



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

[Doktora Tezi]

**STREPTOZOTOSİN İLE DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA SİLİBİNİN'İN ANTİDİYABETİK VE ENDOTEL
DİSFONKSİYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Esra ÜN ARSLAN
ORCID: 0000-0001-7675-9011

Danışman
Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN
ORCID: 0000-0001-6432-5822

İkinci Danışman
Prof. Dr. Burak Cem SONER
ORCID: 0000-0002-3712-3210

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 201418008 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Konya – 2023



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübelerinden yararlandığım, içtenliği ve rehberliği ile daima saygı duyduğum, üzerimde büyük emeği olan kıymetli danışmanım Prof. Dr. Sayın Ayşe Saide ŞAHİN'e,

Araştırma kültürünü öğrendiğim ve her zaman ufkumu açan, sınırlarımı zorlamamı sağlayan, yol gösterici danışmanım Prof. Dr. Burak Cem SONER'e,

Eğitimimize verdikleri katkılar için Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK, Prof. Dr. Salim Yalçın İNAN ve Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN hocalarıma,

Çalışmada verdiği desteklerden dolayı Prof. Dr. Hasan ESEN'e

İstatiksel analize verdikleri katkılar için Doç. Dr. Lütfi Saltuk DEMİR ve Dr. Öğr. Üyesi Sinan YILMAZ hocalarıma,

KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi hocalarıma ve çalışanlarına,

Teze katkıları ve değerli destekleri için Dr. Öğr. Üyesi Esra BÜYÜK GEZER'e,

En zorlandığım anlarda bile verdiği motivasyon ile yola devam ettiğim, bu tezde büyük emeği olan değerli dostum Ecz. Ayten DEMİRCİ'ye,

Daima desteklerini hissettiğim annem, babam ve kardeşlerime,

Ders çalışırken, doktora yeterlilik sınavına hazırlanırken, gece yarısına kadar deney yaparken ve tez yazarken... bu uzun yolda, çok stresli olduğum zamanlarda dahi işlerimi kolaylaştırmak için çabalayan eşim Batuhan Saygın ARSLAN'a,

Bana verdiği mutluluk ve enerji için oğlum Doğuhan'a,

İçtenlikle teşekkür ederim...

Esra ÜN ARSLAN
Mayıs 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TEZ ONAY SAYFASI.....	vi
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	vii
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.1.1. Diyabetin epidemiyolojisi.....	3
2.1.2. Diyabet tanı kriterleri.....	3
2.1.3. Diyabet sınıflandırması.....	4
2.1.4. Diyabet tedavisi	8
2.1.5. Deneysel diyabet modelleri	10
2.2. Diyabetin Komplikasyonları	11
2.2.1. Mikrovasküler komplikasyonlar	12
2.2.2. Makrovasküler komplikasyonlar	13
2.3. Endotel	14
2.3.1. Nitrik oksit	15
2.3.2. Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1)	15
2.3.3. Endotel disfonksiyon	16
2.3.4. Diyabet ve endotel disfonksiyon ilişkisi	16
2.4. Pankreas	18
2.4.1. İnsülin	19
2.4.2. Pankreastan insülin salgılanması	20
2.5. <i>Silybum marianum</i>	21
2.5.1. Silibinin (Silibin)	22
2.5.2. Silibinin'in farmakolojik etkileri	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Deney Hayvanları.....	27
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	27

3.3. Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	28
3.4. Silibinin Uygulanması.....	29
3.5. Canlı Ağırlık Ölçümü.....	29
3.6. Kan Glikoz Düzeylerinin Ölçülmesi.....	29
3.7. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması.....	30
3.8. İnsülin ve HbA _{1c} Değerlerinin Ölçümü.....	30
3.9. İmmünohistokimyasal Analizler.....	30
3.10. eNOS ve VCAM-1 Gen Ekspresyonlarının qRT-PCR ile Analizi.....	31
3.11. İzole Organ Banyosu Deneyleri.....	33
3.12. Verilerin Analizi.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Canlı Ağırlık Ölçümlerine Ait Bulgular.....	35
4.2. Kan Glikoz Düzeyi Ölçümleri.....	36
4.3. İnsülin Bulguları.....	37
4.4. HbA _{1c} Bulguları.....	38
4.5. İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları.....	39
4.6. eNOS ve VCAM-1 Gen Ekspresyonlarına Ait Bulgular.....	43
4.7. İzole Organ Banyosundan Elde Edilen E _{max} ve pD ₂ Değerlerine Ait Bulgular.....	44
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
7. KAYNAKLAR.....	55
8. EKLER.....	67

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **Esra Ün Arslan**'ın "**Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Silibinin'in Antidiyabetik ve Endotel Disfonksiyonu Üzerine Etkileri**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / 29/05/2023

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Neyhan ERGENE Ankara Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Hatice Gül DURSUN Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Esra BÜYÜK GEZER Mustafa Kemal Üni. Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 07/06/2023 tarih ve 13/05 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL

Enstitü Müdürü

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Silibinin'in Antidiyabetik ve Endotel Disfonksiyonu Üzerine Etkileri başlıklı tez çalışmamın toplam **49** sayfalık kısmına ilişkin, 15/05/2023 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%3** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Önsöz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%30) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

15/05/2023

Esra ÜN ARSLAN

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

15/05/2023

Esra ÜN ARSLAN

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

α : alfa

β : beta

γ : gama

κ : kappa

%: yüzde

$^{\circ}\text{C}$: santigrat derece

cm: santimetre

dL: desilitre

g: gram

L: litre

M: molar

mL: mililitre

mg: miligram

kg: kilogram

\$: dolar

pH: asitlik derecesi

KISALTMALAR

ADA: Amerikan Diyabet Derneği

Ang II: Anjiyotensin II

ATP: Adenozin trifosfat

DDP-4: Dipeptidil peptitaz-4

DM: Diabetes mellitus

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz

GDM: Gestasyonel diabetes mellitus

GLP-1: Glukagon benzeri peptit-1

GLUT-2: Glikoz transportörü-2

HbA_{1c}: Hemoglobin A_{1c}

ICAM-1: Hücreler arası adezyon molekülü-1

IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu

i.p.: intraperitoneal

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

K_{ATP}: ATP bağımlı potasyum kanalı

KCl: Potasyum klorür

KHS: Krebs-Henseleit solüsyonu

MCP-1: Monosit kemotatik faktör-1

NAD⁺: Nikotinamid adenin dinükleotit

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

NASH: Non-alkolik steatohepatit

nNOS: Nöral nitrik oksit sentaz

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

NPH: nötral protamin Hagedorn

OGTT: Oral glikoz tolerans testi

PPAR γ : Peroksizom proliferatörünü aktive eden reseptör-gama

PgH₂: Prostaglandin H₂

PgI₂: Prostatiklin

SNP: Sodyum nitroprussid

STZ: Streptozotosin

T1DM: Tip I diabetes mellitus

T2DM: Tip II diabetes mellitus

PARP: Poli ADP-riboz polimeraz

PAI-1: Plazminojen aktivator inhibitörü-1

p.o.: Per os (oral)

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. ADA diyabet tanı kriterleri	4
Tablo 2.2. T2DM tedavisinde kullanılan oral antidiyabetikler	9
Tablo 2.3. Vasküler endotelden salıverilen maddeler ve işlevleri.....	14
Tablo 2.4. Pankreastan salgılanan hormonlar.....	18
Tablo 2.5. İnsülinin temel metabolik olaylar üzerine etkileri.....	19
Tablo 3.1. Deneyde kullanılan sıçanların gruplandırılması.....	28
Tablo 3.2. qRT- PCR analizinde kullanılan primer dizileri	32
Tablo 4.1. Haftalara göre canlı ağırlık değerleri (Ortalama \pm SS)	35
Tablo 4.2. Haftalara göre kan glikoz değerleri (Ortalama \pm SS).....	36
Tablo 4.3. Kan insülin değerleri (Ortalama \pm SS).....	37
Tablo 4.4. HbA _{1c} değerleri (Ortalama \pm SS)	38
Tablo 4.5. Pankreasların boyanma şiddetine göre gruplar arası dağılımı	39
Tablo 4.6. Pankreasların boyanma yaygınlığına göre gruplar arası dağılımı	39
Tablo 4.7. İzole organ banyosundan elde edilen E _{max} değerleri (Ortalama \pm SS).....	45
Tablo 4.8. İzole organ banyosundan elde edilen pD ₂ değerleri (Ortalama \pm SS).....	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Diyabette gerçekleşen bozulmalar sonucu aterogenez gelişimi	17
Şekil 2.2. Pankreas β hücresinden insülin salınımı.....	20
Şekil 2.3. Glikoza bağlı insülin sekresyonunun iki fazlı profili.....	21
Şekil 2.4. <i>Silybum marianum</i> (deve diken) bitkisi.....	22
Şekil 2.5. Silibinin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 3.1. GAPDH'e ait erime eğrisi.....	32
Şekil 3.2. VCAM-1'e ait erime eğrisi	32
Şekil 3.3. eNOS'a ait erime eğrisi.....	33
Şekil 4.1. Grupların kan insülin düzeyleri	37
Şekil 4.2. HbA _{1c} (%) düzeyleri	38
Şekil 4.3. SK grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile +++ (kuvvetli) şiddette ve diffüz (\geq %50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf.....	40
Şekil 4.4. SLB30 grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile +++ (kuvvetli) şiddette ve diffüz (\geq %50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf.....	40
Şekil 4.5. SLB60 grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile +++ (kuvvetli) şiddette ve diffüz (\geq %50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf.....	41
Şekil 4.6. DMK grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile + (zayıf) şiddette ve fokal (<%50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf.....	41
Şekil 4.7. DM+SLB30 grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile ++ (orta) şiddette ve diffüz (\geq %50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf.....	42
Şekil 4.8. DM+SLB60 grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile ++ (orta) şiddette ve diffüz (\geq %50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf.....	42
Şekil 4.9. eNOS gen ekspresyonlarına ait kat değişimleri.....	43
Şekil 4.10. VCAM-1 gen ekspresyonlarına ait kat değişimleri	44
Şekil 4.11. İzole organ banyosundan elde edilen E _{max} düzeyleri.....	45
Şekil 4.12. İzole organ banyosundan elde edilen pD ₂ değerleri	46

ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Farmakoloji Programı
[Doktora Tezi]

STREPTOZOTOSİN İLE DENEYSSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA SİLİBİNİN'İN ANTİDİYABETİK VE ENDOTEL DİSFONKSİYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Esra ÜN ARSLAN

Konya-2023

Diabetes mellitus (DM), insülin sekresyonunda ve/veya etkisinde görülen azalma sonucu ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. DM tedavisindeki ilerlemelere rağmen, terapötik hedeflere ulaşmak her zaman mümkün olmamaktadır. Bu durum hastaların DM tedavisine ek olarak “tamamlayıcı” tıbbi alternatiflere yönelmesine yol açmaktadır. Bitkisel tıbbi ürünleri içeren takviye gıdalar sağlıklı ve DM’li bireyler tarafından yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada sağlıklı ve streptozotosin (STZ) ile deneysel tip I diyabet (T1DM) oluşturulan sıçanlarda *Silybum marianum* bitkisinin aktif bileşenlerden olan silibinin’in antidiyabetik ve endotel disfonksiyonu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada 48 adet 350-440 g ağırlığında 4 aylık Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar sağlıklı kontrol (SK), diyabet kontrol (DMK), SLB30 (silibinin 30 mg/kg), SLB60 (silibinin 60 mg/kg), DM+SLB30 (diyabet + silibinin 30 mg/kg), DM+SLB60 (diyabet + silibinin 60 mg/kg) olmak üzere 6 gruba ayrılmıştır. Deneysel T1DM modeli oluşturmak için DMK, DM+SLB30, DM+SLB60 gruplarına tek doz 50 mg/kg STZ uygulanmış ve STZ uygulamasından 72 saat sonra diyabet modeli doğrulanmıştır. SLB30, SLB60, DM+SLB30, DM+SLB60 grubu sıçanlara 8 hafta boyunca silibinin uygulaması 30 mg/kg/gün ve 60 mg/kg/gün olmak üzere iki farklı dozda gerçekleştirilmiştir. İki haftada bir kan glikoz düzeyi ve canlı ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Sıçanlardan 8. haftanın sonunda anestezi altında aort, pankreas dokuları, kan örnekleri alınmış ve daha sonra sıçanlar kurban edilmiştir. Torasik aort dokularında qRT-PCR ile VCAM-1 ve eNOS gen ekspresyon ölçümlerinin yanı sıra *in vitro* izole organ banyosunda asetilkoline bağlı gevşeme yanıtları incelenmiştir. Pankreas dokuları sıçan insülin antikorunu kullanarak immunohistokimyasal olarak incelenmiştir. Alınan kan örneklerinden HbA_{1c} ve insülin düzeyi ölçümü yapılmıştır.

Silibinin tedavisi STZ ile T1DM oluşturulan sıçanlarda gelişen hiperglisemiyi ve HbA_{1c} düzeylerini azaltmış, kandaki insülin seviyelerini ise artırmıştır. Bunun yanında, silibinin tedavisi alan T1DM’li sıçanların DMK’ya göre pankreas dokularında insülin antikoruyla boyanma şiddeti ve yaygınlığı artmıştır. Ayrıca silibinin eNOS ekspresyonunu arttırmış ve VCAM-1 ekspresyonunu azaltmıştır. eNOS ekspresyonundaki artışla paralel olarak asetilkolin, T1DM’li silibinin tedavi gruplarının aort dokularında DMK’ya göre daha fazla gevşeme oluşturmuştur. Çalışmada yüksek dozda silibinin tedavisi alan sağlıklı sıçanların eNOS ekspresyonlarında artış görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgular silibinin tedavisinin T1DM’de gelişen hiperglisemi, hipoinsülinemi, ağırlık kaybı ve pankreas hasarını iyileştirebileceğini ayrıca eNOS ekspresyonlarını artırarak hem sağlıklı hem T1DM’de endotel disfonksiyon üzerine koruyucu olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Silibinin, diabetes mellitus, tip 1 diyabet, endotel disfonksiyon.

ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences
Department Of Medical Pharmacology
Medical Pharmacology Program
[Doctoral Thesis]

EFFECTS OF SILIBININ ON ANTIDIABETIC AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Esra ÜN ARSLAN

KONYA-2023

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disease characterized by hyperglycemia and results from impaired insulin secretion, insulin action, or both. In spite of progress in the treatment of DM, it's not at all time possible to achieve therapeutic goals. This situation leads patients to turn to "complementary" medical alternatives in addition to DM treatment. Supplementary foods containing herbal medicinal products are widely used by healthy individuals and individuals with DM.

In this study, the effects of silibinin, one of the active components of the *Silybum marianum* plant, on antidiabetic and endothelial dysfunction in healthy and streptozotocin (STZ)-induced experimental type I diabetes (T1DM) rats were investigated.

In this study, 48 male 4-months-old Wistar albino rats weighing 350-440 g were used. Rats were randomly divided into 6 groups: healthy control (SK), diabetes control (DMK), SLB30 (silibinin 30 mg/kg), SLB60 (silibinin 60 mg/kg), DM+SLB30 (diabetes + silibinin 30 mg/kg), DM+SLB60 (diabetes + silibinin 60 mg/kg). To induce experimental T1DM, a single dose of 50 mg/kg STZ was administered to the DMK, DM+SLB30, DM+SLB60 groups, and the diabetes model was confirmed 72 hours after STZ administration. Silibinin was administered to SLB30, SLB60, DM+SLB30, DM+SLB60 groups for 8 weeks at two different doses: 30 mg/kg/day and 60 mg/kg/day. Blood glucose level and body weight measurements were made every two weeks. At the end of the 8th week, aorta, pancreatic tissues, blood samples were taken from the rats under anesthesia and then the rats sacrificed. Besides VCAM-1 and eNOS gene expression measurements by qRT-PCR in thoracic aortic tissues, acetylcholine-induced relaxation responses in isolated organ bath in vitro were investigated. Pancreatic tissues were examined immunohistochemically using rat insulin antibodies. HbA_{1c} and insulin levels were measured from the blood samples taken.

Silibinin treatment decreased hyperglycemia and HbA_{1c} levels, and increased insulin levels in rats with STZ-induced T1DM. In addition, the intensity and prevalence of insulin antibody staining in pancreatic tissues of rats with T1DM treated with silibinin were increased compared to DMK. In addition, silibinin increased eNOS expression and decreased VCAM-1 expression. In parallel with the increase in eNOS expression, acetylcholine caused more relaxation than DMK in the aortic tissues of silibinin treatment groups with T1DM. In the study, healthy rats treated with high doses of silibinin had increased eNOS expressions.

In conclusion, our findings from this study suggest that silibinin treatment can improve hyperglycemia, hypoinsulinemia and pancreatic damage in T1DM. It also shows that by increasing eNOS expressions, it may be protective on endothelial dysfunction in both healthy and T1DM.

Keywords: Silibinin, diabetes mellitus, type 1 diabetes, endothelial dysfunction.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM), pankreasın yeterince insülin üretememesi veya vücudun ürettiği insülini etkili bir şekilde kullanamaması sonucu ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır (World Health Organization, 2023). Uzun süreli hiperglisemi, makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara neden olmaktadır (Fowler, 2011). Tüm dünyada diyabet prevalansının giderek arttığı bilinmektedir. DM ve neden olduğu komplikasyonlar ülkeler, sağlık sistemleri, diyabetli bireyler ve aileleri üzerinde ciddi bir ekonomik yük oluşturmaktadır (IDF, 2021).

Sağlıklı endotelden nitrik oksit (NO), prostasiklin (P_gI₂) ve bradikinin gibi vazodilatör mediyatörlerin yanı sıra endotelin-1 (ET-1), anjiyotensin II (Ang II), prostaglandin H₂ (P_gH₂) ve tromboksan A₂ (TxA₂) gibi vazokonstriktör mediyatörler de salınmaktadır. Endotel hücreleri tarafından salgılanan bu maddeler arasındaki denge, vasküler homeostazın korunmasına yardımcı olmaktadır (Knapp ve ark., 2019). Endotel disfonksiyon, damar endotelinin işleyişinde meydana gelen yapısal ve/veya fonksiyonel bozulmaları ifade etmekte ve diyabetik vasküler hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Hiperglisemi, diyabetli hastalarda endotel disfonksiyona ve endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına neden olan başlıca faktörlerdendir (Hadi ve Al Suwaidi, 2007).

