., Maffione, A. B., Colia, A. L., Sacco, M., Pettoello-Mantovani, M., 2017. Üренin damar toksisitesi, kronik böbrek yetmezliğine bağlı kalp ve damar hastalıklarının patogenezinde yeni bir" eski oyuncu". ***Turkish Pediatrics Archive/Turk Pediatri Arsivi***, **52** (4).

Giribabu, N., Karim, K., Kilari, E. K., Salleh, N., 2017. *Phyllanthus niruri* leaves aqueous extract improves kidney functions, ameliorates kidney oxidative stress, inflammation, fibrosis and apoptosis and enhances kidney cell proliferation in adult male rats with Diabetes mellitus. ***Journal of Ethnopharmacology***, **205**: 123-137.

Göksu, U. A., 2018. Sodyum glukoz ko-transporter Tip 2 inhibitörleri: Diyabet tedavisinde yeni seçenek. ***Namık Kemal Tıp Dergisi***, **6** (3): 122-139.

Grossman, L.D., Roscoe, R., Shack, A.R., 2018. Complementary and alternative medicine for diabetes. ***Canadian Journal of Diabetes***, **42**: 154-161.

Gryszczyńska, B., Formanowicz, D., Budzyń, M., Wanic-Kossowska, M., Pawliczak, E., Formanowicz, P., Iskra, M., 2017. Advanced oxidation protein products and carbonylated proteins as biomarkers of oxidative stress in selected atherosclerosis-mediated diseases. ***BioMed Research International***, **2017**: 4975264.

Guex, C. G., Reginato, F. Z., de Jesus, P. R., Brondani, J. C., Lopes, G. H. H., de Freitas Bauermann, L., 2019. Antidiabetic effects of *Olea europaea* L. leaves in diabetic rats induced by high-fat diet and low-dose streptozotocin. ***Journal of Ethnopharmacology***, **235**: 1-7.

Gutierres, V. O., Assis, R. P., Arcaro, C. A., Oliveira, J. O., Lima, T. F. O., Beretta, A. L. R. Z., Brunetti, I. L., 2019. Curcumin improves the effect of a reduced insulin dose on glycemic control and oxidative stress in streptozotocin-diabetic rats. ***Phytotherapy Research***, 1-13.

Hallgrímsson, B., Benediktsson, H., Vize, P. D., 2003. Anatomy and histology of the human urinary system. ***The Kidney***, 149-164.

Hedayat, K. M., Lapraz, J.-C., Schuff, B., 2020. Medicinal plants in clinical practice. ***The Theory of Endobiogeny***, 57–60.

Henriksen, E. J., 2019. Role of oxidative stress in the pathogenesis of insulin resistance and Type 2 diabetes. In bioactive food as dietary interventions for diabetes. ***Academic Press***, 3-17.

Huan, Y., Pan, X., Peng, J., Jia, C., Sun, S., Bai, G., Li, C., 2019. A novel specific peroxisome proliferator activated receptor γ (PPARγ) modulator YR4-42 ameliorates hyperglycaemia and dyslipidaemia and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. ***Diabetes, Obesity and Metabolism***, **21** (11): 2553-2563.

Huang, X. J., Choi, Y. K., Im, H. S., Yarimaga, O., Yoon, E., Kim, H. S., 2006. Aspartate aminotransferase (AST/GOT) and alanine aminotransferase (ALT/GPT) detection techniques. ***Sensors***, **6** (7): 756-782.

Ibuki, F. K., Bergamaschi, C. T., da Silva Pedrosa, M., Nogueira, F. N., 2020. Effect of vitamin C and E on oxidative stress and antioxidant system in the salivary glands of STZ-induced diabetic rats. ***Archives of Oral Biology***, 104765.

Idris, A. E., Etet, P. F. S., Saeed, A. A., Farahna, M., Satti, G. M., AlShammari, S. Z., Hamza, M. A., 2020. Evaluation of metabolic, antioxidant and anti-inflammatory effects of *Garcinia kola* on diabetic rats. ***Saudi Journal of Biological Sciences***, **27** (12): 3641-3646.

Ighodaro, O. M., 2018. Molecular pathways associated with oxidative stress in Diabetes mellitus. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **108**: 656-662.

Im, S. S., Kang, S. Y., Kim, S. Y., Kim, H. I., Kim, J. W., Kim, K. S., Ahn, Y. H., 2005. Glucose-stimulated upregulation of GLUT2 gene is mediated by sterol response element–binding protein-1c in the hepatocytes. ***Diabetes***, **54** (6): 1684-1691.

Ina, S., Hamada, A., Nakamura, H., Yamaguchi, Y., Kumagai, H., Kumagai, H., 2020. Rice (*Oryza sativa japonica*) albumin hydrolysates suppress postprandial blood glucose elevation by adsorbing glucose and inhibiting Na+-d-glucose cotransporter SGLT1 expression. ***Journal of Functional Foods***, **64**: 103603.

Io, F., Gunji, E., Koretsune, H., Kato, K., Sugisaki-Kitano, M., Okumura-Kitajima, L., Yamamoto, K., 2019. SGL5213, a novel and potent intestinal SGLT1 inhibitor, suppresses intestinal glucose absorption and enhances plasma GLP-1 and GLP-2 secretion in rats. ***European Journal of Pharmacology***, **853**: 136-144.

Irawan, B., Labeda, I., Lusikooy, R. E., Sampetoding, S., Kusuma, M. I., Uwuratuw, J. A., Faruk, M., 2020. Association of superoxide dismutase enzyme with staging and grade of differentiation colorectal cancer: A cross-sectional study. ***Annals of Medicine and Surgery***, **58**: 194-199.

Ismaiel, A., Dumitrașcu, D. L., 2019. Cardiovascular risk in fatty liver disease: The liver-heart axis–literature review. ***Frontiers in Medicine***, **6**: 202.

İnal, M. E., Kanbak, G., Sunal, E., 2001. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. ***Clinica Chimica Acta***, **305** (1-2): 75-80.

Jain, S. K., McVie, R., Duett, J., Herbst, J. J., 1989. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. ***Diabetes***, **38** (12): 1539-1543.

Jamali-Raeufy, N., Baluchnejadmojarad, T., Roghani, M., 2019. Isorhamnetin exerts neuroprotective effects in STZ-induced diabetic rats via attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. ***Journal of Chemical Neuroanatomy***, **102**: 101709.

Janani, C., Kumari, B. R., 2015. PPAR gamma gene–a review. ***Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews***, **9** (1): 46-50.

Jassim, R. A., Alsaady, Z. A., 2020. Estimation of parameters (serum glucose, urea, creatinine and C-peptide) in diabetic nephropathy. ***Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology***, **14** (3): 925-929.

Jawerbaum, A., Capobianco, E., 2011. Effects of PPAR activation in the placenta and the fetus: implications in maternal diabetes. ***Placenta***, **32**: 212-217.

Joshua, M. T., Wachuku, E. O., Boisa, N., Nduka, N., 2020. Evaluation of antidiabetic potentials of *Morus mesozygia* Linn. Stapf., leaf extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Journal of Complementary and Alternative Medical Research***, **11** (1): 23-32.

Juza, R. M., Pauli, E. M., 2014. Clinical and surgical anatomy of the liver: A review for clinicians. ***Clinical Anatomy***, **27** (5): 764-769.

Kafle, D., Islam, N., Aryal, B., Adhikary, P., Singh, N., 2013. Inflammation and oxidative stress via persistent hyperglycemia in progression of diabetic nephropathy in Type 2 Diabetes mellitus. ***Journal of Chitwan Medical College***, **3** (1): 1-4.

Kaisoon, O., Konczak, I., Siriamornpun, S., 2012. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. ***Food Research International***, **46** (2): 563-571.

Kaleem, M., Asif, M., Ahmed, Q. U., Bano, B., 2006. Antidiabetic and antioxidant activity of *Annona squamosa* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Singapore Medical Journal***, **47**(8): 670.

Kalfa, M., Aksu, K., 2011. Anti-tümör nekrozis faktör-α tedavisi ve enfeksiyon. ***RAED Dergisi***, **3**: 49-56.

Kamble, S. P., Ghadyale, V. A., Patil, R. S., Haldavnekar, V. S., Arvindekar, A. U., 2020. Inhibition of GLUT2 transporter by geraniol from *Cymbopogon martinii*: a novel treatment for Diabetes mellitus in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Journal of Pharmacy and Pharmacology***, **72** (2): 294-304.

Kaminaka, H., Morita, S., Tokumoto, M., Yokuyama, H., Masumara, T., Tanaka, K., 1999. Molecular cloning and characterization of cDNA for an ıron-superoxide dismutase in rice (*Oryza sativa* L.). ***Biosci. Biotechnol. Biochem.***, **63**: 302-308.

Kannan, N., Nguyen, L. V., Makarem, M., Dong, Y., Shih, K., Eirew, P., Eaves, C. J., 2014. Glutathione-dependent and-independent oxidative stress-control mechanisms distinguish normal human mammary epithelial cell subsets. ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, **111** (21): 7789-7794.

Karabulut, H., Gülay, M. Ş., 2016. Serbest radikaller. ***Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi***, **4** (1): 50-59.

Karaca, Ö., Sunay, F. B., Kuş, M. A., Gülcen, B., Özcan, E., Ögetürk, M., Kuş, İ., 2014. Kadmiyum ile oluşturulan deneysel karaciğer hasarına karşı melatoninin etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik düzeylerde incelenmesi. ***Fırat Tıp Derg/Firat Med J***; **19** (3): 110-115.

Karatuğ, A., Bolkent, S., 2013. The potential role of combined antioxidant treatment on pancreas of STZ-diabetic mice. ***Experimental and Toxicologic Pathology***, **65** (3): 255-262.

Kartal, D., Özok, N., 2019. Anti-hyperglycemic effect of *Vicia ervilia* (L.) Willd (Fabaceae) seed extract and its effect on lipid profile, and hepatic and renal biomarkers in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Tropical Journal of Pharmaceutical Research***, **18** (9): 1881-1887.

Kayano, T., Fukumoto, H., Eddy, R.L., Fan, Y.S., Byers, M.G., Shows, T.B., Bell, G.I., 1988. Evidence for a family of human glucose transporter-like proteins. Sequence and gene localization of a protein expressed in fetal skeletal muscle and other tissues. ***J. Biol. Chem.***, **263** (30): 15245–15248.

Keha, E., Küfrevioglu Ö. İ., 2004. ***Biyokimya.*** Aktif yayınevi, Erzurum.

Kemik, Ö., Kemik, A. S., Dülger, A. C., Hasırcı, İ., Daştan, E., Bartın, M. K., Tüzün, S., 2010. Karaciğer metastazlı kolon kanserli hastalarda interlökin-6 düzeyleri. ***Van Tıp Dergisi***, **17** (2): 42-45.

Khursheed, R., Singh, S. K., Wadhwa, S., Gulati, M., Awasthi, A., 2020. Therapeutic potential of mushrooms in Diabetes mellitus: Role of polysaccharides. ***International Journal of Biological Macromolecules***, **161**: 1194-1205.

Kılınç, K., Kılınç, A., 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. ***Hacettepe Tıp Dergisi,*** **33** (2): 110-118.

Kirkman, H. N., Gaetani, G. F., 2007. Mammalian catalase: A venerable enzyme with new mysteries. ***Trends in Biochemical Sciences***, **32** (1): 44-50.