Doğal ürünler, ilaç keşfi için potansiyel kaynak olarak kabul edilmekte ve ilaç araştırma geliştirme programlarında yer almaktadır. DM tedavisinde biguanidler, sülfonilüreler, tiazolidindionlar, α -glukozidaz inhibitörleri gibi birçok oral antidiyabetik ajan ve insülin kullanılmaktadır. DM tedavisinde yaygın şekilde kullanılan biguanid türevi olan metformin ilk kez *Galega officinalis* bitkisindeki galegine isimli bileşik sayesinde keşfedilmiştir (Hundal ve Inzucchi, 2003). Ayrıca α -glukozidaz inhibe edici aktivitesi gösterilen birçok tıbbi bitki bulunmaktadır. Son yıllarda geleneksel bitkisel tıbbi ürünler, daha az advers etki ile diyabetik komplikasyonların önlenmesine ve hipergliseminin düzeltilmesine yardımcı olan potansiyel terapötik ajanlar olarak dikkat çekmektedir (Yin ve ark., 2014).

Silybum marianum, “milk thistle, deve diken” olarak da bilinen kullanımı 2000 yılı öncesine dayanan tıbbi bir bitkidir (Marty, 1999). Halk arasında hepatoprotektif etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca hipoglisemik, antioksidan, antikanser, antipsöriyatik, antiosteoporotik, santral sinir sistemi ve böbrek fonksiyonları üzerine

koruyucu etkileri olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadırdır (Bahmani ve ark., 2015; Rainone, 2005).

Bu tez çalışmasında *Silybum marianum* bitkisinin aktif bileşeni olan silibinin'in antidiyabetik ve endotel disfonksiyon üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu araştırmanın diyabetteki hiperglisemi ve buna bağlı gelişen komplikasyonların önlenmesinde kullanılacak potansiyel ajanların araştırılmasına katkı sağlaması beklenmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

DM, pankreas β hücrelerinden insülin salınımının azalması, hiç üretilmemesi ya da vücudun üretilen insülini etkili bir şekilde kullanamaması gibi sebeplerden kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. Hiperglisemiye karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasındaki bozukluklar da eşlik etmektedir (American Diabetes Association, 2009). DM'nin karakteristik klinik bulguları polidipsi, poliüri, görme bulanıklığı ve kilo kaybıdır. Genellikle semptomlar hafif seyreder ve yavaş ilerler. Kişi tamamen asemptomatik olsa bile, yıllarca devam eden hafif hiperglisemi sebebiyle doku hasarı gelişebilir (Holt ve ark., 2010).

2.1.1. Diyabetin epidemiyolojisi

Tüm dünyada DM görülme sıklığı giderek artmaktadır. DM'nin yetişkinlerde, dünyadaki prevalansı 1980 yılında %4,7 iken 2021 yılında %10,5'e yükselmiştir ve 2045 yılında %12,2'ye ulaşacağı tahmin edilmektedir. Türkiye, Uluslararası Diyabet Federasyonu (International Diabetes Federation, IDF) verilerine göre Avrupa'daki en yüksek DM prevalansına sahip ülkedir. 2021 yılında yayımlanan verilere göre DM'nin Türkiye'deki prevalansı 20-79 yaş yetişkinler arasında %15,9 olarak bildirilmiştir. IDF verilerine göre Türkiye'de 2011 yılında diyabetli hasta sayısı 3,5 milyon iken 2021 yılı itibariyle bu sayı 9 milyona ulaşmıştır. Tüm dünyada artan DM prevalansı küresel sağlık harcamalarında da büyük artışlara neden olmaktadır. Diyabetli yetişkinlerin 2007 yılındaki küresel sağlık harcaması miktarı 232 milyar \$ iken 2021 yılında bu miktar 966 milyar \$'a yükselmiştir (IDF, 2021).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre dünya çapında 422 milyon DM hastası bulunmaktadır. 2019 yılında 1,5 milyon kişi doğrudan DM sebebiyle hayatını kaybetmiştir. Bunun yanında DM'nin neden olduğu kardiyovasküler hastalıklar, kronik böbrek hastalığı gibi komplikasyonlar da dolaylı olarak ölümlere neden olmaktadır (World Health Organization, 2023).

2.1.2. Diyabet tanı kriterleri

Amerikan Diyabet Derneği (ADA, American Diabetes Association) DM tanısı için bazı kriterler belirlemiştir. Tanıda açlık plazma glikozu, hemogloblin A_{1c} (HbA_{1c}) değeri veya Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) kullanılmaktadır (American Diabetes Association, 2021).

DM tanısı için kullanılan kriterler Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. ADA diyabet tanı kriterleri

ADA Diyabet Tanı Kriterleri
AKG (Açlık Kan Glikozu) \geq 126 mg/dL (7,0 mmol/L). (Açlık en az 8 saat boyunca kalori alımı olmamasını ifade eder.)
veya
OGTT sonrası 2. saatte kan glikozu \geq 200 mg/dL (11.1 mmol/L). (OGTT, 75 g susuz glikoz eşdeğeri içeren bir glikoz yükünün suda çözülmüş hali kullanılarak WHO tarafından tarif edilen şekilde yapılmalıdır.)
veya
HbA _{1c} \geq 6,5% (48 mmol/mol). (Test, NGSP sertifikalı ve DCCT testine göre standardize edilmiş bir yöntem kullanılarak bir laboratuvarında gerçekleştirilmelidir.)
veya
Hiperglisemik kriz veya klasik hiperglisemi semptomları gösteren hastada, rastgele bir zamanda ölçülen plazma glikozu \geq 200 mg/dL (11,1 mmol/L) (American Diabetes Association, 2021)

Polidipsi, poliüri, kilo kaybı, tekrarlayan enfeksiyonlar, koma gibi diyabet semptomlarının bariz şekilde bulunduğu durumlarda tek bir kriter tanıyı kesinleştirmek için yeterlidir. Ancak asemptomatik bireylerde konulan tanının daha sonraki bir gün, aynı ya da farklı bir test kullanılarak doğrulanması gerekmektedir (İmamoğlu ve ark., 2015).

Plazma glikoz düzeyleri normalden yüksek olmasına karşın diyabet tanı kriterlerini karşılamıyorsa bu durum “prediyabet” olarak adlandırılmaktadır. Diyabet gibi prediyabet de kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü oluşturmaktadır (Salman ve ark., 2020).

2.1.3. Diyabet sınıflandırması

DM tipleri yıllar içerisinde farklı isimler ile farklı şekillerde tanımlanmıştır. ADA’nın 2021 yılında yayınladığı güncel kılavuza göre DM 4 temel sınıfta incelenmektedir. ADA’nın önerdiği bu sınıflandırma DSÖ tarafından da kullanılmaktadır (American Diabetes Association, 2021; İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy, 2022).

1. Tip I Diyabet
2. Tip II Diyabet
3. Gestasyonel diyabet
4. Bazı hastalık durumlarında spesifik olarak oluşan diyabet

T1DM'nin, genetik olarak duyarlı bireylerde çevresel bir tetikleyicinin sonucu olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Virüsler, etnik köken, annenin yaşı ve kilosu, mikrobiyota, kardeş sayısı, diyet ve coğrafi konum gibi birçok çevresel faktörün T1DM insidansını etkilediği tahmin edilmektedir (Giwa ve ark., 2020).

T1DM histolojik olarak insülitis ve bununla ilişki adacık hücre hasarı ile karakterizedir. T1DM'deki otoimmünite, insülin üreten β hücrelerine özgüdür. Bununla birlikte otoimmüniteyi indüklemekten sorumlu spesifik mekanizmalar henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Haller ve ark., 2005). Otoimmün süreç ile pankreasın adacık hücrelerinde yavaş ve progresif yıkım sonucu insülin sekresyonunun azaldığı bilinmektedir (Abacı ve ark., 2007).

Tip II diyabet

Tip II diyabet (T2DM), pankreas β hücrelerinden insülin sekresyonunda azalma, insülin direnci veya bu iki durumun birlikte görülmesi sonucu görülür. Daha önceleri "insülin bağımlı olmayan diyabet, yetişkin diyabeti" olarak da adlandırılmıştır ve tüm diyabetlilerin yaklaşık %90-95'ini oluşturmaktadır (American Diabetes Association, 2021; DeFronzo ve ark., 2015).

T2DM, genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen multifaktoriyel bir hastalıktır. Hastalıktaki patofizyolojik değişiklikler; β hücre disfonksiyonu, insülin direnci ve kronik inflamasyon olarak sayılabilir. Bu durumlar kan glikoz düzeyinde aşamalı olarak bozulmalara, mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesine yol açmaktadır (DeFronzo ve ark., 2015).

T2DM etiopatogenezinde çeşitli genetik, çevresel ve davranışsal faktörler rol oynamaktadır (Baynest, 2015). T2DM gelişme riski yaş, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği ile artmaktadır. GDM, hipertansiyon, dislipidemi, polikistik over sendromu öyküsü olan kişilerde ve belirli ırksal/etnik alt gruplarda (Afrikalı Amerikalı, Kızılderili, Hispanik/Latin ve Asyalı Amerikalı) daha sık görülmektedir. Genellikle birinci derece akrabalarda güçlü bir genetik yatkınlık (T1DM'den daha fazla) söz konusudur (American Diabetes Association, 2021).

T2DM, çoğunlukla yetişkinlerde görülse de son dönemlerde çocuk ve adolesanlarda görülme sıklığı da artmaya başlamıştır. Hastalar genelde fazla kilolu ya da obezdir. Bu nedenle yaşam tarzı değişikliği, fiziksel aktivitenin artırılması, diyet ve kilo kontrolü önerilmektedir. Hastalığın başlangıcı genelde asemptomatiktir ancak bazı hastalar bulanık görme, el ve ayaklarda uyuşma ve karıncalanma, ayak ağrıları, tekrarlayan mantar enfeksiyonları veya yara iyileşmesinde gecikme ile hastaneye başvurabilmektedir (Salman ve ark., 2020).

Gestasyonel diyabet

Gestasyonel diyabet (GDM), gebelikten önce diyabeti olmayan kişilerde gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde ortaya çıkan ve doğumdan sonra düzelen DM şeklidir (American Diabetes Association, 2021). GDM'nin altında yatan mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte β hücre disfonksiyonu ve insülin direnci söz konusudur (Plows ve ark., 2018). Risk faktörleri olarak annenin ileri yaşta olması, yüksek vücut kitle indeksi, önceki gebelikte GDM öyküsü veya fetal makrozomi, ailede T2DM veya GDM öyküsü, DM prevalansının yüksek olduğu etnik kökene sahip olmak sayılabilir (Farrar ve ark., 2016). GDM prevalansı çok merkezli yapılan bir araştırmada %9 ile %26 arasında, ortalama %18 olarak bulunmuştur (Sacks ve ark., 2012). GDM'nin hem anne hem de bebek için çeşitli komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir (Johns ve ark., 2018).

GDM taraması için iki farklı yol bulunmaktadır. Tanı yöntemi olarak tek aşamalı (75 g glikozlu OGTT) veya iki aşamalı (50 g glikozlu ön tarama testini takiben 100 g glikozlu 3 saatlik OGTT) test kullanılabilir (Salman ve ark., 2020).

Bazı hastalık durumlarında oluşan spesifik diyabet

Bu diyabet türleri arasında monogenik diyabet (yenidoğan diyabeti ve gençlerde görülen T2DM gibi), ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibrozis ve pankreatit gibi), ilaçlar nedeniyle oluşan diyabet (glukokortikoidler) sayılabilir (American Diabetes Association, 2021).

2.1.4. Diyabet tedavisi

T1DM tedavisi

T1DM'de mutlak insülin eksikliği olduğu için tek tedavi seçeneği insülin replasmanıdır. Etki sürelerine göre temel olarak 4 çeşit insülin vardır:

- Hızlı etkili: İnsülin lispro, insülin aspart ve insülin glulisin bu gruba girmektedir. Etki başlangıcı çok hızlı gerçekleşir ve etki süresi kısadır.
- Kısa etkili: Nötral regüler insülin bu gruptadır. Etki hızlı başlar. Nötral regüler insülin intravenöz (i.v.) yolla verilebilen tek insülinidir.
- Orta etkili: İzofan insülin, nötral protamin Hagedorn (NPH) olarak da bilinmektedir, bu gruptadır. NPH insülinin etkisi yaklaşık 2-5 saat içinde başlar ve 4-12 saatlik etki süresine sahiptir.
- Uzun etkili: İnsülin glarjin, insülin detemir bu gruptadır. Etki başlangıcı yavaştır ancak etki süresi uzundur.

(Dökmeci, 2007; Kayaalp, 2012; Rosenfeld ve Loose, 2016).

T2DM tedavisi

T2DM tedavisinde oral antidiyabetikler ve oral antidiyabetiklerin yeterli glisemik kontrolü sağlayamaması durumunda ek olarak insülin kullanılmaktadır. Tedavide sülfonilüreler, meglitinidler, biguanidler, tiazolidindionlar, glukagon benzeri polipeptit-1 agonistleri, dipeptidil peptidaz-4 inhibitörleri, α -glukozidaz inhibitörleri ve safra asidi sekestranlar gibi farklı oral antidiyabetik ilaçlar kullanılmaktadır (Katzung, 2021).

T2DM tedavisinde kullanılan oral antidiyabetik ilaçlar ve etki mekanizmaları Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. T2DM tedavisinde kullanılan oral antidiyabetikler

İlaç Grubu	Etki Mekanizması	İlaç
Sülfonilüre Türevi İlaçlar	<ul style="list-style-type: none">• Pankreas β hücrelerindeki K^+ kanallarını bloke eder ve depolarizasyona yol açarlar. Depolarizasyon sonucu voltaj bağımlı kalsiyum kanalları açılır ve Ca^{2+} hücre içine girer. Sonuçta sentezlenmiş ve veziküller içinde depolanmış olan insülinin salıverilmesini artırır.	<ul style="list-style-type: none">• Glibenklamid• Glipizid• Gliklazid
Meglitinidler	<ul style="list-style-type: none">• Pankreas β hücrelerinde ATP-bağımlı K^+ kanallarını bloke ederek insülin salınımını artırır.• Kanal blokajı ve kanala bağlanma kinetikleri sülfonilürelere farklıdır.	<ul style="list-style-type: none">• Repaglinid• Nateglinid
Biguanidler	<ul style="list-style-type: none">• T2DM’de artmış olan glikoneojenezi azaltarak karaciğerden glikoz çıkışı azaltır. Glikozun periferik dokularda kullanımını artırır.• İnsülin salınımını artırmazlar, periferik insülin duyarlılığını artırır. İnce bağırsaktan glikoz absorpsiyonunu azaltır.	<ul style="list-style-type: none">• Metformin
Tiazolidindionlar	<ul style="list-style-type: none">• İnsülin direncini azaltır ve hedef hücrelerde insülin duyarlılığını artırır. Etki gösterebilmeleri için ortamda insülin bulunmalıdır.• İnsülinin hedef hücrelerinde, özellikle yağ dokusu hücrelerinde bulunan peroksizom proliferatörünü aktive eden reseptör-gama (PPARγ) isimli reseptöre bağlanır.	<ul style="list-style-type: none">• Rosiglitazon• Pioglitazon
Glukagon Benzeri Polipeptit-1 (GLP-1) Agonistleri	<ul style="list-style-type: none">• T2DM’de, postprandiyal GLP salınımı azalmaktadır. Bunun sonucunda glukagon baskılanmasında yetersizlik ve hepatik glikoz çıkışında artış görülmektedir. Bu ilaçlar GLP-1 etkisini artırarak etki gösterirler.• Glikoz aracılı insülin salınımını potansiyalize etme, glukagon salınımını baskılama, mide boşalma hızını yavaşlatma ve iştahı azaltma gibi birçok etkileri vardır.	<ul style="list-style-type: none">• Eksenatid• Liraglutid
Dipeptidil Peptidaz-4 (DPP-4) İnhibitörleri	<ul style="list-style-type: none">• İncretinler insülin salgılatıcı özelliğe sahip, yarılanma ömrü çok kısa hormonlardır; DPP-4 enzimi tarafından hızla parçalanırlar.• Bu ilaçlar GLP-1 ve glikoz-bağımlı insülinotropik peptit (GIP) gibi incretinlerin inaktivasyonunu engeller. Böylece glukagon salınımını inhibe edilirken insülin salgılanmasını artırır.	<ul style="list-style-type: none">• Sitagliptin• Vildagliptin• Saksagliptin
α -glukozidaz inhibitörleri	<ul style="list-style-type: none">• Barsaklarda disakkaritleri parçalayan glikozidaz enzimini inhibe ederek disakkarit absorpsiyonunu azaltır. Nişasta ve disakkaritlerin sindirimini ve emilimini geciktirerek yemek sonrası glikoz dalgalanmalarını azaltır.• Akarboz ve miglitol bağırsak α-glukozidazlarının kompetitif inhibitörleridir.	<ul style="list-style-type: none">• Akarboz• Miglitol• Guar sakızı
Safra asidi sekestranları	<ul style="list-style-type: none">• Safra asidi bağlayıcı özellik gösterir. Etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak farnesoid X reseptörü aktivasyonunda azalma ve enterohepatik dolaşım üzerinden etki gösterdiği düşünülmektedir.	<ul style="list-style-type: none">• Kolesevelam

(Dökmeci, 2007; Katzung, 2021; Kayaalp, 2012; Rosenfeld ve Loose, 2016)

2.1.5. Deneysel diyabet modelleri

Diyabette uygun deneysel modeller, hastalığın patogenezi, komplikasyonlarını, DM risklerini artıran genetik veya çevresel faktörleri anlamak ayrıca terapötik ajanların test edilmesi için gerekli araçlardır (Srinivasan ve Ramarao, 2007). Hayvanlarda deneysel diyabet oluşturmak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.

Cerrahi yolla diyabet oluşturulması

Pankreasın tamamen alınması (pankreatektomi) ile cerrahi olarak gerçekleştirilir. Bu şekilde pankreas β hücre kitlesinde azalma sağlanmaktadır. Hayvanda enfeksiyon gelişme riski, teknik uzmanlık, gerekli cerrahi koşullar, pankreatektomi sonrası yeterli analjezi ve antibiyotik uygulaması gerektirmesi bu metodun kullanımını sınırlamaktadır (Çiçek ve ark., 2018).

Genetik olarak oluşturulan diyabet modelleri

T1DM modeli oluşturmak için non-obez diyabetik fare ve biobreeding sıçan spontan olarak hastalığın geliştiği en yaygın kullanılan hayvanlardır. Çoğunlukla otoimmün diyabeti modellemede kullanılmaktadır (Çiçek ve ark., 2018).

Kimyasal yolla diyabet oluşturulması

Pankreas Langerhans adacıklarında alfa ve delta hücrelerine zarar vermeden seçici olarak β hücre harabiyetine neden olan streptozotosin (STZ) ve alloksan kimyasal yolla DM modeli oluşturmak için en sık kullanılan iki ajandır (Srinivasan ve Ramarao, 2007).

STZ, *Streptomyces achromogenes* tarafından sentezlenen geniş spektrumlu bir antibiyotik ve antineoplastiktir (Rees ve Alcolado, 2005). STZ'nin toksik etki gösterebilmesi için hücre içine alınması gerekir. Pankreasta β hücre membranı üzerinde glikozun membranın dış yüzünden iç yüzüne taşınmasını sağlayan glikoz transportörü-2 (GLUT2) bulunur. Glikoz analogu olan STZ, GLUT-2 ile hücre içine alınır ve bu hücrelerde birikir. β hücreleri glikozu almada pankreasın diğer hücrelerine göre daha seçicidir (Lenzen, 2008; Yamamoto ve ark., 1981).

STZ'nin sitotoksik etkisinden esas olarak yapısında bulunan metilnitrozüre grubu sorumludur. STZ hücre içine girdikten sonra, metilnitrozüre grubundaki metilin hücrenin DNA'sına transferi ile gerçekleşen hasar, DNA'nın parçalanması ile sonuçlanır (Lenzen, 2008). DNA hasarına cevap olarak DNA tamiri için poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) stimülasyonu gerçekleşir. PARP'ın artışı sonucu hücre içi nikotinamid adenin dinükleotit

(NAD⁺) tükendir ve pankreas adacık hücrelerinde proinsülin sentezinin inhibe edilmesi ile sonuçlanır (Yamamoto ve ark., 1981).

STZ'nin tek doz 35-65 mg/kg intraperitoneal (i.p.) uygulanması ile T1DM modeli oluşturulmaktadır. Sıçanların düşük doz STZ'ye (30-35 mg/kg) ek olarak yüksek yağlı diyet ile beslenmesi veya yenidoğan sıçanlara doğumdan sonraki 2. günde 100 mg/kg STZ uygulanması T2DM modeli oluşturulmak için kullanılmaktadır (King, 2012; Kurçer ve Karaoğlu, 2012).

Alloksan, STZ'den sonra DM oluşturmak için en yaygın kullanılan kimyasal ajandır. Alloksan kullanımında ketozis insidansı ve buna bağlı ölüm oranı yüksektir. Ayrıca alloksan verilen hayvanlarda pankreas rejenerasyonuna bağlı hipergliseminin tersine dönmesi erken ve yaygındır (Srinivasan ve Ramarao, 2007). Alloksanın diyabetojenik dozları ile toksik dozları birbirine çok yakın olduğundan doz dikkatle ayarlanmalıdır (King, 2012). Bu nedenlerden dolayı, laboratuvar hayvanlarında diyabet indüksiyonu için alloksan yerine çoğunlukla STZ kullanılmaktadır (Srinivasan ve Ramarao, 2007).

2.2. Diyabetin Komplikasyonları

DM'nin komplikasyonları akut ve kronik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Hastalığın akut komplikasyonlarının önlenmesi ve uzun vadede gelişen kronik komplikasyon riskinin azaltılması DM tedavisi yönetiminde kritik önem taşımaktadır (American Diabetes Association, 2015)

Diyabetin akut komplikasyonları hipoglisemi, laktik asidoz, diyabetik ketoasidoz (DKA) ve hiperozmolar hiperglisemik durum olarak sayılabilir. Kan glikoz düzeyinin 70 mg/dl'nin altında olması hipoglisemi kabul edilmektedir. Hipoglisemi, tedavide kullanılan insülin ya da oral antidiyabetik dozunun fazlalığı, ağır egzersiz, insülin duyarlılığının artması ve yetersiz beslenme gibi farklı sebeplere bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Laktik asidoz, kanda laktat seviyelerinde artış ile ortaya çıkan ağır bir metabolik asidoz durumudur. Nadiren görülür ancak altta yatan sebebe bağlı olarak mortalitesi oldukça yüksektir. DKA'da mutlak insülin eksikliği vardır ve bundan dolayı lipolizin baskılanmaması sonucu ketonemi ve ketonüri görülür. Hiperozmolar hiperglisemik durumda asıl sebep dehidratasyondur, DKA'nın aksine az miktarda insülin vardır. Bu insülin lipolizi baskılamaya yeter ve sonuçta keton cisimleri oluşmaz (Salman ve ark., 2020).

Kronik komplikasyonlar ise makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Mikrovasküler komplikasyonlar; nefropati, nöropati ve retinopati iken makrovasküler komplikasyonlar; koroner arter hastalığı (KAH), serebrovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı (PAH) olarak sayılabilir (American Diabetes Association, 2015).

2.2.1. Mikrovasküler komplikasyonlar

Retinopati

Diyabetik retinopati erişkinlerdeki görme kaybının en sık görülen sebeplerindedir. Diyabet süresinin uzaması, kronik hiperglisemi ve hipertansiyon retinopati riskini artıran başlıca risk faktörleridir. Bunun yanında endotel disfonksiyon, diyabetik nefropati ve obezite de retinopati gelişme riskini artırmaktadır (American Diabetes Association, 2015; Wong ve ark., 2016). Tedavi süresince normogliseminin sağlanması diyabetik retinopatinin başlamasını önlemekte ve hastalığın ilerlemesini geciktirmektedir (UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group, 1999).

Nöropati

Diyabetik nöropati, periferik sinir sisteminde büyük ölçüde duyuşsal ve otonomik sinir uçlarını etkileyen nörodejeneratif bir bozukluktur. Diyabetli bireylerin %50'sinden fazlasında diyabetik nöropati gelişmektedir (Feldman ve ark., 2019). Hastalarda tipik olarak ayaklarda başlayan uyuşma, karıncalanma, ağrı ve/veya güçsüzlük vardır (Callaghan ve ark., 2012). Diyabetik nöropati risk faktörleri arasında hiperglisemi, hipertrigliseridemi, obezite, hipertansiyon, dislipidemi ve metabolik sendrom bulunmaktadır (Feldman ve ark., 2019).

Nefropati (Diyabetik böbrek hastalığı)

Diyabetik nefropati, diyabetli hastalarda patolojik miktarlarda albuminüri, diyabetik glomerüler lezyonlar ve glomerüler filtrasyon hızında azalma ile karakterize bir komplikasyondur (Lim, 2014). Kronik böbrek yetmezliğinin başlıca nedenlerindedir ve kardiyovasküler mortalite riskini artırdığı bilinmektedir. Hiperglisemi, hipertansiyon, genetik yatkınlık gibi durumlar diyabetik nefropati gelişimi için ana risk faktörleridir (American Diabetes Association, 2015).

2.2.2. Makrovasküler komplikasyonlar

DM, endotel, düz kas hücreleri ve trombositler gibi birçok hücrenin işlevinde değişikliğe neden olmaktadır (Beckman ve ark., 2002). Diyabette makrovasküler komplikasyonların nedeni arter duvarlarının daralmasına yol açan ateroskleroz sürecidir (Fowler, 2011). Kronik hiperglisemi, dislipidemi ve insülin direnci gibi faktörler, arterleri ateroskleroza daha duyarlı hale getirmektedir (Beckman ve ark., 2002).

Aterosklerozun koroner veya periferik arter duvarlarının kronik inflamasyonu ve hasarı sonucu geliştiği düşünülmektedir. Endotel hasarı ve inflamasyona yanıt olarak LDL partiküllerinden oksitlenmiş lipitler, arterlerin endotel duvarında birikmektedir. Ang II, bu partiküllerin oksidasyonunu kolaylaştırmaktadır. T2DM'de aterom oluşumuna ek olarak, trombosit adezyonunda ve hiperkoagülasyonda artış olduğunu gösteren kanıtlar vardır. NO üretiminde bozulma, trombositlerde serbest radikal oluşumunun artması ve kalsiyum düzeylerindeki bozulmalar trombosit agregasyonunda artışa neden olmaktadır. Pıhtılaşma eğiliminin artması ve fibrinolizisdeki bozulma kardiyovasküler komplikasyon riskini artırmaktadır (Fowler, 2011).

Koroner arter hastalığı

Koroner arter hastalığı, diyabetli hastalarda morbidite ve mortaliteyi ciddi oranda artırır. Diyabet ayrıca akut koroner sendromlara bağlı sonuçları da kötüleştirmektedir (Beckman ve ark., 2002). Yaş, diyabet süresi, dislipidemi ve hipertansiyon koroner arter hastalığı için risk faktörleridir (Salman ve ark., 2020).

Periferik arter hastalığı

Periferik arter hastalığı (PAH) ateroskleroza bağlı olarak gelişmekte, alt ekstremitelerde tıkanma ve kan dolaşımında bozulmalar görülmektedir. Diyabetli bireylerde PAH görülme oranı 2 ila 4 kat artmaktadır PAH, alt ekstremitelerde amputasyonu için majör bir risk faktörüdür. Yaş, hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara ve diyabet PAH riskini artırmaktadır (American Diabetes Association, 2015; Beckman ve ark., 2002).

Serebrovasküler hastalık

Diyabet, koroner ve alt ekstremitelerde damarlarındaki etkilerine benzer şekilde serebrovasküler arter dolaşımını da olumsuz etkiler. Diyabetli hastalarda ekstrakraniyal ateroskleroz artmaktadır. Bununla birlikte diyabette inme riski %150 ila %400 artar, glisemik kontrolün sağlanamaması doğrudan inme riskiyle ilişkilidir (Beckman ve ark., 2002).

2.3. Endotel

1980 yılında Furchgott ve Zawadzki, izole aort dokularının asetilkoline verdikleri gevşeme cevabı için endotel hücrelerinin varlığının gerektiğini ayrıca damar endotel hücrelerinin gevşemeye neden olan bir veya daha çok maddenin salıverildiğini yayımlamışlardır (Furchgott ve Zawadzki, 1980).

Vücuttaki en büyük organlardan biri olan endotel, damar duvarının iç yüzünü oluşturan tek katlı hücrelerdir. Endotel, kan basıncı ve kan akış gerilimi gibi mekanik uyarıların yanı sıra vazoaaktif uyarıların da algılamaktadır. Bu uyarılara yanıt olarak vazomotor fonksiyonu düzenleyen, enflamatuvar süreçleri tetikleyen ve hemostazı etkileyen çeşitli maddeler salgılamaktadır (Endemann ve Schiffrin, 2004).

Endotel hücrelerinden salıverilen vazodilatör maddeler; NO, PGI₂, çeşitli endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktörler ve C-tip natriüretik peptid; vazokonstriktör maddeler ise ET-1, Ang II, TxA₂ ve reaktif oksijen türleri (ROS) olarak sayılabilir. Endotelden aynı zamanda hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler adezyon molekülü-1 (VCAM-1), E-selektin ve nükleer faktör - κ B (NF- κ B) gibi enflamatuvar modülatörler de salgılanmaktadır (Endemann ve Schiffrin, 2004). Endotelden vaskülerden homeostazı sürdürmek için salgılanan faktörler ve işlevleri Tablo 2.3.'te verilmiştir.

Tablo 2.3. Vasküler endotelden salıverilen maddeler ve işlevleri

Salıverilen Madde	Vasküler Endotelin İşlevleri
Nitrik oksit Prostaglandinler Endotelyal hiperpolarize edici faktör Endotelin-1 Anjiyotensin II C-tipi natriüretik peptid	Vasküler tonusun düzenlenmesi
Nitrik oksit Doku plazminojen aktivatörü Heparinler Trombomodulinler Plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI-1) Doku faktörü Von Willibrand faktörü	Kan akışı ve tromboz dengesi
Monosit kemotaktik faktör-1 (MCP-1) Hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) Vasküler adezyon molekülü-1 (VCAM-1) İnterlökin 1,6 ve 18 Tümör nekroz faktörleri	Vasküler enflamatuvar sürecin kontrolü

(Widlansky ve ark., 2003)

Endotel, damar duvarı ve lümenindeki hücrelerle birtakım etkileşmeler aracılığıyla vasküler homeostazı sürdürmektedir. Bunun yanında trombosit aktivasyonu, pıhtılaşma süreci ve fibrinolitik sistemi düzenleyen faktörlerin üretimi yoluyla kanın viskozitesini ve pıhtılaşmasını da kontrol eder. Enflamatuvar süreci düzenleyen ve yönlendiren sitokinler ve adezyon molekülleri üretme kapasitesine sahiptir. Endotel, arter tonusu ve kan akışının düzenlenmesinde de önemli bir rol oynamaktadır (Widlansky ve ark., 2003).

2.3.1. Nitrik oksit

NO, insan vücudundaki hemen hemen tüm hücre tiplerinde, dokularda ve organlarda sentezlenen, çok kısa yarı ömürlü endojen bir gazdır (Doulias ve Tenopoulou, 2020). NO, damar genişletici bir etkiye sahiptir ve endotel aracılı gevşemenin büyük bölümüne aracılık etmektedir. Trombosit aktivasyonunu inhibe eder, lökositlerin endotele yapışmasını ve damar duvarına göçünü azaltarak inflamasyon oluşumunu engeller. Ayrıca vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu ve hücre göçünü azaltmaktadır. NO, bu özellikleri ile kan damarlarını aterogeneze karşı korumaktadır (Beckman ve ark., 2002).

NO sentezi, nitrik oksit sentazların (NOS) üç izoformu olan nöronal (nNOS), indüklenebilir (iNOS) ve endotelyal (eNOS) nitrik oksit sentaz tarafından gerçekleştirilmektedir. Üç izoform da substrat olarak L-arjinin ve yardımcı substratlar olarak moleküler oksijen ile indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfatı (NADPH) kullanır. Sentez reaksiyonunda L-arjinin hidroksile edilir, ardından hidroksile ara ürünün oksidasyonu ile NO ve L-sitrulin oluşur. Bu izoformlar, hücre tipi ve dokuya özgü ekspresyonu göstermektedir. eNOS birincil olarak endotelyal hücrelerde eksprese edilmektedir. Ayrıca kardiyomyosit, trombosit, insan plasentası ve böbrek epitel hücrelerinde de üretildiği gösterilmiştir. nNOS; merkezi ve periferik sinir sistemi hücrelerinin yanı sıra çeşitli organların epitel hücrelerinde, pankreas adacık hücrelerinde ve vasküler düz kaslarda eksprese edilmektedir. iNOS başlangıçta sadece makrofajlarda tanımlanmıştır ancak farklı inflamatuvar ajanların etkisiyle herhangi bir hücre tipinde de iNOS ekspresyonunun indüklenebileceği gösterilmiştir (Doulias ve Tenopoulou, 2020).

2.3.2. Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1)

VCAM-1, immünoglobulin süper ailesine ait bir proteindir, monosit ve T lenfosit hücrelerinin vasküler yüzeye yapışmasına aracılık etmektedir (Osborn ve ark., 1989). Koroner arter hastalığı olanlarda VCAM-1 düzeylerinin belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir (Semaan ve ark., 2000). T1DM'lilerde sVCAM-1 (soluble VCAM-1)'deki artış retinopati, albüminüri

ve kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır (Soedamah-Muthu ve ark., 2006). VCAM-1'in kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda ve gelişimini tahmin etmede bir biyobelirteç olabileceği ileri sürülmektedir (Troncoso ve ark., 2021).

2.3.3. Endotel disfonksiyon

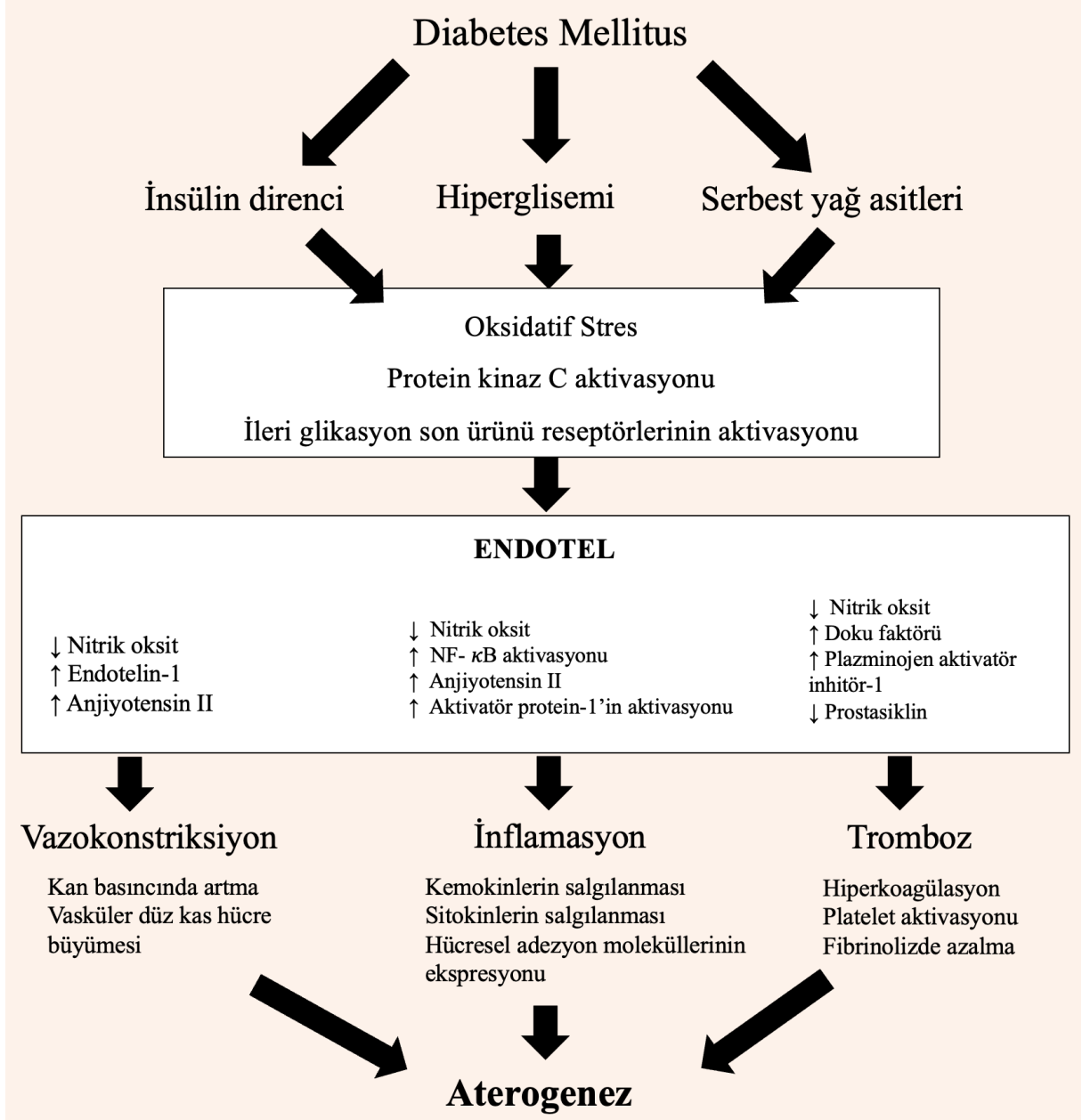
Endotel disfonksiyon, NO duyarlılığında ve üretiminde bozulmalarla birlikte görülen endotelin vasküler homeostazı uygun şekilde sürdürme yeteneğinin bozulmasıdır. (Cyr ve ark., 2020; Widlansky ve ark., 2003). Endotel, homeostatik koşullar altında normal vasküler tonusun sağlanması için gerekli maddeleri salgılamakta ve kanın akışkanlığını korumaktadır. Ancak kardiyovasküler risk faktörlerinin varlığı, vazodilatör ve antitrombotik faktörleri azaltırken vazokonstriktör ve protrombotik faktörlerde artışa neden olarak kronik bir enflamatuvar süreci başlatmaktadır. Sigara, yaşlanma, obezite, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, hiperglisemi ve ailede erken aterosklerotik hastalık öyküsü gibi risk faktörleri hem yetişkinlerde hem de çocuklarda endotel bağımlı vazodilatasyonun zayıflaması ve kaybı ile ilişkilendirilmektedir (Widlansky ve ark., 2003).