Kobori, T., Ganesh, D., Kumano-Kuramochi, M., Torigoe, K., Machida, S., 2020. Assay for advanced glycation end products generating intracellular oxidative stress through binding to its receptor. ***Analytical Biochemistry***, **611**: 114018.

Kocaman, N., Dabak, D.Ö., 2019. Metotreksat ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda silymarin'in koruyucu etkilerinin araştırılması. ***F.Ü. Sağ. Bil. Tıp. Derg.***, **33** (2): 67-72.

Koepsell, H., 2017. The Na+-D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2 are targets for the treatment of diabetes and cancer. ***Pharmacology & Therapeutics***, **170**: 148-165.

Kontush, A., 2020. HDL and reverse remnant-cholesterol transport (RRT): Relevance to cardiovascular disease. ***Trends in Molecular Medicine***.

Krauss, R.M., 2010. Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk, ***Curr. Opin. Lipidol***, **21** (4): 305–311.

Krishnan, B., Pugalendi, K. V., Saravanan, R., 2019. Ameliorative potential of Chrysoeriol, a bioactive flavonoid on oxidative stress and hepatic marker enzymes in STZ induced diabetic rats. ***Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology***, **5** (3): 614-624.

Kumar, C., Igbaria, A., D'autreaux, B., Planson, A. G., Junot, C., Godat, E., Toledano, M. B., 2011. Glutathione revisited: a vital function in iron metabolism and ancillary role in thiol redox control. ***The EMBO Journal***, **30** (10): 2044-2056.

Kumar, A., Prasad, S. S., Sinha, R. R., 2019. Study of changes in biochemical parameters due to hyperglycemia in cases of Diabetes mellitus. ***International Journal of Contemporary Microbiology***, **5** (1): 11-16.

Kuroda, S., Kobashi, Y., Oi, T., Kawabe, K., Shiozawa, F., Okumura-Kitajima, L., Kakinuma, H., 2019. Discovery of potent, low-absorbable sodium-dependent glucose cotransporter 1 (SGLT1) inhibitor SGL5213 for Type 2 diabetes treatment. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry***, **27** (2): 394-409.

Lawrence, G. D., Mavi, A., Meral, K., 2008. Promotion by phosphate of Fe (III)-and Cu (II)-catalyzed autoxidation of fructose. ***Carbohydrate Research***, **343** (4): 626-635.

Ledesma, M. D., Dotti, C. G., 2006. Amyloid excess in Alzheimer's disease: What is cholesterol to be blamed for?. ***FEBS Letters***, **580** (23): 5525-5532.

Lehmann-Werman, R., Magenheim, J., Moss, J., Neiman, D., Abraham, O., Piyanzin, S., Dor, Y., 2018. Monitoring liver damage using hepatocyte-specific methylation markers in cell-free circulating DNA. ***JCI İnsight***, **3** (12): e120687.

Lenaerts, A. J., Johnson, C. M., Marrieta, K. S., Gruppo, V., Orme, I. M., 2005. Significant increases in the levels of liver enzymes in mice treated with anti-tuberculosis drugs. ***Int J Antimicrob Agents***, **26** (2): 152-158.

Li, Z., Wang, Y., Jiang, B., Li, W., Zheng, L., Yang, X., Li, Y., 2016. Structure, cytotoxic activity and mechanism of protoilludane sesquiterpene aryl esters from the mycelium of *Armillaria mellea*. ***Journal of Ethnopharmacology***, **184**: 119-127.

Li, J., Zhao, H., Hu, X., Shi, J., Shao, D., Jin, M., 2019. Antidiabetic effects of different polysaccharide fractions from *Artemisia sphaerocephala* Krasch seeds in db/db mice. ***Food Hydrocolloids***, **91**: 1-9.

Liang, H. L., Cheng, P. W., Lin, H. L., Hao, C. L., Ke, L. Y., Chou, H. Y., Shen, K. P., 2020. Extract of pre-germinated brown rice protects against cardiovascular dysfunction by reducing levels of inflammation and free radicals in a rat model of Type II diabetes. ***Journal of Functional Foods***, **75**: 104218.

Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Abete, P., 2018. Oxidative stress, aging, and diseases. ***Clinical İnterventions in Aging***, **13**: 757-772.

Lisowska-Myjak, B., 2010. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury. ***Blood Purification***, **29** (4): 357-365.

Liu, K., Wang, J., Zhao, L., Wang, Q., 2013. Anticancer, antioxidant and antibiotic activities of mushroom *Ramaria flava*. ***Food and Chemical Toxicology***, **58**: 375-380.

Liu, Y., Chen, D., You, Y., Zeng, S., Li, Y., Tang, Q., Chen, D., 2016. Nutritional composition of boletus mushrooms from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activities**.** ***Food Chemistry***, **211**: 83-91.

Liu, C., Zhao, S., Zhu, C., Gao, Q., Bai, J., Si, J., Chen, Y., 2020. Ergosterol ameliorates renal inflammatory responses in mice model of diabetic nephropathy. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **128**: 110252.

Lizuka, J., Sato, J., Sugimoto, M., 1991. Glutathione S-transferase in alcoholic fatty liver. ***Japanese Journal of Alcohol Studies and Drug Dependence***, **26** (5): 428-446.

Longnecker, D. S., 2014. Anatomy and histology of the pancreas. The pancreapedia: exocrine pancreas knowledge base. ***American pancreatic association (APA) Version 1., ABD***.

Lucchesi, A. N., Cassettari, L. L., Spadella, C. T., 2015. Alloxan-induced diabetes causes morphological and ultrastructural changes in rat liver that resemble the natural history of chronic fatty liver disease in humans. ***Journal of Diabetes Research***, **2015**.

Lung, M. Y., Chang, Y. C., 2011. Antioxidant properties of the edible basidiomycete *Armillaria mellea* in submerged cultures. ***International Journal of Molecular Sciences***, **12** (10): 6367-6384.