Endotel disfonksiyon, ateroskleroz plaklarının oluşumunun başlamasına ve ilerlemesine neden olur, ateroskleroz patogenezinde görülen erken olaylardandır. Ayrıca hipertansiyon, koroner arter hastalığı, kronik kalp yetmezliği, periferik arter hastalığı, diyabet ve kronik böbrek yetmezliği dahil olmak üzere birçok kardiyovasküler hastalığın patofizyolojisinde rol oynamaktadır (Endemann ve Schiffrin, 2004).

2.3.4. Diyabet ve endotel disfonksiyon ilişkisi

Diyabette görülen kronik hiperglisemi, dislipidemi ve insülin direnci gibi metabolik bozukluklar, endotel disfonksiyona neden olarak vasküler yapı işlevlerinde bozulmalara yol açmaktadır. DM'nin neden olduğu oksidatif stres, protein kinaz C aktivasyonu ve ileri glikasyon son ürün reseptörlerinin aktivasyonu gibi durumlar endotel fonksiyonu bozar, vazokonstriksiyonu ve inflamasyonu artırır, tromboz oluşumunu kolaylaştırır (Beckman ve ark., 2002; Nesto, 2004). DM'de, endotel aracılı (nitrik oksit aracılı) vazodilatasyonun bozulması sonucu ateroskleroz plakları oluşmaktadır (Endemann ve Schiffrin, 2004; Giugliano ve ark., 1997).

DM sonucu gelişen aterogenez sürecinde etkili olan olaylar Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Diyabette gerçekleşen bozulmalar sonucu aterogenez gelişimi

(Beckman ve ark., 2002)

Diyabette endotel kaynaklı NO'nun biyoyararlanımı azalmaktadır. Hiperglisemi, endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde eNOS aktivasyonunu bloke etmekte ve süperoksit anyonu (O_2^-) gibi reaktif oksijen türlerinin üretilmesini artırarak NO üretimini inhibe etmektedir (Doulias ve Tenopoulou, 2020). NO azalmasına ek olarak ET-1 ve Ang II konsantrasyonlarında artış olmaktadır. Bunun sonucunda kan basıncında artış, vasküler düz kas hücresi büyümesinde ve hücre göçünde artış meydana gelir. NF- κ B ve aktivatör protein-

1'in aktivasyonu ise lökosit göçünden sorumlu kemokinlerin salgılanmasına, inflamatuvar sitokinlerin üretiminde ve hücrese adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artışa neden olur. Doku faktörü ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1)'in üretiminde artışla birlikte NO ve Pgl₂'de görülen azalma protrombotik bir ortama zemin hazırlar. Bütün bu olaylar sonuçta aterogenez oluşumuna neden olur (Beckman ve ark., 2002).

2.4. Pankreas

Pankreas abdomende bulunan hem endokrin hem ekzokrin salgı yapan bir organdır. Pankreas, sindirime yardımcı olan ekzokrin işlevi ve kan şekerini düzenleyen endokrin işlevi olmak üzere iki ana işleve sahiptir. Pankreasın %98-99 gibi büyük bir kısmı ekzokrin salgı yapan asiner hücreler (%80) ile boşaltım kanallarından (%18) oluşurken, yalnız %1-2 gibi küçük bir kısmı endokrin salgı yapan Langerhans adacıklarından oluşur (Columbia University Department of Surgery, 2023; Çağlar ve ark., 2014).

Langerhans adacıkları pankreasın tamamına dağılmıştır ancak bezin kuyruk kısmında daha yoğun bulunmaktadır, sayıları 1-2 milyon kadardır. Pankreas, Langerhans adacıklarından salgıladığı iki hormonla kan glikoz seviyelerini kontrol etmektedir. Bunlardan insülin kan şekerini düşürür, glukagon ise kan şekerini yükseltir (Columbia University Department of Surgery, 2023).

Pankreasta beta hücrelerinden insülin, alfa hücrelerinden glukagon, delta hücrelerinden somatostatin ve PP hücrelerinden pankreatik polipeptid salgılanmaktadır. (Çağlar ve ark., 2014). Pankreastan salgılanan hormonlar ve işlevleri Tablo 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4. Pankreastan salgılanan hormonlar

Hücre Tipi	Salgılanan Hormon	İşlevi
Beta Hücreleri	İnsülin	Kan şekerini düşürür
Alfa Hücreleri	Glukagon	Kan şekerini yükseltir
Delta Hücreleri	Somatostatin	İnsülin ve glukagon salınımının inhibisyonu
PP Hücreleri	Pankreatik polipeptid	İştah üzerinde rol oynar

(Kayaalp, 2012)

2.4.1. İnsülin

İnsülin 51 amino asitten oluşan peptit yapıda bir hormondur. Pankreasın endokrin kısmı olan Langerhans adacıklarının β hücreleri tarafından üretilmekte ve salgılanmaktadır. İnsülin genelde anabolik bir hormondur. Glikoz, yağ, protein ve nükleik asitlerin sentezine ve/veya depolanmasına yönelik metabolik olaylarda etkilidir. Membrandaki insülin reseptörlerini aktive ederek birçok endojen maddenin hücre membranında taşınmasını düzenlemektedir.

İnsülin reseptörü (IR), α ve β zincirlerinden oluşur ve insülinin yanı sıra insülin benzeri büyüme faktörü I ve II tarafından da aktive edilmektedir. IR'nin A ve B olmak üzere iki izoformu vardır, ancak B izoformu insülin için daha spesifiktir. B izoformu karaciğer, kas ve yağ dokusunda eksprese edilir, bu nedenle insülinin çoğu metabolik etkisine aracılık ettiği düşünülmektedir. İnsülin doğrudan ya da dolaylı olarak bütün organların çalışmasını etkiler. Farmakolojik yarı ömrünün 5 ila 8 dakika arasında olduğu tahmin edilmektedir. Başta karaciğer ve böbrekler olmak üzere diğer bazı dokularda bulunan insülinaz enzimi ile yıkılmaktadır (Kayaalp, 2012; Park ve ark., 2021). İnsülinin temel metabolik olaylar üzerine olan etkileri Tablo 2.5'te verilmiştir.

Tablo 2.5. İnsülinin temel metabolik olaylar üzerine etkileri

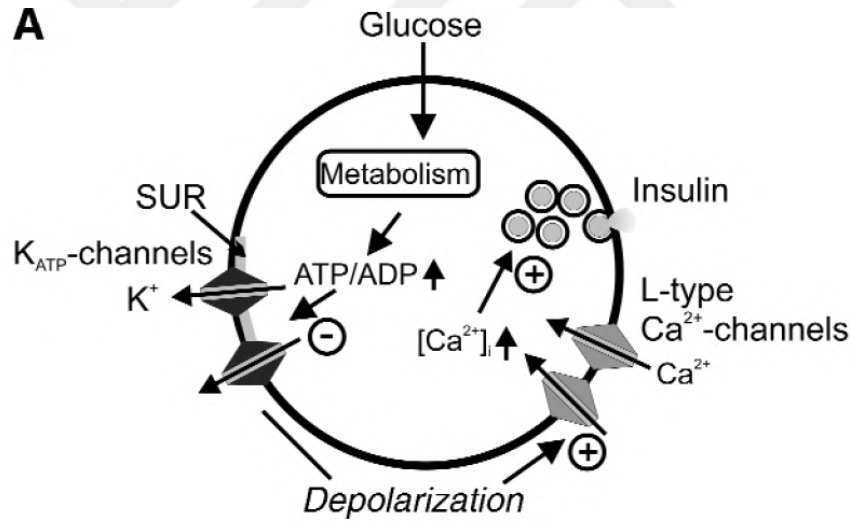
Metabolizma	Metabolik olay	Etkisi
Glikoz metabolizması	Glikojenez	Artırır
	Glikoz oksidasyonu	Artırır
	Glukoneojenez	Azaltır
	Glukojenoliz	Azaltır
	Ketojeniz	Azaltır
Yağ metabolizması	Lipoliz	Azaltır
	Lipojeniz	Artırır
Protein metabolizması	Protein sentezi	Artırır
	Glukoneojenez	Azaltır
	Proteoliz	Azaltır
	Üreojenez	Azaltır
Diğer maddelerin metabolizması	ATP oluşumu	Artırır
	DNA ve RNA oluşumu	Artırır

(Kayaalp, 2012)

2.4.2. Pankreastan insülin salgılanması

İnsülin, plazma glikoz düzeyindeki artışa yanıt olarak pankreas β hücreleri tarafından salgılanır. Pankreas β hücre membranında glikoreseptörler ve glikozun membranın dış yüzünden iç yüzüne taşınmasını sağlayan glikoz transportörü-2 (GLUT-2) bulunmaktadır. GLUT-2 aracılığıyla β hücreye giren glikoz, glukokinaz tarafından glikoz-6-fosfata fosforile edilmekte ve mitokondride adenosin trifosfat (ATP) üretimine yol açmaktadır. β hücrede ATP konsantrasyonunun artması membrandaki K_{ATP} kanallarının kapanması ile membranın depolarize olması, voltaj bağımlı Ca^{2+} kanallarının açılması ve Ca^{2+} 'nın hücre içine girişi ile sonuçlanan olaylar zincirini tetiklemektedir. Glikoreseptörler, kalsiyum kanallarını açar ve hücre içine giren Ca^{2+} aracılığı ile glikoza bağlı hızlı insülin salıverilmesini başlatırlar (Kayaalp, 2012; Park ve ark., 2021).

Pankreas β hücresinden insülin salıverilmesi Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

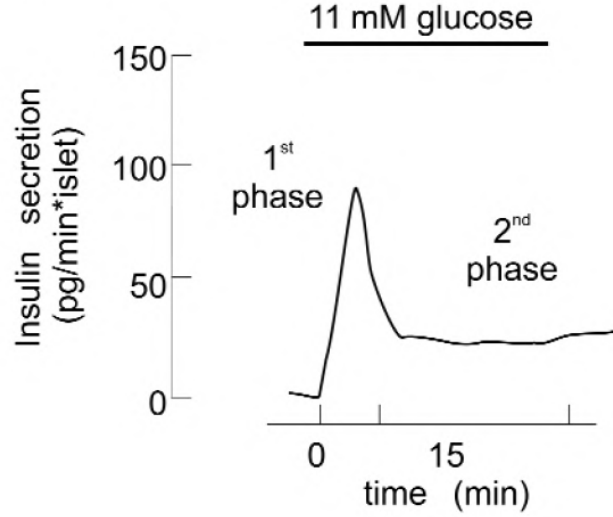


Şekil 2.2. Pankreas β hücresinden insülin salınımı

SUR: sülfonilüre reseptörü, K_{ATP} : ATP ile regüle edilen K^+ kanalı (Rorsman ve ark., 2000)

Pankreas β hücresinde glikozun indüklediği insülin salınımı bifaziktir. Birinci faz insülin sekresyonu, sitozolik Ca^{2+} düzeylerinin artmasıyla indüklenir ve büyük ölçüde hücre içindeki insülin granüllerinin ekzositozu ile gerçekleşmektedir. Birinci faz kısa sürer ve salıverilme hızı bunun ardından azalır. Daha sonra salıverilme hızında uzun süreli bir yükselmenin meydana geldiği ikinci faz insülin sekresyonu gerçekleşir. İkinci faz insülin

sekresyonu yavaşdır, sitozolik Ca^{2+} , ATP ve siklik adenosin monofosfat üretimi ve daha sonra salgılanacak insülin gereksinimi ile aktive olmaktadır. Birinci fazda, sadece depolanmış insülin salınırken ikinci fazda hem depolanmış olan insülin hem de yeni sentezlenen insülin salınmaktadır (Kayaalp, 2012; Park ve ark., 2021). Glikoza bağlı insülin salgılanmasının iki fazlı profili Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Glikoza bağlı insülin sekresyonunun iki fazlı profili

(Rorsman ve ark., 2000)

2.5. *Silybum marianum*

Silybum marianum, “milk thistle, deve diken” olarak da bilinen kullanımı 2000 yıl öncesine dayanan tıbbi bir bitkidir. Botanik ismi *Silybum marianum* (L.) Gaertn. olup Asteriaceae familyasına aittir (Post-White ve ark., 2007). Mor renkli tek ve büyük bir çiçeği vardır, dik bir gövde üzerinde boyu 70-150 cm’ye ulaşabilir, yapraklarının kenarları boyunca dikenleri vardır. Bitkinin tedavide kullanılan kısmı olgunlaşmış tohumlarıdır (Marty, 1999).

Silybum marianum bitkisine ait fotoğraf Şekil 2.4’te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. *Silybum marianum* (deve diken) bitkisi

S. marianum'un temel aktif bileşenlerinden olan silimarin, flavanolignan yapısındaki dört temel izomerden oluşmaktadır; silibinin, isosilibinin, silikristin, silidianin (Post-White ve ark., 2007). Silimarin, enterohepatik sıklusa katılmaktadır, bunun sonucunda karaciğer hücrelerinde serumdan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Silimarin, mantardaki toksinlerin hepatositlere bağlanmasını ve toksinlerin enterohepatik dolaşıma geçmesini engeller, böylece zehirlenme durumunda karaciğer üzerinde koruyucu etki gösterir (Rainone, 2005).

2.5.1. Silibinin (Silibin)

Halk arasında başta hepatoprotektif olarak kullanılmaktadır, son yıllarda başka amaçlar için kullanımı da araştırılmaktadır. Hipoglisemik, nefroprotektif, antioksidan, nöroprotektif, antikanser, antipsöriyatik ve antiösteoporotik etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur (Bahmani ve ark., 2015; Binienda ve ark., 2019; Liu ve ark., 2020; Rainone, 2005). Silibinin'in kimyasal yapısı Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Silibinin kimyasal yapısı

2.5.2. Silibinin'in farmakolojik etkileri

Silibinin kan glikoz düzeyi üzerine etkileri

Yüksek yağlı diyetle obezite modeli oluşturulmuş sıçanlara 4 hafta 30 mg/kg/gün per os (p.o.) silibinin tedavisi 3. ve 4. haftalarda kan glikozunu kontrole göre anlamlı olarak düşürmüştür (Feng ve ark., 2021). Wang ve arkadaşları, deneysel T2DM oluşturdukları sıçanlara 12 hafta boyunca 50 ve 100 mg/kg/gün (p.o.) silibinin uygulamış, 100 mg/kg dozda silibinin uygulanan sıçanların kan glikoz düzeylerinin 5. haftadan itibaren anlamlı olarak azaldığını bildirmişlerdir (Wang ve ark., 2017).

Silibinin'in mantar zehirlenmelerinde kullanımı

Amanita phalloides, ölümcül mantar zehirlenme vakalarına neden olan dünyadaki en zehirli mantarlardan biridir (Garcia ve ark., 2015). *A. phalloides*, *A. verna*, *A. virosa* gibi mantar türleri içerdikleri amatoksin, fallotoksin, virotoksin gibi toksinler sebebiyle oldukça zehirlidir. Bir amanita şapkası yaklaşık 10-15 mg amatoksin içerdiğinden tek bir mantar bile ölüme neden olabilir. Tedavi edilmediği takdirde zehirlenme sonrası 3-5 gün içerisinde ağır karaciğer ve böbrek yetmezliği, çoklu organ yetmezliği, koma ve ölüme sebep olur (SB, RSHMB, Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü, 2007). Silibinin, amatoksin zehirlenmelerinde sağkalımı artırmaktadır. Bu etkinin silibinin'in antioksidan aktivitesine bağlı olduğu düşünülmektedir (Garcia ve ark., 2015). T.C. Sağlık Bakanlığı Birinci Basamağa Yönelik Zehirlenmeler Tanı Ve Tedavi Rehberleri'nde silibinin'in, amatoksin içeren mantar zehirlenmesinde, yükleme dozu olarak 5 mg/kg ven içine 1 saatte verildikten sonra 20 mg/kg/gün hızda infüzyonla karaciğer işlev testleri normale dönüncüye kadar uygulanması gerektiği belirtilmiştir (SB, RSHMB, Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü, 2007). Silibinin ayrıca Ulusal Zehir Danışma Merkezi Antidot Listesi'nde de mantar zehirlenmelerinde antidot olarak belirtilmiştir (Özcan ve İkinciogulları, 2009).

Silibinin'in hepatoprotektif etkileri

S. marianum, M.Ö. 4. yüzyıldan bu yana kronik karaciğer hastalıklarında hepatoprotektif özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Non-alkolik steatohepatit (NASH), obezite ve diyabet ile ilişkili bir karaciğer hastalığıdır. Silibinin'in NASH üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada sıçanlar 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu standart sıvı diyetle 12 hafta boyunca beslenmiştir. Diğer gruplara 12 hafta boyunca yüksek yağlı sıvı diyet verilerek deneysel NASH modeli oluşturulmuştur. Gruplardan birine son 5 hafta eş zamanlı olarak silibinin olarak 200 mg/kg silibinin'e eşdeğer silibinin-fosfatidilkolin kompleksi verilmiştir.

Silibinin ile tedavi edilen grupta, karaciğer yağlanması ve inflamasyonda iyileşme gözlenmiş ayrıca silibinin'in NASH'nın neden olduğu lipid peroksidasyonunu, plazma insülin seviyelerini ve TNF- α 'yı azalttığını gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar silibinin'in, NASH'nın neden olduğu karaciğer hasarına karşı etkili antioksidan, hipoinsülinemik ve hepatoprotektif özelliklere sahip olduğunu ve tedavide umut verici terapötik özellikler gösterdiğini belirtmişlerdir (Haddad ve ark., 2011).

Diğer bir araştırmada 8 haftalık farelerde ConA (Convocalin-A) ya da GalN (D-galaktozamin) ile kombine rekombinant murin (rmu) TNF (tümör nekrozis faktör) ile indüklenerek karaciğer hasarı oluşturulmuştur. ConA veya GalN/rmuTNF uygulamasından bir saat önce farelere silibinin verilmiştir. Silibinin, ConA'nın neden olduğu karaciğer hastalığını önemli ölçüde inhibe etmiştir. Ancak GalN/rmuTNF'nin neden olduğu karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisi gözlenmemiştir. Araştırmacılar silibinin'in, intrahepatik immünoşpresyonun gerekli olduğu terapötik durumlarda değerli bir ilaç olabileceğini belirtmişlerdir (Schümann ve ark., 2003).

Silibinin'in santral sinir sistemi üzerine etkileri

Silibinin'in nöroprotektif etkileri olduğu ileri sürülmektedir. Yapılan bir araştırmada intraserebroventriküler streptozotosin ile hafıza hasarı oluşturulmuş, nissl cisimlerinin sayısı azalmış ve hipokampal nöronal hücrelerin morfolojik yapısı bozulmuştur. Araştırmacılar silibinin'in bu hasarı azalttığını, nöronların apoptozunu belirgin şekilde inhibe ettiğini ve insülin sinyal iletim yolunu up-regüle ettiğini rapor etmişlerdir (Liu ve ark., 2020)

Amiloid β kaynaklı bilişsel işlev bozukluklarında oksidatif stresin rol oynadığı düşünülmektedir. 2009 yılında Japonya'da yapılan bir çalışmada araştırmacılar silibinin'in antioksidan özelliklere sahip oluşundan yola çıkarak amiloid β kaynaklı nörotoksisiteyi iyileştirip iyileştirmediği araştırmışlardır. Fareler üzerinde yaptıkları çalışmada silibinin'in, A β_{25-35} 'in neden olduğu oksidatif stresin bellek bozukluğu ve oksidatif stres birikimi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Farelere intraserebroventriküler A β_{25-35} uygulanmış sonrasında gruplara silibinin (2, 20 ve 200 mg/kg, günde bir kez, p.o.) verilmiştir. Y-labirent testi ve obje tanıma testleri ile bilişsel fonksiyonlar üzerine etkiler değerlendirilmiştir. Silibinin'in, A β_{25-35} 'in neden olduğu bellek bozukluğunu önlediği, hipokampusta A β_{25-35} ile indüklenen lipid peroksidasyonu (malondialdehit) ve antioksidan (glutasyon) tükenmesini hafiflettiği görülmüştür. Araştırmacılar silibinin'in Alzheimer hastalığı için potansiyel bir terapötik ajan olabileceğini belirtmişlerdir (Lu ve ark., 2009).

Silibinin'in kanser üzerine etkileri

Silibinin meme kanseri tedavisinde, karboplatin, sispilin ve doksorubisin gibi kemoterapötik ilaçlarla kombine edildiğinde, kanser hücrelerine karşı sinerjistik etki gösterdiği bulunmuştur. Araştırmacılar bunun özellikle agresif meme kanseri tiplerinin tedavisinde umut verici bir gelişme olabileceğini belirtmişlerdir (Binienda ve ark., 2019)

Silibinin'in yara iyileşmesi üzerine etkileri

Silibinin'in yara iyileşmesi üzerine etkisini incelemek için farelerde insizyon ve eksizyon yara modelleri oluşturulmuştur. Hayvanlar çözücü jeli içeren baz jel, %0,2 silibinin jel ve ile gümüş içeren standart jel olarak 3 gruba ayrılmıştır. %0,2 silibinin hidrojeli 8 gün boyunca uygulanmış, yaranın durumunu çeşitli parametrelerle ölçülmüştür. Araştırmacılar silibinin hidrojeli ile tedavi edilen grupta yara iyileşmesinin kontrole göre anlamlı olarak arttığını bildirmişlerdir (Samanta ve ark., 2016).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 21/04/2020 tarih ve 2020-027 karar numaralı izniyle gerçekleştirilmiştir. Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından 201418008 proje numarası ile desteklenmiştir.

İzole organ banyosu deneyleri Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır. İmmünohistokimyasal analizler Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. İnsülin, HbA_{1c} ve qRT-PCR ile gen ekspresyon analizleri için ise dış laboratuvarlardan hizmet alınmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan sıçanlar Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiş ve deney gruplarına uygulanan prosedürler bu merkezde yapılmıştır.

Çalışmada 48 adet 4 aylık Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar $21 \pm 2^\circ$ C sıcaklıkta, %50 nem ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünün sağlandığı odalarda, tabanı odun talaşı ile kaplanmış polikarbonat kafeslerde ve her kafeste en fazla 4 hayvan olacak şekilde tutulmuştur. Sıçanlara standart sıçan pellet yemi ve çeşme suyu *ad libitum* olarak verilmiştir.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneye başlanmadan önce sıçanlar rastgele şekilde dağıtılarak 6 gruba ayrılmıştır. Her grupta 8 sıçan olacak şekilde, deney sırasında STZ kaynaklı komplikasyonlar nedeniyle ölen sıçanların yerine yeni sıçanlar dahil edilerek sayıları her grupta 8 olacak şekilde sabitlenmiştir. Deneysel prosedürlere başlanmadan önce hayvanların kafeslerine adaptasyonu için bir hafta beklenmiştir. Ayrıca tüm sıçanlara bireysel kuyruk işaretlemesi yapılmıştır. Bu şekilde ağırlık ve kan glikozu ölçümleri her sıçan için ayrı olarak kaydedilmiştir. Grupların dağılımı şu şekildedir:

1. **Sağlıklı Kontrol Grubu (SK, n = 8) :** 8 hafta boyunca her gün 1 ml %0,09'lük NaCl çözeltisi intraperitoneal (i.p) olarak verilmiştir.

2. **30 mg/kg Silibinin (SLB30, n = 8)** : Sağlıklı sıçanlara 8 hafta boyunca her gün 30 mg/kg silibinin %0,09'luk NaCl çözeltisi içinde süspansiyon olarak i.p. yolla verilmiştir.
 3. **60 mg/kg Silibinin (SLB60, n = 8)** : Sağlıklı sıçanlara 8 hafta boyunca her gün 60 mg/kg silibinin %0,09'luk NaCl çözeltisi içinde süspansiyon olarak i.p. yolla verilmiştir.
 4. **Diyabet Kontrol Grubu (DMK, n = 8)** : 50 mg/kg STZ enjeksiyonundan 3 gün sonra başlanarak 8 hafta boyunca her gün 1 ml %0,09'luk NaCl çözeltisi i.p. olarak verilmiştir.
 5. **Diyabet + 30 mg/kg Silibinin (DM+SLB30, n = 8)** : 50 mg/kg STZ enjeksiyonundan 3 gün sonra başlanarak deney bitimine kadar her gün 30 mg/kg silibinin %0,09'luk NaCl çözeltisi içinde süspansiyon olarak i.p. yolla verilmiştir.
 6. **Diyabet + 60 mg/kg Silibinin (DM+SLB60, n = 8)** : 50 mg/kg STZ enjeksiyonundan 3 gün sonra başlanarak deney bitimine kadar her gün 60 mg/kg silibinin %0,09'luk NaCl çözeltisi içinde süspansiyon olarak i.p. yolla verilmiştir.
- Gruplandırmanın özeti Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Denejde kullanılan sıçanların gruplandırılması

Gruplar	Gruptaki Sıçan Sayısı
SK (Sağlıklı kontrol)	8
SLB30 (30 mg/kg silibinin)	8
SLB60 (60 mg/kg silibinin)	8
DMK (Diyabet kontrol)	8
DM+SLB30 (Diyabet + 30 mg/kg silibinin)	8
DM+SLB60 (Diyabet + 60 mg/kg silibinin)	8
Toplam	48

3.3. Deneysel Diyabet Oluşturulması

Sıçanlarda deneysel DM oluşturmak için STZ (Sigma-Aldrich, ABD) kullanılmıştır. DM oluşturulacak gruplar için 50 mg/kg STZ, taze hazırlanmış 0,1 M (pH = 4,5) sodyum sitrat tamponunda çözülerek i.p. olarak bir kez uygulanmıştır.

Sodyum sitrat tamponu hazırlanırken 49.5 ml %0,09'luk NaCl içinde 147 mg trisodyum sitrat (Sigma-Aldrich, ABD) çözülmüştür. 1M 0,5 ml sitrik asit (Sigma-Aldrich,

ABD) çözeltisi ile pH 4,5'a ayarlanmıştır. Hazırlanan çözeltinin pH kontrolü pH metre kullanılarak yapılmıştır. Her hayvan için kg başına 50 mg STZ hassas terazide tartılmıştır. STZ'nin stabil olmayan yapısı nedeniyle tartım esnasındaki beklemelerde dahi buz aküsü içinde tutulmuştur. STZ sodyum sitrat tamponunda çözülmüştür ve çözüldükten sonra maksimum 5 dakika içerisinde enjeksiyon gerçekleştirilmiştir.

Diyabet oluşturulmayacak gruplara da aynı hacimde sodyum sitrat enjeksiyonu yapılmıştır. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra tüm sıçanların kan glikoz düzeyleri glikometre ile ölçülüp 250 mg/dL üzeri bulunan hayvanlar diyabetli sayılmıştır (Demirtaş Şahin ve ark., 2019; Lee ve ark., 2019).

Diyabet oluşturulan gruplardaki hayvanların kafes altındaki talaşları poliüri nedeniyle her gün değiştirilmiştir.

3.4. Silibinin Uygulanması

Tablo 3.1.'de belirtilen 4 gruba 8 hafta boyunca belirtilen dozlarda silibinin (S0417, Sigma-Aldrich, ABD) uygulaması yapılmıştır. Silibinin %0,09'luk NaCl çözeltisi içinde, i.p şekilde, süspansiyon halinde uygulanmıştır. Silibinin toz halinde -20 °C' de saklanmış ve her gün uygulamadan hemen önce taze olarak hazırlanmıştır. Silibinin uygulaması her gün aynı saatlerde (10:00- 12:00) ve aynı kişi tarafından yapılmıştır.

3.5. Canlı Ağırlık Ölçümü

Sıçanların canlı ağırlıkları 1 haftalık adaptasyon sürecinin sonunda ve çalışmanın sonuna kadar her iki haftada bir olmak üzere günün aynı saatlerinde (10:00-12:00) 1 g hassasiyetteki terazi kullanılarak ölçülmüştür. Deney başlangıcında sıçanların işaretlenmiş olan kuyrukları sayesinde her sıçan için düzenli ölçüm sonuçları kaydedilmiştir.

3.6. Kan Glikoz Düzeylerinin Ölçülmesi

Kan glikoz düzeyi ölçümleri deney başlangıcından itibaren deney sonuna kadar her iki haftada bir olacak şekilde yapılmıştır. Glikoz ölçümleri için kuyruk venine insülin iğnesi ile punksiyon yapıp, alınan bir damla kanda Lifecek (TD-4287) markalı glikometre ile kan glikoz konsantrasyonları belirlenmiştir. Lifecek markalı bu glikometrenin ölçüm aralığı 20-600 mg/dL olup, 600 mg/dL'den büyük olan ölçümler "high, (HI)" olarak gösterilmektedir. Ölçümler sırasında HI olarak okunan değerler 600 mg/dL olarak kabul edilmiştir. Tüm kan glikoz düzeyi ölçümleri, standardizasyonu sağlamak için sabah 10:00-12:00 arasında yapılmıştır.

3.7. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması

Tüm gruplar sekiz hafta süren deney prosedürlerinin ardından intramüsküler (i.m.) 80 mg/kg ketamin (Doğa İlaç, Türkiye), 10 mg/kg ksilazin (Doğa İlaç, Türkiye) enjeksiyonu ile anestezi altına alınmıştır. Anestezi derinliği parmak kısırtma metodu ile yapılmış ve 15 dakikada bir tekrarlanmıştır. Anestezi altındaki sıçanlar kalpten 8-10 ml intrakardiyak kan alımı ile sakrifiye edilmiştir.

Alınan kan örnekleri HbA_{1c} ve insülin düzeylerini ölçecek olan merkeze gönderilmeden önce +4 °C’de saklanmıştır. Daha sonra göğüs bölgesi orta hattan açılarak arkus aortadan başlamak üzere torasik aorta disseke edilmiştir. Her sıçandan alınan torasik aorta dokuları izole organ banyosu ve qRT-PCR analizlerinde kullanılmak üzere iki bölüme ayrılmıştır.

Torasik aortadan elde edilen damar halkaları hızlıca Krebs-Henseleit çözeltisi içine alınmış ve *in vitro* organ banyosunda izometrik ölçümler aynı gün içinde yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir.

qRT-PCR analizleri için gerekli sıçan aortası disseke edilip plastik tüplere konulmuş ve sıvı azot tankına atılarak hızlı bir şekilde dondurulmuştur. Ölçümlerin gönderileceği laboratuvara transfer edilinceye kadar -80 °C’de saklanmıştır.

Sıçanlardan pankreas dokuları disseke edilmiştir. Disseke edilen pankreaslar serum fizyolojik ile yıkanıp ve %10 formalin tamponu içinde fikse edilmiştir. Fikse edilen pankreaslar immünohistokimyasal analizler için Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarı’na gönderilmiştir.

3.8. İnsülin ve HbA_{1c} Değerlerinin Ölçümü

Deney sonunda sıçanlar anestezi altındayken alınan kardiyak kan ile insülin seviyeleri ELISA kiti (Bioasay Technology Laboratory, China) kullanılarak, HbA_{1c} seviyeleri ise HPLC kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler hizmet alımı yoluyla dış laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.9. İmmünohistokimyasal Analizler

Dokular %10’luk formalin solüsyonu içerisinde tespit edilmiştir. Tespit işlemi sonrası tüm dokular kodlanarak plastik kasetlere alınmış ve Sakura Tissue-Tek VIP6Aİ (Japonya) doku takip cihazında alınmıştır. Bu işlem tamamlandıktan sonra dokular parafin bloklara gömülüp, bu bloklardan mikrotom yardımıyla 5µm kalınlığında kesitler lamlara konulmuştur. Bu kesitler İnsulin (DAKO, Poliklonal Guinea Pig Anti-İnsulin, Code IR002)

immunhistokimya boyaması uygulamak üzere otomatik immunhistokimya boyama cihazına (DAKO Omnis-Danimarka) alınmıştır. Tetkik tamamlandıktan sonra preparatlar Olympus BX53 (Japonya) ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Dokuların ışık mikroskopunda boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığına göre araştırılmıştır. Langerhans adacıkları boyama şiddetine göre 0 (negatif), + (zayıf), ++, (orta) ve +++ (güçlü) immün reaksiyon olarak, boyama yaygınlığına göre ise 0 (yok), fokal (bir glomerüler yumağın %50 sinden azı) ve difüz (bir glomerüler yumağın %50 si ve fazlasında boyanma olması) olarak değerlendirilmiştir. Bu analizler Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.10. eNOS ve VCAM-1 Gen Ekspresyonlarının qRT-PCR ile Analizi

Sıçanlardan alınan torasik aort dokularında eNOS ve VCAM-1 gen ekspresyonları qRT-PCR ile aşağıdaki prosedürler izlenerek incelenmiştir. Bu analiz dış laboratuvar da hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

İzole edilen arterlerden alınan 25-50 mg'lık örnekler bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır. Fiziksel olarak parçalanmış örnekler 1 ml ekstraktör eklenip 10 dakika bekletilmiş ve örneklerin tamamen parçalanması sağlanmıştır. Daha sonra 0,2 ml kloroform ilave edilip vorteklenmiş ve 12 000 g ile 10 dakika santrifüj edilmiştir. Ayrılan süpernatant, RNAaz içermeyen santrifüj tüpüne aktarılmış ve etanol eklenerek karıştırılmıştır. Yapılan seri santrifüjler ile saf RNA eldesi amaçlanmıştır. Elde edilen RNA'ların kalite kontrolü ve konsantrasyonları spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. A260:A280 oranı saf RNA ile uyumlu olan örnekler çalışmada kullanılmıştır.

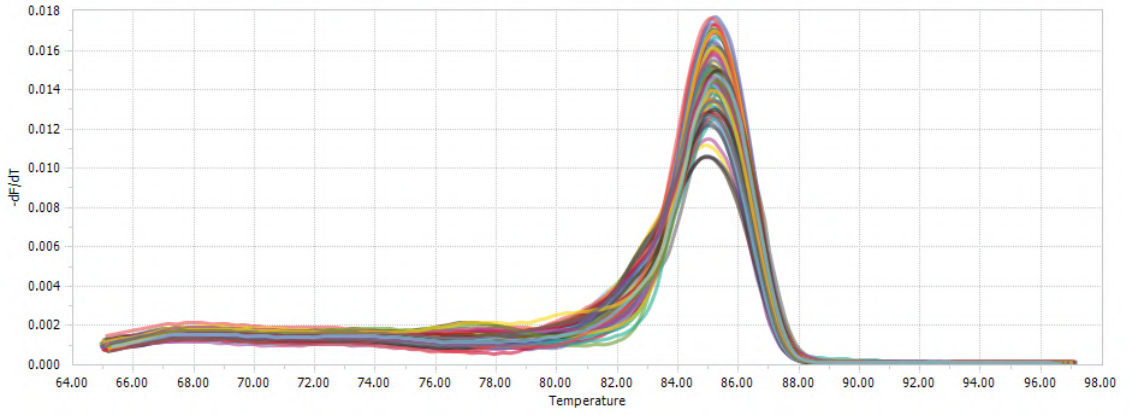
cDNA analizi için çözünen örnekler kit (OneScript® Plus cDNA Synthesis Kit, katalog numarası:G236, ABM, Kanada) uyarınca hazırlanan karışıma eşit yoğunlukta örnek içerecek şekilde normalize edilerek ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım termal cycler (Bio Rad T100)'da kit talimatlarına uygun sıcaklık ve sürede inkübe edilmiştir.