Madić, V., Petrović, A., Jušković, M., Jugović, D., Djordjević, L., Stojanović, G., Vasiljević, P., 2021. Polyherbal mixture ameliorates hyperglycemia, hyperlipidemia and histopathological changes of pancreas, kidney and liver in a rat model of Type 1 diabetes. ***Journal of Ethnopharmacology***, **265**: 113210.

Maksoud, H.A., Abou Zaid, O. A., Elharrif, M. G., Omnia, M. A., Alaa, E. A., 2020. Selenium cleome droserifolia nanoparticles (Se-CNPs) and it's ameliorative effects in experimentally induced Diabetes mellitus. ***Clinical Nutrition ESPEN***, **40**: 383-391.

Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K., Margis Pinheiro, M., 2008. Glutathione peroxidase family–an evolutionary overview. ***The FEBS Journal***, **275** (15): 3959-3970.

Maritim, A. C., Sanders, A., Watkins Iii, J. B., 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. ***Journal of Biochemical and MolecularToxicology***, **17** (1): 24-38.

Masola, B., Oguntibeju, O. O., Oyenihi, A. B., 2018. *Centella asiatica* ameliorates diabetes-induced stress in rat tissues via influences on antioxidants and inflammatory cytokines. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **101**: 447-457.

Mazières, J., Brugger, W., Cappuzzo, F., Middel, P., Frosch, A., Bara, I., Klughammer, B., 2013. Evaluation of EGFR protein expression by immunohistochemistry using H-score and the magnification rule: Re-analysis of the SATURN study. ***Lung Cancer***, **82** (2): 231-237.

McAuley, K. A., Williams, S. M., Mann, J. I., Walker, R. J., Lewis-Barned, N. J., Temple, L. A., Duncan, A. W., 2001. Diagnosing insulin resistance in the general population. ***Diabetes Care***, **4** (3): 460-464.

McCord, J. M., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase. anenzymic function for erithrocuprein (hemocuprein). ***J. Biol. Chem.***, **244**: 6049-6055.

McCulloch, D. K., 2016. Initial management of blood glucose in adults with Type 2 Diabetes mellitus. ***Wolters Kluwer***.

McIntyre, H. D., Catalano, P., Zhang, C., Desoye, G., Mathiesen, E. R., Damm, P., 2019. Gestational Diabetes mellitus. ***Nature Reviews Disease Primers***, **5** (1): 1-19.

Mckenna, M. C., Hopkins, I. B., Lindauer, S. L., Bamford, P., 2006. Aspartate aminotransferase in synaptic and nonsynaptic mitochondria: differential effect of compounds that influence transient hetero-enzyme complex (metabolon) formation. ***Neurochem Int***, **48**: 629-636.

Medhekar, S. K., Jadhav, T. P., Sasane, V. S., Shende, V. S., Aloorkar, N. H., Chincholkar, A. B., Kulkarni, A. S., 2017. Protective effect of tritone (livosone) on oxidative DNA damage and its hepatoprotective potential against various hepatotoxic agent in wistar rats. ***Experimental and Toxicologic Pathology***, **69** (3): 153-161.

Meister, A., Anderson, M. E., 1983. Glutathione. ***Ann. Rev. Biochem.***, **52**: 711-760.

Mercan, S., Eren, B., Dinç, N., 2017. Investigation of curcumin's antioxidant effect on pesticide chlorpyrifos caused damage in rat (Wistar albino) liver. ***Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi***, **32** (1): 132-138.

Mills, G. C., 1957. Hemoglobin catabolism. I. glutathione peoxidase, an erythrocyte enyzme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. ***J. Biol. Chem.***, **229**: 189.

Mithieux, G., Rajas, F., Gautier-Stein, A., 2004. A novel role for glucose 6-phosphatase in the small intestine in the control of glucose homeostasis. ***J Biol Chem.***, **279**: 44231–44234.

Mohamed, J., Nafizah, A. N., Zariyantey, A. H., Budin, S. B., 2016. Mechanisms of diabetes-induced liver damage: The role of oxidative stress and inflammation. ***Sultan Qaboos University Medical Journal***, **16** (2): e132.

Mohammed, A., Koorbanally, N. A., İslam, Md. S., 20016. Anti-diabetic effect of *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae) fruit acetone fraction in a Type 2 diabetes model of rats. ***Journal of Ethnopharmacology***, **180**: 131-139.

Money, N. P., 2016. Are mushrooms medicinal? ***Fungal Biology***, 449-453.

Mostafavinia, A., Amini, A., Ghorishi, S. K., Pouriran, R., Bayat, M., 2016. The effects of dosage and the routes of administrations of streptozotocin and alloxan on induction rate of typel Diabetes mellitus and mortality rate in rats. ***Laboratory Animal Research***, **32** (3): 160-165.

Mueckler, M., Thorens, B., 2013. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. ***Molecular Aspects of Medicine***, **34 (2-3)**: 121-138.

Muszyńska, B., Sulkowska-Ziaja, K., Wolkowska, M., Ekiert, H., 2011. Chemical, pharmacological, and biological characterization of the culinary-medicinal honey mushroom, *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.(Agaricomycetideae): a review. ***International Journal of Medicinal Mushrooms***, **13** (2): 167-175.

Muszyńska, B., Sułkowska-Ziaja, K., Ekiert, H., 2013. Phenolic acids in selected edible basidiomycota species: *Armillaria mellea*, *Boletus badius*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus* and *Pleurotus ostreatus*. ***Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus***, **12**: 107-116.

Nilsson, L. M., Zhang, L., Bondar, A., Svensson, D., Wernerson, A., Brismar, H., Aperia, A., 2019. Prompt apoptotic response to high glucose in SGLT-expressing renal cells. ***American Journal of Physiology-Renal Physiology***, **316** (5): 1078-1089.