Elde edilen cDNA, Master Mix (BlasTaq™ 2X qPCR MasterMix, katalog numarası: G891, ABM, Kanada) prosedüründe tavsiye edilen oranda nükleaz free distile su ile dilue edilerek qRT-PCR işlemleri için kullanılmıştır. qRT-PCR Master Mix, dilue edilmiş cDNA ve SYBR® Green boyası ile Tablo 3.2.'de belirtilen primerler kullanılarak kitin protokolüne uygun şekilde LightCycler® 96 (Roche) qRT-PCR cihazında hedef genlerin ekspresyon seviyeleri analiz edilmiştir. PCR koşulları ve siklus sayısı kullanılan kite uygun ayarlanarak

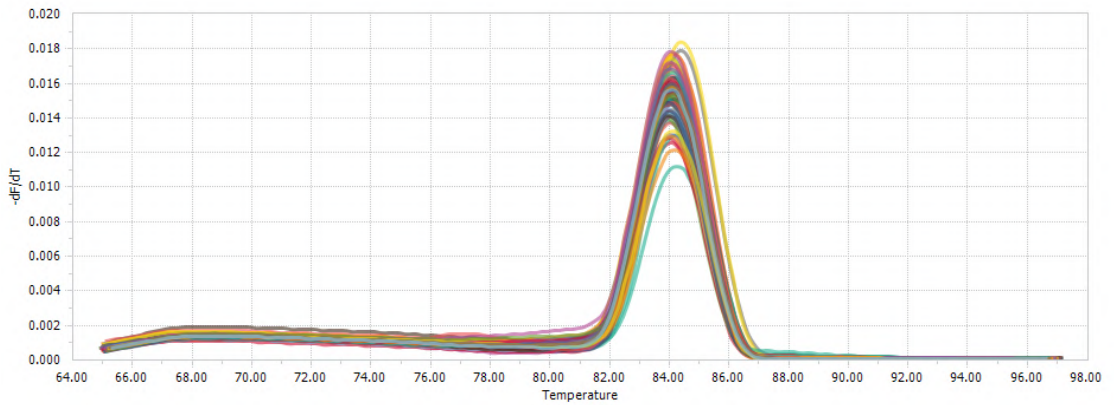
reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Çalışmada belirlenen her bir grup için veri analiz programları kullanılarak eNOS ve VCAM-1 genlerinin ekspresyon düzeyleri GAPDH housekeeping geni ile normalize edilerek belirlenmiştir. Gen ekspresyon seviyeleri kontrol grubu baz alınarak, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak kat değişimi (fold-change) şeklinde ifade edilmiştir.

Tablo 3.2. qRT-PCR analizinde kullanılan primer dizileri

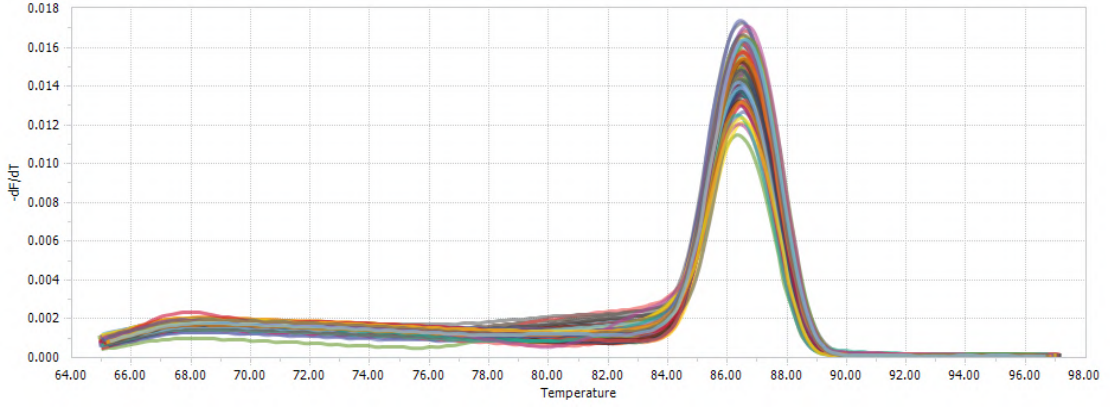
Genler	Primer Dizileri
GAPDH	5'-ATGACTCTACCCACGGCAAG-3' forward 5'-CTGGAAGATGGTGTATGGGTT-3' reverse
eNOS	5'-GCCGTCAGGATGGTGAAAGGG-3' forward 5'-TCGATCAAAAGGTGGGTCTCC-3' reverse
VCAM-1	5'-ACTGCACGGTCCCTAATGTG-3' forward 5'-CAAGAGCTTTCCCGGTGTCT-3' reverse



Şekil 3.1. GAPDH'e ait erime eğrisi



Şekil 3.2. VCAM-1'e ait erime eğrisi



Şekil 3.3. eNOS'a ait erime eğrisi

3.11. İzole Organ Banyosu Deneyleri

İzole organ banyosu deneyleri Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. *In vitro* organ banyosu deneyleri için sıçanlardan izole edilen torasik aortlar bekletmeden +4° C Krebs-Henseleit solüsyonu (KHS) içine alınmıştır. Sıçan aortu endotel hasarına sebep olmayacak şekilde çevre dokulardan temizlenmiş ve 2-3 mm genişliğinde halka şeklinde preparatlar hazırlanmıştır. Dokular 37°C'de Krebs-Henseleit solüsyonu içeren ve %95 O₂-%5 CO₂ karışımı ile sürekli gazlandırılan 10 ml hacminde izole organ banyosu içine alınarak 1 g istirahat gerilimi altında 60 dakika süreyle dinlendirilmiş ve bu süre boyunca dokular 15 dakika aralıklarla KHS ile yıkanmıştır. Dinlenme periyodunun bitiminde aşağıdaki prosedürler uygulanmış ve alınan cevaplar bir transdüser (BIOPAC MP36, California USA) yardımı ile izometrik olarak (Commat, Ankara, TÜRKİYE) kaydedilmiştir (Okudan ve ark., 2011; Şahin ve Bariskaner, 2007).

In vitro organ banyosu deneylerinde; aort halkalarının 80 mM KCl (potasyum klorür) ile bazal kasılma cevapları alınmıştır. KCl kullanılmasının sebebi reseptör etkileşimlerini ekarte edebilmek için voltaj kapılı Ca⁺² kanalları üzerinden etki etmesinden kaynaklanmaktadır. KCl ile kasılma sonrasında dokular 60 dakika boyunca dinlendirilmiş ve bu süre boyunca dokular 15 dakika aralıklarla KHS ile yıkanmıştır. Dinlendirme süresi bitiminde banyoya 10⁻⁵ M fenilefrin (FE) ilave edilerek kasılma yanıtları alınmıştır. FE ile alınan kasılma yanıtları plato fazına ulaşıncaya banyoya kümülatif olarak (10⁻⁹-10⁻⁵ M) asetilkolin (ACh) ilave edilmiştir. Daha sonra banyoya tek doz 10⁻⁵ M SNP ilave edilerek endotelden bağımsız gevşeme yanıtları değerlendirilmiştir. ACh ile alınan doz yanıt

eğrilerinde E_{max} (% maksimum gevşeme) ve pD_2 (%50 oranında gevşeme oluşturan konsantrasyonun negatif logaritması) değerleri hesaplanmıştır.

3.12. Verilerin Analizi

Elde edilen verilerin analizi SPSS paket programı ile yapılmıştır. Her gruptan elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ve grafiksel yöntemler ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikte kategorik verilerde sayı(%), sayısal verilerde aritmetik ortalama \pm standart sapma kullanılmıştır. Kategorik verilerin analizinde ise ki-kare testi, sayısal verilerin karşılaştırmasında iki grupta Student-t testi, 3 ve üzeri grupta One Way ANOVA testi kullanılmıştır. Tekrarlı ölçümlerde grup etkisini değerlendirmek için mixed ANOVA testi kullanılmıştır. p değeri $<0,05$ olduğunda aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmadaki toplam 6 gruba 8 hafta boyunca deney prosedürleri uygulanmıştır. Deney sırasında yapılan analizlerden elde edilen veriler kaydedilmiştir.

4.1. Canlı Ağırlık Ölçümlerine Ait Bulgular

Canlı ağırlık ölçümleri deney başlangıcında ve deney boyunca her iki haftada bir kez yapılmış, kaydedilen veriler Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Haftalara göre canlı ağırlık değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	SK	SLB30	SLB60	DMK	DM +SLB30	DM +SLB60
Başlangıç	392,1 \pm 32,3	393,8 \pm 27,5	399,8 \pm 22,1	386,2 \pm 24,8	386,2 \pm 29,2	396,5 \pm 21,1
2. hafta	403,3 \pm 33,2	383,5 \pm 3	393,7 \pm 24,6	323,6 \pm 17,8 ^{***}	317,1 \pm 26,7	339,3 \pm 18,6
4. hafta	416,8 \pm 38,3	389,6 \pm 27,8	399,2 \pm 17	316,7 \pm 23,8 ^{***}	304,6 \pm 31,2	334,8 \pm 12,5
6. hafta	428 \pm 37,9	394,3 \pm 29,2	403,7 \pm 14,9	301,8 \pm 31,1 ^{***}	315,1 \pm 30,9	324,8 \pm 16,7
8. hafta	439 \pm 37,13	414 \pm 34,1	416,5 \pm 13,9	282 \pm 31,8 ^{***}	309,2 \pm 26,8	319 \pm 22,6

* SK grubuyla kıyaslandığında ^{***} $p < 0,001$

DMK ve SK grupları karşılaştırılmış; deneyin 2., 4., 6. ve 8. haftasında yapılan ağırlık ölçümlerinde, DMK grubunun ağırlığının SK grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$).

DMK, DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları karşılaştırılmış; yapılan tüm ölçümlerde bu gruplar arasında ağırlıklar açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

SK, SLB30 ve SLB60 grupları arasında yapılan tüm ölçümlerde ağırlıklar açısından anlamlı bir fark yoktur.

4.2. Kan Glikoz Düzeyi Ölçümleri

Kan glikoz düzeyi ölçümleri deney başlangıcında, STZ uygulaması sonrasında ve deney sonuna kadar her iki haftada bir kez yapılmış, kaydedilen veriler Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Haftalara göre kan glikoz değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	SK	SLB30	SLB60	DMK	DM +SLB30	DM +SLB60
Başlangıç	82,8 \pm 6,3	83,2 \pm 7,7	85,5 \pm 6,7	77,6 \pm 9,5	80,5 \pm 10,9	73,1 \pm 6,9
STZ sonrası 72. saatte	78,1 \pm 5,8	77,5 \pm 4,4	75,0 \pm 5,0	476 \pm 120,1***	529,6 \pm 96,7*	572,7 \pm 56,6*
2. hafta	76,1 \pm 6,2	77,7 \pm 6,1	75,3 \pm 5,7	532,6 \pm 85,5***	497,1 \pm 92,2	412 \pm 64,8+
4. hafta	76,8 \pm 6,9	77,1 \pm 5,7	74,6 \pm 5,7	583,5 \pm 40,2***	466,6 \pm 73,9 ⁺	410,8 \pm 85,1 ⁺⁺⁺
6. hafta	79,8 \pm 3,1	76,1 \pm 3,6	73,7 \pm 6,6	559,6 \pm 49,4***	428,2 \pm 78,9 ⁺⁺⁺	405,2 \pm 35,6 ⁺⁺⁺
8. hafta	76,8 \pm 7,9	74,3 \pm 9,5	83,1 \pm 8,1	579,1 \pm 32,1***	431,6 \pm 44,4 ⁺⁺⁺	367,1 \pm 81,9 ⁺⁺⁺

* SK grubuyla kıyaslandığında *** $p < 0,001$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺ $p < 0,05$ ⁺⁺⁺ $p < 0,001$

DMK ve SK grupları karşılaştırılmış; STZ enjeksiyonu sonrası yapılan tüm ölçümlerde, DMK grubunun kan glikoz düzeylerinin SK grubuna anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).

DM+SLB30 grubunun kan glikoz düzeyleri, 4., 6., ve 8. haftada yapılan ölçümlerde, DMK grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). DM+SLB60 grubuna ait kan glikoz düzeyleri ise 2., 4., 6., ve 8. haftada yapılan ölçümlerde DMK grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları arasında kan glikoz düzeyleri açısından anlamlı fark görülmemiştir.

SK, SLB30 ve SLB60 gruplarının kan glikoz düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

4.3. İnsülin Bulguları

Deney bitiminde sıçanlardan alınan kanlardan ELISA ile ölçülen insülin değerleri Tablo 4.3'te, sonuçları gösteren grafik ise Şekil 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Kan insülin değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	SK	SLB30	SLB60	DMK	DM +SLB30	DM +SLB60
İnsülin (μ IU/ml)	10,9 \pm 0,5	10,8 \pm 0,5	10,6 \pm 0,5	6,1 \pm 0,4 ^{***}	8,4 \pm 0,6 ⁺⁺⁺	8,6 \pm 0,7 ⁺⁺⁺

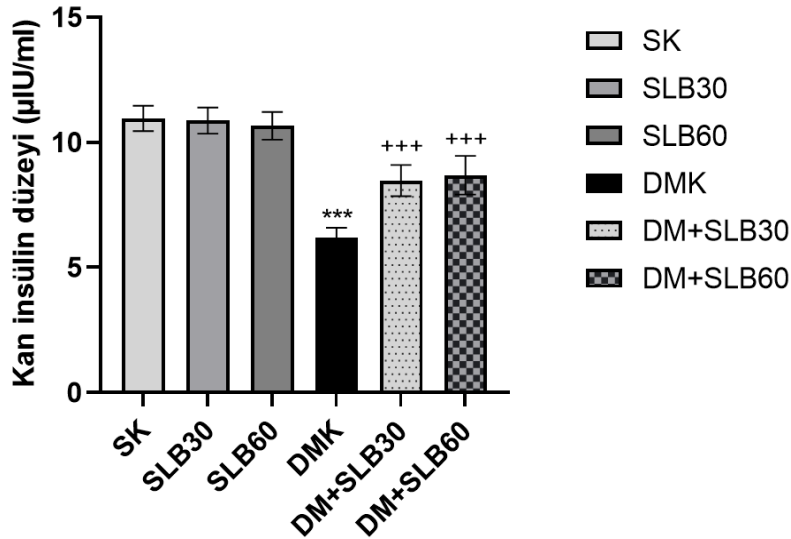
* SK grubuyla kıyaslandığında ^{***} $p < 0,001$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺⁺⁺ $p < 0,001$

DMK grubunun insülin düzeyleri SK grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0,001$).

Silibinin tedavisi alan DM+SLB30 ve DM+SLB60 grubunun insülin düzeylerinin DMK grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır ($p < 0,001$). DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları arasında insülin değerleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

SK, SLB30 ve SLB60 gruplarının insülin değerleri arasında anlamlı fark yoktur.



Şekil 4.1. Grupların kan insülin düzeyleri

* SK grubuyla kıyaslandığında ^{***} $p < 0,001$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺⁺⁺ $p < 0,001$

4.4. HbA_{1c} Bulguları

Deney sonunda sıçanlardan alınan kandan HbA_{1c} düzeyleri HPLC cihazı ile ölçülmüş; elde edilen değerler Tablo 4.4'te, sonuçları gösteren grafik Şekil 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.4. HbA_{1c} değerleri (Ortalama ± SS)

Gruplar	SK	SLB30	SLB60	DMK	DM +SLB30	DM +SLB60
HbA _{1c} (%)	4,2±0,1	4,1±0,1	4,1±0,1	10,9±0,5 ^{***}	8,6±1,1 ⁺⁺⁺	8,0±1,4 ⁺⁺⁺

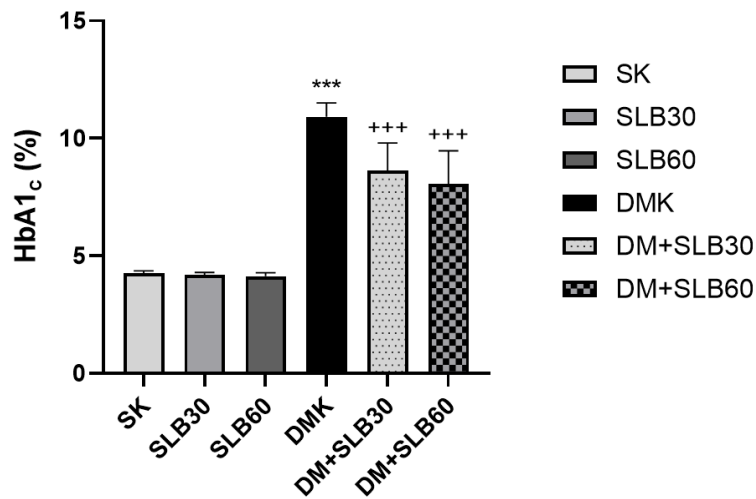
* SK grubuyla kıyaslandığında ^{***} $p < 0,001$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺⁺⁺ $p < 0,001$

DMK grubunun HbA_{1c} düzeyleri, SK grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).

DeneySEL T1DM oluşturulup silibinin tedavisi almış olan DM+SLB30 ve DM+SLB60 gruplarının HbA_{1c} seviyeleri, DMK grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p < 0,001$). DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları arasında HbA_{1c} değerleri açısından anlamlı fark görülmemiştir.

SK, SLB30 ve SLB60 gruplarının HbA_{1c} değerleri arasında anlamlı fark yoktur.



Şekil 4.2. HbA_{1c} (%) düzeyleri

* SK grubuyla kıyaslandığında ^{***} $p < 0,001$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺⁺⁺ $p < 0,001$

4.5. İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları

Deney sonunda disseke edilen pankreas dokuları %10 formaldehit içerisinde fikse edilmiştir. Pankreas dokuları, sıçan insülin antikoru ile boyanmış ve immunohistokimyasal olarak incelenmiştir. Boyanan Langerhans adacıklarından alınan görüntüler boyama yoğunluğuna göre 0 (negatif), + (zayıf), ++, (orta) ve +++ (kuvvetli) immün reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Adacıklar boyanma yaygınlığına göre ise 0 (yok), fokal (<%50) ve difüz (≥%50) olarak değerlendirilmiştir.

SK ve DMK grupları karşılaştırıldığında, DMK grubunun boyanma şiddeti ve yaygınlığı açısından anlamlı olarak daha düşük skorlara sahip olduğu görülmüştür ($p<0,001$).

DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları boyanma şiddeti ve yaygınlığı açısından DMK grubuna göre daha yüksek skorlara sahiptir ($p<0,05$). DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır.

SK, SLB30 ve SLB60 grupları arasında boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı açısından fark bulunmamıştır.

Pankreasların boyanma şiddetine göre gruplar arası dağılımı Tablo 4.5'te, boyanma yaygınlığına göre gruplar arası dağılımı Tablo 4.6'da verilmiştir.

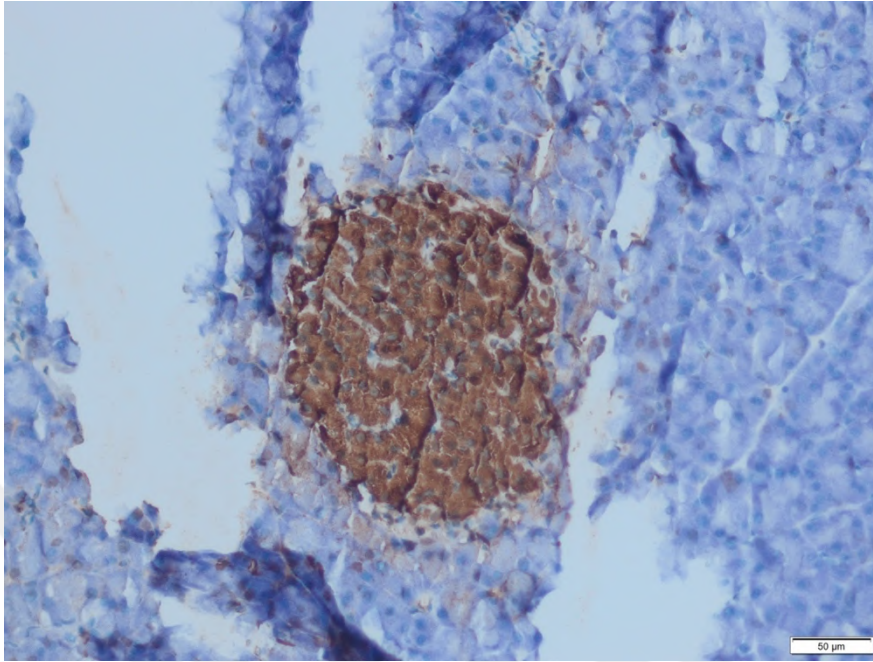
Tablo 4.5. Pankreasların boyanma şiddetine göre gruplar arası dağılımı

Gruplar	SK	SLB30	SLB60	DMK	DM +SLB30	DM +SLB60
Zayıf	-	-	-	%87,5 n=7	%25 n=2	%12,5 n=1
Orta	-	-	-	%12,5 n=1	%62,5 n=5	%62,5 n=5
Kuvvetli	%100 n=8	%100 n=8	%100 n=8	-	%12,5 n=1	%25 n=2

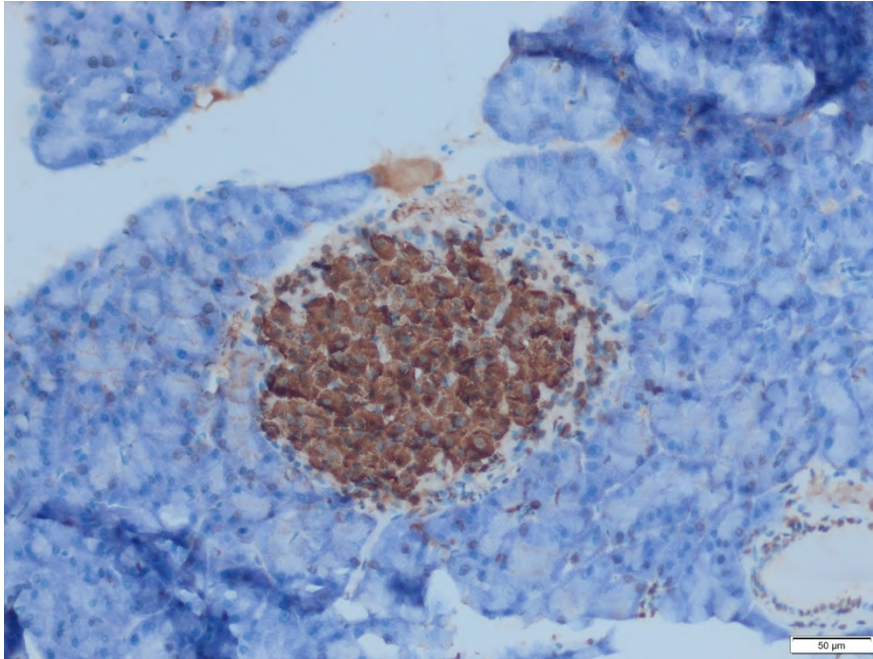
Tablo 4.6. Pankreasların boyanma yaygınlığına göre gruplar arası dağılımı

Gruplar	SK	SLB30	SLB60	DMK	DM +SLB30	DM +SLB60
Fokal (<%50)	-	-	-	%100 n=8	%50 n=4	%75 n=2
Difüz (≥%50)	%100 n=8	%100 n=8	%100 n=8	-	%50 n=4	%75 n=6

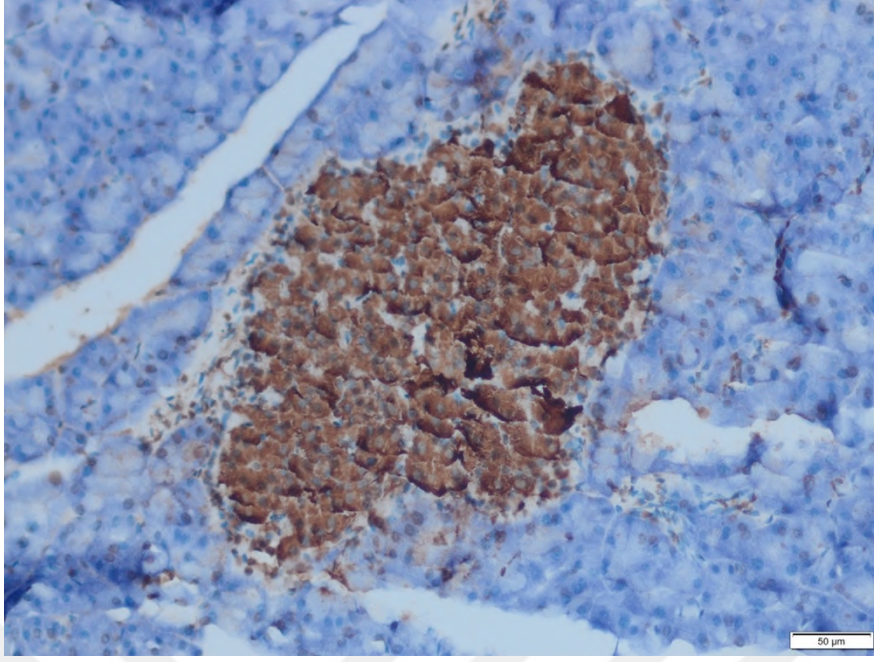
Deney gruplarına ait mikroskop görüntüleri Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de verilmiştir.



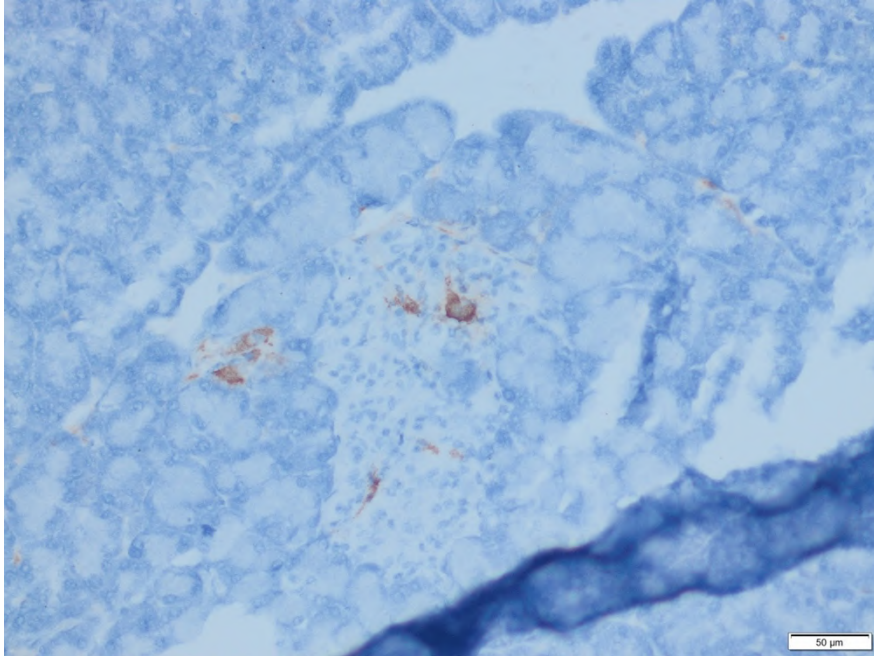
Şekil 4.3. SK grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile +++ (kuvvetli) şiddette ve diffüz (≥ 50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf



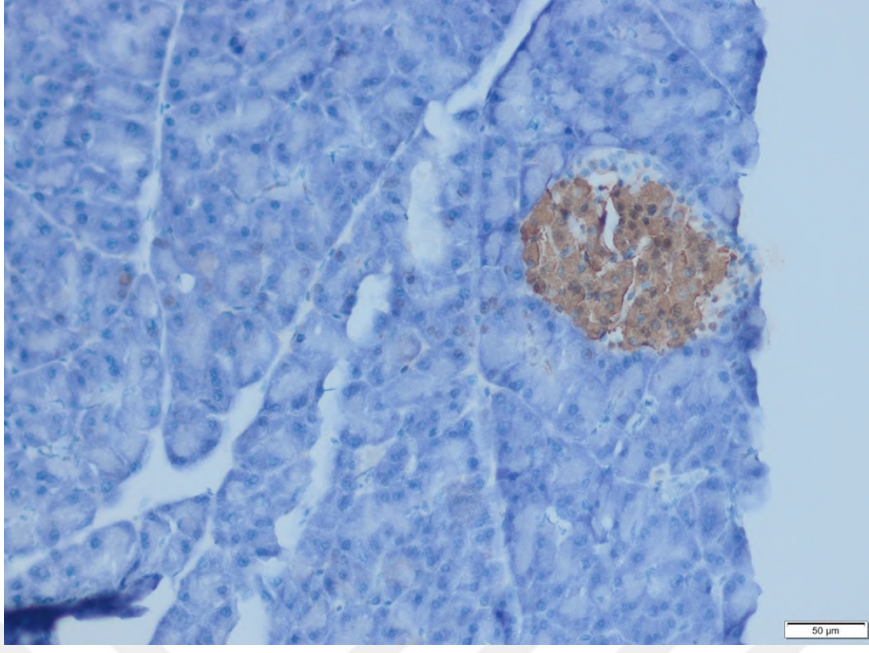
Şekil 4.4. SLB30 grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile +++ (kuvvetli) şiddette ve diffüz (≥ 50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf



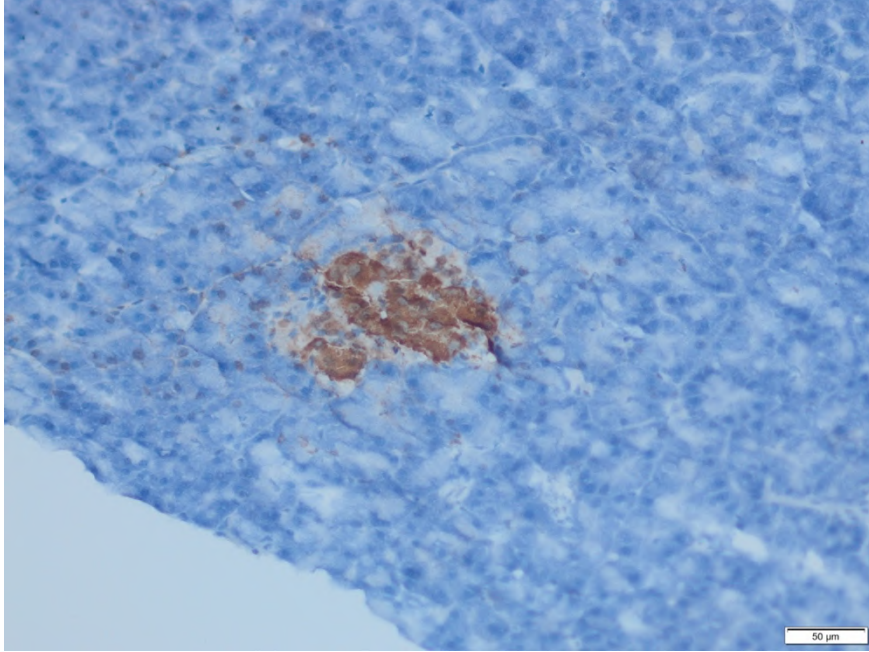
Şekil 4.5. SLB60 grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile +++ (kuvvetli) şiddette ve diffüz (≥ 50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf



Şekil 4.6. DMK grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile + (zayıf) şiddette ve fokal (< 50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf



Şekil 4.7. DM+SLB30 grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile ++ (orta) şiddette ve diffüz (\geq %50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf



Şekil 4.8. DM+SLB60 grubuna ait immünohistokimyasal olarak insülin boyanma ile ++ (orta) şiddette ve diffüz (\geq %50) yaygınlık ile boyanma gösteren fotoğraf

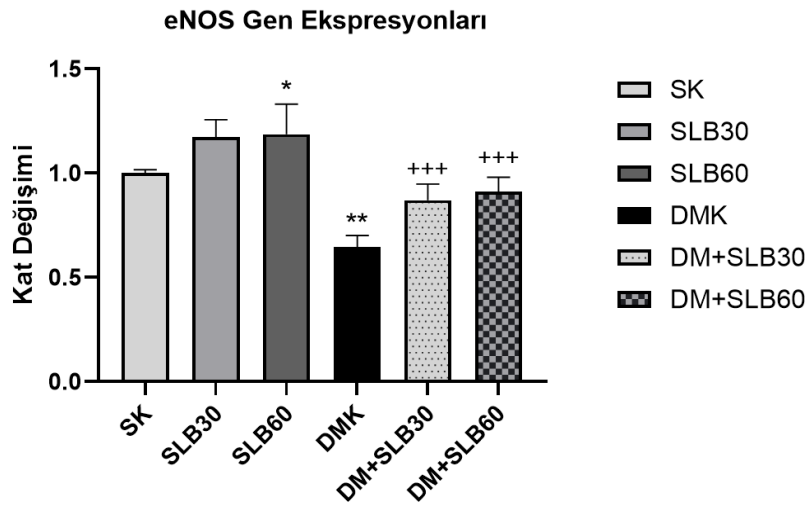
4.6. eNOS ve VCAM-1 Gen Ekspresyonlarına Ait Bulgular

Sıçanlardan disseke edilen torasik aort dokularının VCAM-1 ve eNOS mRNA seviyeleri qRT-PCR ile ölçülmüştür.

DMK grubunun eNOS gen ekspresyonları SK grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,01$). Hem DM+SLB30 hem de DK+SLB60 grubunun eNOS gen ekspresyon düzeyleri DMK grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,001$). DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları arasında ise anlamlı bir fark görülmemiştir.

Sağlıklı gruplardaki sıçanlar karşılaştırıldığında; SLB60 grubunun eNOS gen ekspresyonları SK grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). SK - SLB30 ve SLB30 - SLB60 grupları arasında ise anlamlı bir fark yoktur.

Grupların eNOS kat değişimleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. eNOS gen ekspresyonlarına ait kat değişimleri

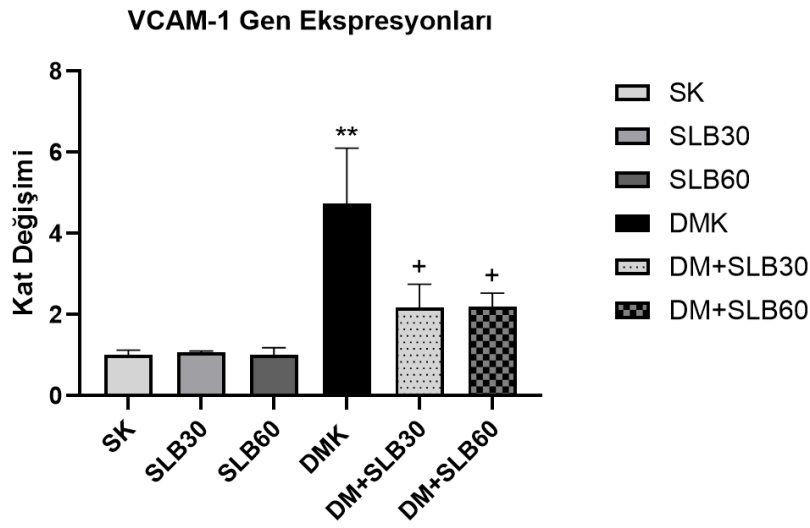
* SK grubuyla kıyaslandığında * $p<0,05$ ** $p<0,01$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında +++ $p<0,001$

DMK grubunun VCAM-1 gen ekspresyonları, SK grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Hem DM+SLB30 hem de DM+SLB60 grubunun VCAM-1 gen ekspresyon düzeyleri, DMK grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p<0,05$). DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları karşılaştırıldığında, iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

SK, SLB30 ve SLB60 grupları arasında VCAM-1 gen ekspresyon düzeyleri arasında fark yoktur.