Ningsih, I. Y., Sofyan, M. D., Prabandari, T., Hidayat, M. A., 2020. Antioxidant and α-glucosidase inhibitory activities of four types of *Chrysophyllum cainito* L. fruit. ***FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences***, **45** (2): 105-115.

Nisha, M., Vinod, B. N., Sunil, C., 2018. Evaluation of *Boerhavia erecta* L. for potential antidiabetic and antihyperlipidemic activities in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. ***Future Journal of Pharmaceutical Sciences***, **4** (2): 150-155.

Nitta, Y., Muraoka-Hirayama, S., Sakurai, K., 2020. Catalase is required for peroxisome maintenance during adipogenesis. ***Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids***, **1865** (8): 158726.

Nna, V. U., Bakar, A. B. A., Lazin, M. R. M. L. M., Mohamed, M., 2018. Antioxidant, anti-inflammatory and synergistic anti-hyperglycemic effects of Malaysian propolis and metformin in streptozotocin–induced diabetic rats. ***Food and Chemical Toxicology***, **120**: 305-320.

Nojehdehi, S., Soudi, S., Hesampour, A., Rasouli, S., Soleimani, M., Hashemi, S. M., 2018. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cell–derived exosomes on experimental Type-1 autoimmune diabetes. ***Journal of Cellular Biochemistry***, **119** (11): 9433-9443.

Nozik-Grayck, E., Suliman, H. B., Piantadosi, C. A., 2005. Extracellular superoxide dismutase. ***The İnternational Journal of Biochemistry & Cell Biology***, **37** (12): 2466-2471.

Oguntibeju, O. O., 2019. Type 2 Diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: Examining the links. ***International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology***, **11** (3): 45.

Okuyucu, A., Bedir, A., Özmen, Z., 2011. Ratlarda roziglitazon'un telomer dinamiğine etkisinin moleküler yöntemlerle araştırılması. ***Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi***, **28** (4): 162-167.

Omolaoye, T. S., Skosana, B. T., du Plessis, S. S., 2018. Diabetes mellitus-induction: Effect of different streptozotocin doses on male reproductive parameters. ***Acta Histochemica***, **120** (2): 103-109.

Osorio, H., Coronel, I., Arellano, A., Franco, M., Escalante, B., Bautista, R., 2012. Ursodeoxycholic acid decreases sodium-glucose cotransporter (SGLT2) expression and oxidative stress in the kidney of diabetic rats. ***Diabetes Research and Clinical Practice***, **97** (2): 276-282.

Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. ***Journal of Clinical and Experimental Investigations***, **6** (3): 331-336.

Paglia, D. E., Valentine, W. N., 1967. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. ***J. Lab. Clin. Med.***, **70**: 158.

Pandya, D., Nagrajappa, A. K., Ravi, K. S., 2016. Assessment and correlation of urea and creatinine levels in saliva and serum of patients with chronic kidney disease, diabetes and hypertension–a research study. ***Journal of Clinical and Diagnostic Research (JCDR)***, **10** (10): 58-62.

Patel, D. P., Pauly, G. T., Tada, T., Parker, A. L., Toulabi, L., Kanke, Y., Harris, C. C., 2020. Improved detection and precise relative quantification of the urinary cancer metabolite biomarkers–creatine riboside, creatinine riboside, creatine and creatinine by UPLC-ESI-MS/MS: Application to the NCI-Maryland cohort population controls and lung cancer cases. ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, **191**: 113596.

Petersen, M. C., Shulman, G. I., 2018. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. ***Physiological Rreviews***, **98** (4): 2133-2223.

Peterson, B., Weyers, M., Steenekamp, J. H., Steyn, J. D., Gouws, C., Hamman, J. H., 2019. Drug bioavailability enhancing agents of natural origin (bioenhancers) that modulate drug membrane permeation and pre-systemic metabolism. ***Pharmaceutics***, **11** (1): 33.

Pimentel, D., Haeussler, D. J., Matsui, R., Burgoyne, J. R., Cohen, R. A., Bachschmid, M. M., 2012. Regulation of cell physiology and pathology by protein S-glutathionylation: lessons learned from the cardiovascular system. ***Antioxidants & Redox Signaling***, **16** (6): 524-542.

Qi, S. S., Shao, M. L., Ze, S., Zheng, H. X., 2021. Salidroside from *Rhodiola rosea* L. attenuates diabetic nephropathy in STZ induced diabetic rats via anti-oxidative stress, anti-inflammation, and inhibiting TGF-β1/Smad pathway. ***Journal of Functional Foods***, **77**: 104329.

Qiao, Y. C., Chen, Y. L., Pan, Y. H., Tian, F., Xu, Y., Zhang, X. X., Zhao, H. L., 2017. The change of serum tumor necrosis factor alpha in patients with Type 1 Diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. ***PloS One***, **12** (4): e0176157.

Rainis, T., Maor, I., Lanir, A., Shnizer, S., Lavy, A., 2007. Enhanced oxidative stress and leucocyte activation in neoplastic tissues of the colon. ***Digestive Diseases and Sciences***, **52** (2): 526-530.

Rashid, U., Khan, M. R., Sajid, M., 2019. Antioxidant, anti-inflammatory and hypoglycemic effects of *Fagonia olivieri* DC on STZ-nicotinamide induced diabetic rats-in vivo and in vitro study. ***Journal of Ethnopharmacology***, **242**: 112038.

Raygor, V., Abbasi, F., Lazzeroni, L. C., Kim, S., Ingelsson, E., Reaven, G. M., Knowles, J. W., 2019. Impact of race/ethnicity on insulin resistance and hypertriglyceridaemia. ***Diabetes and Vascular Disease Research***, **16** (2): 153-159.

Rayner, H. C., Thomas, M. E., Milford, D. V., 2020. Kidney anatomy and physiology: The basis of clinical nephrology. ***Understanding Kidney Diseases***, 1-9.

Reniere, M. L., Whiteley, A. T., Hamilton, K. L., John, S. M., Lauer, P., Brennan, R. G., Portnoy, D. A., 2015. Glutathione activates virulence gene expression of an intracellular pathogen. ***Nature***, **517** (7533): 170-173.

Rezaei, S., Ashkar, F., Koohpeyma, F., Mahmoodi, M., Gholamalizadeh, M., Mazloom, Z., Doaei, S., 2020. Hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* improved blood glucose, liver enzymes and lipid profile compared to metformin in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Lipids in Health and Disease***, **19**: 1-7.

Rizzi, R., Caroli, A., Bolla, P., Acciaioli, A., Pagnacco, G., 1988. Variability of reduce glutathione levels in massese ewes and its effect on daily milk production. ***J. Dairy Research***, **55**: 345-353.

Rodrigues, K. F., Pietrani, N. T., Bosco, A. A., Campos, F. M. F., Sandrim, V. C., Gomes, K. B., 2017. IL-6, TNF-α, and IL-10 levels/polymorphisms and their association with Type 2 Diabetes mellitus and obesity in Brazilian individuals. ***Archives of Endocrinology and Metabolism***, **61** (5): 438-446.

Rosenson, R. S., Davidson, M. H., Hirsh, B. J., Kathiresan, S., Gaudet, D., 2014. Genetics and causality of triglyceride-rich lipoproteins in atherosclerotic cardiovascular disease. ***Journal of the American College of Cardiology***, **64** (23): 2525-2540.

Sadeghi, A., Esfandiary, E., Hami, J., Khanahmad, H., Hejazi, Z., Mardani, M., Razavi, S., 2018. The effects of maternal diabetes and insulin treatment on neurogenesis in the developing hippocampus of male rats. ***J. Chem. Neuroanat***., **91**: 27–34.

Saha, M. R., Dey, P., Sarkar, I., De Sarker, D., Haldar, B., Chaudhuri, T. K., Sen, A., 2018. *Acacia nilotica* leaf improves insulin resistance and hyperglycemia associated acute hepatic injury and nephrotoxicity by improving systemic antioxidant status in diabetic mice. ***Journal of Ethnopharmacology***, **210:** 275-286.

Salmanoğlu, M., 2019. Tip 2 diyabetin oral antidiyabetik ilaçlarla tedavisi. ***Klinik Tıp Bilimleri***, **7** (3): 20-23.

Samaha, M. M., Said, E., Salem, H. A., 2019. Nilotinib enhances β-islets integrity and secretory functions in a rat model of STZ-induced Diabetes mellitus. ***European Journal of Pharmacology***, **860**: 172569.

Samarakoon, D. N. A. W., Uluwaduge, D. I., Siriwardhene, M. A., 2020. Mechanisms of action of Sri Lankan herbal medicines used in the treatment of diabetes: A review. ***Journal of İntegrative Medicine***, **18** (1): 14-20.

Samarghandian, S., Azimi-Nezhad, M., Farkhondeh, T., 2016. Crocin attenuate tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6) in streptozotocin-induced diabetic rat aorta. ***Cytokine***, **88**: 20-28.

Samarghandian, S., Azimi-Nezhad, M., Farkhondeh, T., 2017. Immunomodulatory and antioxidant effects of saffron aqueous extract (*Crocus sativus* L.) on streptozotocin-induced diabetes in rats. ***Indian Heart Journal***, ***69*** (2): 151-159.

Sathasivampillai, S. V., Rajamanoharan, P. R., Munday, M., Heinrich, M., 2017. Plants used to treat diabetes in Sri Lankan Siddha Medicine–An ethnopharmacological review of historical and modern sources. ***Journal of Ethnopharmacology***, **198**: 531-599.

Seedevi, P., Ganesan, A. R., Moovendhan, M., Mohan, K., Sivasankar, P., Loganathan, S., Shanmugam, A., 2020. Anti-diabetic activity of crude polysaccharide and

rhamnose-enriched polysaccharide from *G. lithophila* on Streptozotocin (STZ)-induced in Wistar rats. ***Scientific Reports***, **10** (1): 1-12.

Semotiuk, A. J., Hernández-Romano, E. F., Colunga-GarcíaMarín, P., Salazar-Olivo, L. A., Ezcurra, E., 2020. The mechanisms of the myth: *Ibervillea sonorae* inhibits α-glucosidase and stimulates the secretion of insulin in vitro. ***Journal of Herbal Medicine***, **23**: 100354.

Seymen, C. M., Ilgaz, C., Erdogan, D., Elmas, C., Sağlam, A. S. Y., Elmazoglu, Z., Kaplanoglu, G. T., 2019. Melatonin modulates NMDA-receptor 2B/Calpain-1/Caspase-12 pathways in rat brain after long time exposure to GSM radiation. ***Turk Neurosurg***, **29** (6): 887-900.

Shahwan, M. J., Khattab, A. H., Khattab, M. H., Jairoun, A. A., 2019. Association between abnormal serum hepatic enzymes, lipid levels and glycemic control in patients with Type 2 Diabetes mellitus. ***Obesity Medicine***, 100137.

Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., Dowd, C. A., 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. ***Biochemical Journal***, **360** (1): 1-16.

Shi, G. J., Li, Y., Cao, Q. H., Wu, H. X., Tang, X. Y., Gao, X. H., Yang, Y., 2019. In vitro and in vivo evidence that quercetin protects against diabetes and its complications: A systematic review of the literature. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **109**: 1085-1099.

Sies, H., Berndt, C., Jones, D. P., 2017. Oxidative stress. ***Annual Review of Biochemistry***, **86**: 715-748.

Singh, B., Kumar, A., Singh, H., Kaur, S., Kaur, S., Singh Buttar, H. Singh, B., 2020. Zingerone produces antidiabetic effects and attenuates diabetic nephropathy by reducing oxidative stress and overexpression of NF-κB, TNF-α, and COX-2 proteins in rats. ***Journal of Functional Foods***, **74**: 104199.

Singla, K., Singh, R., 2020. Nephroprotective effect of *Curculigo orchiodies* in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic nephropathy in Wistar rats. ***Journal of Ayurveda and Integrative Medicine***, **11** (4): 399-404.

Sobeh, M., Mahmoud, M. F., Abdelfattah, M. A., El-Beshbishy, H. A., El-Shazly, A. M., Wink, M., 2017. Hepatoprotective and hypoglycemic effects of a tannin rich extract from *Ximenia americana* var. caffra root. ***Phytomedicine,*** **33**: 36-42.

Sumner, J. B., Dounce A. L., 1937. Crystalline catalase. ***Science***, **85**: 366-367.

Swain, S. K., Chandra Dash, U., Kanhar, S., Sahoo, A. K., 2019. Ameliorative effects of *Hydrolea zeylanica* in streptozotocin-induced oxidative stress and metabolic changes in diabetic rats. ***Journal of Ethnopharmacology***, 112257.

Şenyiğit, A., Kanat, M., 2017. Tip 2 diyabette fizyopatolojik tedavi yaklaşımı ve pioglitazonun yeri. ***Anatolian Clinic the Journal of Medical Sciences***, **22** (3): 220-223.

Tahrani, A. A., Barnett, A. H., Bailey, C. J., 2013. SGLT inhibitors in management of diabetes. ***The Lancet Diabetes & Endocrinology***, **1** (2): 140-151.

Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W. P. P., Sulaiman Rahman, H., 2018. Antioxidant and oxidative stress: a mutual interplay in age-related diseases. ***Frontiers in Pharmacology***, **9**: 1162.

Taskinen, MR., Boren J., 2015. New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in Type 2 diabetes. ***Atherosclerosis***, **239**: 483–95.

Tawfik, M. K., 2012. Renoprotective activity of telmisartan versus pioglitazone on ischemia/reperfusion induced renal damage in diabetic rats. ***Eur Rev Med Pharmacol Sci***, **16** (5): 600-9.

Tehrani, H. S., Moosavi-Movahedi, A. A., 2018. Catalase and its mysteries. ***Progress in Biophysics and Molecular Biology***, **140**: 5-12.

Thakur, P., Kumar, A., Kumar, A., 2018. Targeting oxidative stress through antioxidants in Diabetes mellitus. ***Journal of Drug Targeting***, **26** (9): 766-776.

Thorens, B., 2015. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. ***Diabetologia***, **58** (2): 221-232.

Tie, F., Li, G., Hu, N., Li, J., Wang, Z., Wang, H., 2020. Oligostilbenes extracts from *Iris lactea* Pall. var. chinensis (Fisch.) Koidz improve lipid metabolism in HFD/STZ-induced diabetic mice and inhibit adipogenesis in 3T3-L1 cells. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **131**: 110800.

Tilg, H., Moschen, A. R., 2008. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. ***Molecular Medicine***, **14** (3-4): 222-231.

Umanath, K., Lewis, J. B., 2018. Update on diabetic nephropathy: Core curriculum 2018. ***American Journal of Kidney Diseases***, **71** (6): 884-895.

Vigneri, R., Goldfine, I. D., Frittitta, L. J. J. O. E. I., 2016. Insulin, insulin receptors, and cancer. ***Journal of Endocrinological İnvestigation***, **39** (12): 1365-1376.

Wang, Q., Wu, X., Shi, F., Liu, Y., 2019. Comparison of antidiabetic effects of saponins and polysaccharides from *Momordica charantia* L. in STZ-induced type 2 diabetic mice. ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, **109**: 744-750.

Wang, L., Shang, Q., Guo, W., Wu, X., Wu, L., Wu, L., Chen, T., 2020. Evaluation of the hypoglycemic effect of probiotics via directly consuming glucose in intestines of STZ-induced diabetic mice and glucose water-induced diabetic mice. ***Journal of Functional Foods***, **64**: 103614.

Wen, W., Lin, Y., Ti, Z., 2019. Antidiabetic, antihyperlipidemic, antioxidant, anti-inflammatory activities of ethanolic seed extract of *Annona reticulata* L. in streptozotocin induced diabetic rats. ***Frontiers in Endocrinology***, **10**: 716.

Williams, M. D., Nadler, J. L., 2007. Inflammatory mechanisms of diabetic complications. ***Current Diabetes Rreports***, **7** (3): 242-248.

Wittrisch, S., Klöting, N., Mörl, K., Chakaroun, R., Blüher, M., Beck-Sickinger, A. G., 2020. NPY1R-targeted peptide-mediated delivery of a dual PPARα/γ agonist to adipocytes enhances adipogenesis and prevents diabetes progression. ***Molecular Metabolism***, **31**: 163-180.

Wu, J., Zhou, J., Lang, Y., Yao, L., Xu, H., Shi, H., Xu, S., 2012. A polysaccharide from *Armillaria mellea* exhibits strong in vitro anticancer activity via apoptosis-involved mechanisms. ***International Journal of Biological Macromolecules***, **51** (4): 663-667.

Wu, Q. M., Ni, H. X., Lu, X., 2016. Changes of adipocytokine expression after diabetic rats received sitagliptin and the molecular mechanism. ***Asian Pacific Journal of Tropical Medicine***, **9** (9): 893-897.

Wu, G., Bai, Z., Wan, Y., Shi, H., Huang, X., Nie, S., 2020. Antidiabetic effects of polysaccharide from azuki bean (*Vigna angularis*) in type 2 diabetic rats via insulin/PI3K/AKT signaling pathway. ***Food Hydrocolloids***, **101:** 105456.

Wu, W. T., Hsu, T. H., Lo, H. C., 2021. Antihyperglycemic and antioxidant activities of submerged culture mycelia and broth of caterpillar mushroom *Cordyceps militaris*

(Ascomycetes) in diabetic rats. ***International Journal of Medicinal Mushrooms***, **23** (1): 67-77.

Xia, E., Rao, G., Remmen, H. V., Heydari, A. R., Richardson, A., 1994. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male fischer 344 rats are altered by food restriction. ***J. Nutr.***, **125**: 195-201.

Xu, Z., Fu, L., Feng, S., Yuan, M., Huang, Y., Liao, J., Ding, C., 2019. Chemical composition, antioxidant and antihyperglycemic activities of the wild *Lactarius deliciosus* from China***. Molecules***, **24** (7): 1357.

Xue, J., Ding, W., Liu, Y., 2010. Anti-diabetic effects of emodin involved in the activation of PPARγ on high-fat diet-fed and low dose of streptozotocin-induced diabetic mice. ***Fitoterapia***, **81** (3): 173-177.

Yalçın, A., Çetin, M., 2001. Plazma lipoproteinleri ve klinik önemi. ***J Fac Vet Med***, **20**: 123-129.

Yalçın, T., Rakıcıoğlu, N., 2018. Diyetsel etmenler, Tip 2 diyabet ve İnflamasyon. ***Sakarya Tıp Dergisi***, **8** (4): 686-694.

Yalçınkaya, Z., Turan, H., Demir, H., 2017. Diabet hastalığının sitokinlerle ilişkisi. ***Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Dergisi (IBAD)***, 449-451

Yang, F., Li, B., Dong, X., Cui, W., Luo, P., 2017. The beneficial effects of zinc on diabetes-induced kidney damage in murine rodent model of type 1 Diabetes mellitus. ***Journal of Trace Elements in Medicine and Biology***, **42**: 1-10.

Yang, S., Meng, Y., Yan, J., Wang, N., Xue, Z., Zhang, H., Fan, Y., 2019a. Polysaccharide-enriched fraction from *Amillariella mellea* fruiting body improves insulin resistance. ***Molecules***, **24** (1): 46.

Yang, S., Yan, J., Yang, L., Meng, Y., Wang, N., He, C., Zhou, Y., 2019b. Alkali-soluble polysaccharides from mushroom fruiting bodies improve insulin resistance. ***International Journal of Biological Macromolecules***, **126**: 466-474.

Yeğin, S. Ç., Mert, N., 2013. Deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanlarda HbA1c, MDA, GSH-Px Ve SOD miktarlarının Tayini. ***Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi***, **24** (2): 51-54.

Yıldırım, S., 2017. Ratlarda karbon tetraklorür ile İndüklenen karaciğer toksikasyonu üzerine resveratrolün koruyucu etkisinin histopatolojik ve TUNEL metodu ile araştırılması. ***Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi***, **12** (2): 178-186.

Yılmaz, M. İ., 2014. Peroksizom proliferatör-aktive reseptörler: Kardiyo-renal sisteme etkileri. ***31. Ulusal Nefroloji, Hipertansiyon, Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi***. 22-26 Ekim 2014, Antalya.

Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y., Kang, W., 2014. α-Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. ***Food Science and Human Wellness***, **3** (3-4): 136-174.

Zavastin, D. E., Bujor, A., Tuchıluş, C., Mircea, C. G., Gherman, S. P., Aprotosoaie, A. C., Miron, A., 2016. Studies on antioxidant, antihyperglycemic and antimicrobial effects of edible mushrooms *Boletus edulıs* And *Cantharellus cıbarıus*. ***Journal of Plant Development***, **23**: 87-95.

Zhang, H., Zhu, C., Sun, Z., Yan, X., Wang, H., Xu, H., Zhang, Y., 2019. Linderane protects pancreatic β cells from streptozotocin (STZ)-induced oxidative damage. ***Life Sciences***, **233**: 116732.

Zhang, J., Zhou, L., Cui, L., Liu, Z., Wei, J., Kang, W., 2020. Antioxidant and α-glucosidase inhibitiory activity of *Cercis chinensis* flowers. ***Food Science and Human Wellness***, **9** (4): 313-319.

Zhu, D., Zhang, X., Niu, Y., Diao, Z., Ren, B., Li, X., Liu, X., 2017. Cichoric acid improved hyperglycaemia and restored muscle injury via activating antioxidant response in MLD-STZ-induced diabetic mice. ***Food and Chemical Toxicology***, **10**: 138-149.

ÖZ GEÇMİŞ

Derya KARTAL, ilk ve orta öğretimini Malatya'da tamamladı. 2003 yılında Malatya Atatürk Sağlık Meslek Lisesi'nden mezun oldu. 2005 yılında üniversite eğitimine Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuar Bölümü'nde başlayıp buradan 2007 yılında mezun oldu. 2009 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'e başladı. Bu bölümden 2012 yılında mezun olarak aynı yıl Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. Yüksek lisans öğrenimini 2016 yılında tamamlayarak aynı yıl Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimine başladı. Halen bir kamu kuruluşunda biyolog olarak görev yapmaktadır.

T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORİJİNALLİK RAPORU

Tarih: 21/04/2021

Tez Başlığı: Streptozotosin (STZ) İle Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda *Armillaria mellea* (Bal Mantarı) Ekstraktının Antidiyabetik, Antihiperlipidemik ve Antioksidatif Özelliklerinin Araştırılması

Yukarıda başlığı belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 99 sayfalık kısmına ilişkin, 21/04/2021 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Tutnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 18 (on sekiz) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Derya KARTAL

Öğrenci No: 169102009

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Doktora

Statüsü: Y. Lisans Doktora **X**

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR

Doç. Dr. Necati ÖZOK

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR

(Unvan, Ad Soyad, İmza)