Grupların VCAM-1 gen ekspresyon düzeylerine ait grafik Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. VCAM-1 gen ekspresyonlarına ait kat değişimleri

* SK grubuyla kıyaslandığında ** $p<0,01$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında + $p<0,05$

4.7. İzole Organ Banyosundan Elde Edilen E_{max} ve pD_2 Değerlerine Ait Bulgular

Çalışmadaki diyabetli ve sağlıklı gruplarda FE ile alınan kasılma cevapları aynı dokudaki KCl kasılmaları ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Banyoya 10^{-5} M FE ilavesi dokularda tekrarlanabilir nitelikte ve zamana bağlı değişim göstermeyen kasılma cevapları oluşturmuştur.

Araştırma sonunda sakrifiye edilen sıçanların torasik aortlarına 10^{-5} M FE uygulanarak kasılma, 10^{-9} M - 10^{-5} M kümülatif ACh uygulanarak alınan maksimum gevşeme yanıtları (E_{max}) yanıtlarına ait değerler Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. İzole organ banyosundan elde edilen E_{max} değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	SK	SLB30	SLB60	DMK	DM +SLB30	DM +SLB60
E_{max}	87,24 \pm 3,85	84,75 \pm 2,24	89,57 \pm 4,11	53,93 \pm 3,51 ^{***}	73,54 \pm 2,67 ⁺⁺⁺	71,85 \pm 4,44 ⁺⁺⁺

* SK grubuyla kıyaslandığında ^{***} $p < 0,001$

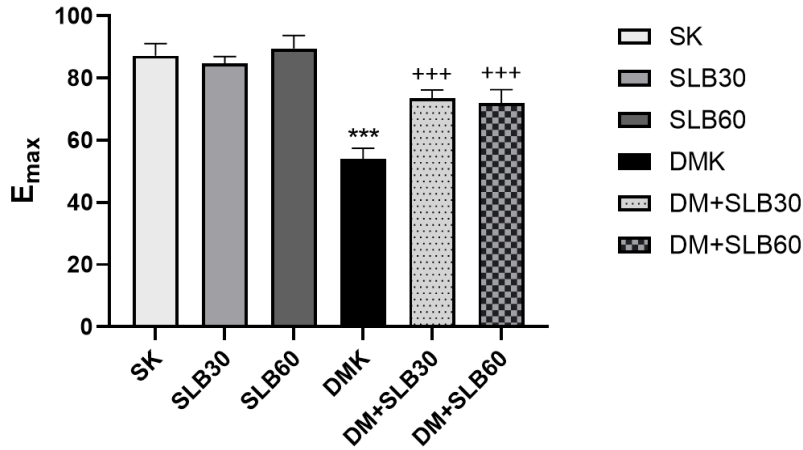
+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺⁺⁺ $p < 0,001$

DMK grubunun E_{max} değerleri, SK grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p < 0,001$).

T1DM oluşturulup silibinin tedavisi uygulanan DM+SLB30 ve DM+SLB60 gruplarının E_{max} değerleri, DMK grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları arasında E_{max} değeri açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

SK, SLB30 ve SLB60 grupları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır.

Grupların E_{max} değerlerini gösteren grafik Şekil 4.11’de verilmiştir.



Şekil 4.11. İzole organ banyosundan elde edilen E_{max} düzeyleri

* SK grubuyla kıyaslandığında ^{***} $p < 0,001$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺⁺⁺ $p < 0,001$

İzole organ banyosunda FE kasılmasına alınan ACh gevşeme yanıtlarına ait pD₂ değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. İzole organ banyosundan elde edilen pD₂ değerleri (Ortalama ± SS)

Gruplar	SK	SLB30	SLB60	DMK	DM +SLB30	DM +SLB60
pD ₂	7,38±0,22	7,41±0,09	7,35±0,17	6,50±0,17***	6,97±0,08 ⁺⁺	6,97±0,07 ⁺⁺

* SK grubuyla kıyaslandığında *** $p < 0,001$

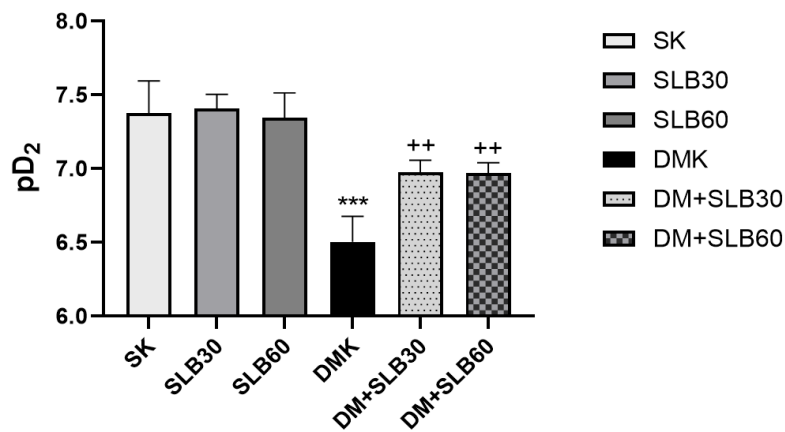
+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺⁺ $p < 0,01$

DMK ve SK grubunun pD₂ değerleri kıyaslanmış, DMK grubunun pD₂ değeri anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p < 0,001$).

Hem DM+SLB30 hem DM+SLB60 grubunun pD₂ değerleri DMK grubu göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,01$). DM+SLB30 ve DM+SLB60 grupları arasında pD₂ değerleri açısından anlamlı fark yoktur.

SK, SLB30 ve SLB60 grupları arasında pD₂ değerleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

Grupların pD₂ değerlerini gösteren grafik Şekil 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4.12. İzole organ banyosundan elde edilen pD₂ değerleri

* SK grubuyla kıyaslandığında *** $p < 0,001$

+ DMK grubuyla kıyaslandığında ⁺⁺ $p < 0,01$

5. TARTIŞMA

DM tedavisinde kullanılan farklı farmakolojik alternatifler olmasına rağmen tedavide her zaman istenen başarı sağlanamamaktadır. Bu durum DM hastalarının geleneksel tedaviye ek olarak “tamamlayıcı” tıbbi alternatiflere yönelmesine yol açmaktadır (Grossman ve ark., 2018; National Center for Complementary and Integrative Health (NCCIH)). Geleneksel bitkisel tıbbi ürünleri içeren takviye gıdalar, sağlıklı ve DM’li bireyler tarafından sıkça kullanılmaktadır (McKennon, 2021). Silimarin, *S.marianum* bitkisinin tohumlarından elde edilen, bitkinin temel bileşenlerinden biridir. Bu çalışmada sağlıklı ve deneysel T1DM oluşturulan sıçanlarda silimarin’in biyoaktif izomeri olan silibinin’in antidiyabetik ve endotel disfonksiyon üzerine etkileri araştırılmıştır.

Bu çalışmada silibinin tedavisi 30 ve 60 mg/kg/gün (i.p) olmak üzere iki farklı dozda sağlıklı ve T1DM’li sıçanlara 8 hafta boyunca verilmiştir. Silibinin tedavisi STZ ile T1DM oluşturulan sıçanlarda gelişen hiperglisemi ve HbA_{1c} düzeylerini azaltmış, kandaki insülin seviyelerini ise artırmıştır. Bunun yanında silibinin tedavisi alan T1DM’li sıçanların DMK’ya göre pankreas dokularında insülin antikoruyla boyanma şiddeti ve yaygınlığının arttığı, eNOS ekspresyonunun arttığı ve VCAM-1 ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur. eNOS ekspresyonundaki artışla paralel olarak ACh, T1DM’li silibinin tedavi gruplarının aort dokularında DMK’ya göre daha fazla gevşeme oluşturmuştur. Çalışmada yüksek doz silibinin tedavisi alan sağlıklı sıçanların eNOS ekspresyonlarında artış görülmüştür.

STZ, pankreasta β hücrelerini seçici bir şekilde yıkıma uğratması nedeniyle deneysel T1DM modeli oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. STZ uygulanan sıçanlarda hipoinsülinemi ve hipergliseminin yanı sıra T1DM’nin tipik özelliklerden olan vücut ağırlığında azalma da görülmektedir (Furman, 2015). Araştırmamızda DMK grubundaki sıçanların ağırlığı SK grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Hem T1DM oluşturulmuş sıçanlara hem de sağlıklı sıçanlara uygulanan silibinin tedavisinin canlı ağırlık üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır. T1DM’li sıçanlarda yapılan diğer bir çalışmada 4 hafta boyunca uygulanan 100 ve 200 mg/kg/gün (p.o.) silibinin tedavisi ağırlık üzerinde anlamlı değişiklik oluşturmamıştır (Toğay ve ark., 2018). Buna karşın Jain ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada STZ ile T1DM oluşturulmuş sıçanlara 28 gün boyunca 20, 40, 80 mg/kg/gün silibinin verilmiştir. 20 mg/kg/gün silibinin tedavisi vücut ağırlığında anlamlı bir fark oluşturmazken, 40 ve 80 mg/kg/gün silibinin tedavisinin, diyabet kontrol grubuna göre vücut ağırlığında anlamlı artışa neden olduğu görülmüştür (Jain ve ark., 2016).

Bu bulgular silibinin'in diyabetli sıçanların ağırlık üzerine etkilerinin doza, uygulaması süresine ve deneysel prosedürlerdeki farklılıklara bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir.

Sıçanlara STZ uygulanmasıyla oluşturulan T1DM modelinde β hücre hasarı sonucu hipoinsülinemi ve hiperglisemi geliştiği bilinmektedir (Furman, 2015). Çalışmamızda DM+SLB30 grubunda 4. haftadan itibaren, DM+SLB60 grubunda 2. haftadan itibaren yapılan ölçümlerde, DMK grubundaki sıçanların kan glikoz düzeylerine göre anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Bu sonuç, çalışmamızdaki yüksek silibinin dozunun hiperglisemi üzerine daha kısa sürede etkili olduğunu göstermektedir. Silibinin'in T1DM'ye bağlı hiperglisemi üzerine etkilerinin araştırıldığı diğer çalışmalarda doz ve tedavi süreleri farklı olan deneysel prosedürler uygulanmıştır. Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada STZ verilmesinden sonra sıçanlar 12 hafta boyunca 50 ve 100 mg/kg/gün (p.o) silibinin ile tedavi edilmiş; bu süre sonunda düşük doz silibinin verilen grupta kan glikoz düzeyi diyabet kontrol grubu ile benzer bulunmuş; 100 mg/kg/gün silibinin ile tedavi edilen sıçanlarda ise kan glikoz düzeyleri 5. haftadan itibaren anlamlı azalma göstermiştir (Wang ve ark., 2017). Diğer bir çalışmada ise günlük 20, 40 ve 80 mg/kg silibinin ile tedavi edilen sıçanlarda 7 günlük tedavi sonrası hiperglisemide azalma saptanmıştır (Jain ve ark., 2016). Silibinin'in antihiperglisemik etkisi uygulama süresine ve doza bağlı olarak değişmektedir.

Çalışmamızda sağlıklı ve T1DM'li sıçanlarda silibinin tedavisinin kan insülin düzeyleri üzerine etkisi incelenmiştir. T1DM oluşturulan sıçanlarda gözlenen insülin düzeyindeki azalma 30 ve 60 mg/kg/gün silibinin ile tedavi edilen gruplarda artış göstermiş ve insülin düzeyleri açısından dozlar arasında fark bulunmamıştır. Bulgularımızla uyumlu olarak Das ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 50 mg/kg/gün (i.p) silibinin tedavisi STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların insülin seviyelerini anlamlı olarak artırmıştır (Das ve ark., 2014). Diğer bir çalışmada ise Soto ve arkadaşları kısmi pankreatektomi yaptıkları sıçanlara 3, 7, 14, 21, 42 ve 63 gün süre ile 200 mg/kg/gün (p.o.) dozda silibinin tedavisi uygulamışlardır. 21, 42 ve 63 gün boyunca silibinin tedavisi alan sıçanların serum insülin düzeylerinde anlamlı artış olduğunu belirtmişlerdir. (Soto ve ark., 2014). T1DM oluşturulmayan SK, SLB30 ve SLB60 grupları arasında insülin değerleri açısından anlamlı fark yoktur.

HbA_{1c}, önceki iki veya üç ayın kümülatif glisemik seyrini yansıtır ve uzun süreli glisemik kontrolde önemli bir göstergedir (Sherwani ve ark., 2016). Ayrıca diyabette mikro

ve makrovasküler komplikasyon gelişme riskini değerlendirmek, hiperglisemi ve glikozidasyona bağlı kümülatif hasarı değerlendirmek için kullanılmaktadır (Lyons ve Basu, 2012; Monnier ve ark., 2005). İnsülin direnci veya hiperlipidemisi olan kişilerde silimarin içeren gıda takviyelerinin etkilerinin araştırıldığı on altı çalışmanın (n=1358) dahil edildiği bir meta-analizde, silimarinin açlık kan şekeri seviyeleri ve HbA_{1c} seviyelerinin belirgin bir advers etki olmaksızın plaseboya göre anlamlı olarak azalttığı yayınlanmıştır (Xiao ve ark., 2020). Silimarinin aktif komponenti olan silibininle çalışmalar az sayıdadır. Jain ve arkadaşlarının yaptığı deneysel bir çalışmada T1DM'li sıçanlara 28 gün süreyle 20, 40 ve 80 mg/kg/gün (p.o.) silibinin tedavisi uygulamış, 40 ve 80 mg/kg dozlarının HbA_{1c} düzeylerinin diyabet kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşürdüğünü gösterilmiştir (Jain ve ark., 2016). Çalışmamızda STZ ile T1DM oluşturulmuş sıçanlarda HbA_{1c} seviyelerinin SK'ya göre anlamlı olarak yükseldiği görülmüştür. T1DM'li sıçanlara uygulanan 30 ve 60 mg/kg silibinin tedavisinin, HbA_{1c} seviyelerini DMK'ya göre anlamlı olarak azaltmıştır ancak iki doz arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. SLB30 ve SLB60 gruplarının HbA_{1c} seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Çalışmamızda T1DM'li sıçanlarda silibinin'in her iki dozda da insülin düzeyini artırması, hiperglisemiyi ve HbA_{1c} düzeyini azaltması antidiyabetik etki potansiyeli olduğunu göstermektedir. Silibinin'in antidiyabetik etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir; bu konuda sınırlı sayıda araştırma mevcuttur. Xu ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada silibinin'in bağırsakta GLP-1 ekspresyonunu artırdığını ve hepatik glikoz üretimini azalttığını sonucuna varmışlardır (Xu et al., 2018). Yapılan bir çalışmada silibinin'in antioksidan etkilerinin yanı sıra mitokondriyal ROS oluşumunu azaltabileceği ve izole hepatositlerde piruvat kinazı inhibe ederek karbonhidratlardan glikolizi doza bağlı olarak azalttığı öne sürülmüştür (Detaille ve ark., 2008). Yang ve arkadaşları ise silibinin'in α -amilaz/ α -glukozidaz üzerine güçlü inhibitör etki gösterdiğini saptamıştır (Yang ve ark., 2021).

STZ etkisinin bir sonucu olarak, pankreas β hücreleri yıkıma uğrar. STZ ile DM oluşturulmuş sıçanlarda Langerhans adacıklarının sayısı ve boyutu azalır ayrıca insülin immünoreaktivitesi de azalmaktadır (Svíglerova ve ark., 2017; Szkudelski, 2001). Çalışmamızda insülin antikoruyla boyanan pankreas β hücrelerinin boyanma şiddetini ve yaygınlığı, STZ ile T1DM oluşturulan DMK grubunda, SK grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Her iki dozda silibinin uygulaması da DMK'ya göre pankreas insülin immün pozitif β hücre popülasyonunu artırmıştır. Pankreas β hücrelerinin boyanma şiddeti ve

yaygınlığı DM+SLB60 grubunda DM+SLB30 grubuna göre hafif artış göstermiş olsa da bu fark anlamlı bulunmamıştır. Soto ve arkadaşları kısmi pankreatektomi yaptıkları sıçanlarda 200 mg/kg/gün (p.o.) dozda silibinin tedavisinin β hücre neogenezinde de anlamlı artış bildirmişlerdir. (Soto ve ark., 2014). Chu ve arkadaşları 4 hafta boyunca 100 mg/kg/gün (p.o) silibinin uygulamasının T2DM'li sıçanlarda pankreatik β hücre sayısını artırdığını saptamışlardır (Chu ve ark., 2020). Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda silibinin'in diyabette hasarlanan beta hücre fonksiyonlarını iyileştirme potansiyeli olduğu düşünülebilir.

DM sonucunda ortaya çıkan endotel disfonksiyon nedeniyle hücresel adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artış görülmekte ve bu süreç aterogeneze neden olmaktadır (Beckman ve ark., 2002). VCAM-1, sitokinler tarafından indüklenen ve ateroskleroz gelişiminde lökositlerin vasküler endotele yapışmasına neden olan bir hücresel adezyon molekülüdür. T1DM'li adolesanlarda VCAM-1 düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. VCAM-1 ekspresyonunun inhibe edilmesi potansiyel bir antiinflamatuvar terapötik hedef olarak araştırılmaktadır (Glowinska ve ark., 2005; Preiss ve Sattar, 2007). Çalışmamızda DMK grubunun SK grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek VCAM-1 düzeylerine sahip olduğu görülmüştür. T1DM'li gruplarda iki farklı dozda silibinin tedavisi uygulanan sıçan aortalarında VCAM-1 ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. Bu bulgu silibinin VCAM-1 düzeyini azaltarak endotel disfonksiyonu önleme potansiyeli olabileceğini göstermektedir. T1DM modeli oluşturulan hayvan çalışmalarında silibininin VCAM-1 düzeyi üzerine etkisi ile ilgili literatürde bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak silimarin (50 ve 100 mg/kg/gün) ile 2 ay süre ile tedavi edilen T1DM'li sıçanlarda, her iki dozda da VCAM-1 ekspresyonlarının kontrol grubuna göre azaldığı gösterilmiştir (Karimi ve ark., 2022). Ayrıca Kang ve arkadaşları da silimarinin, VCAM-1, ICAM-1 ve E-selektin gibi hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir (Kang ve ark., 2003). Postmenopozal dönemde ortaya çıkan vasküler disfonksiyon kaynaklı ateroskleroza araştırmak için yapılan bir çalışmada, overektomi yapılmış dişi sıçanlara 8 hafta 50 mg/kg/gün (p.o.) silibinin uygulaması, VCAM-1 düzeylerini anlamlı olarak azaltmıştır (Maleki ve ark., 2022).

Endotelde, L-arjininden eNOS aracılığıyla sentezlenen NO, endojen ve eksojen maddelerin vazodilatör etkilerine aracılık etmekte ve vasküler tonusun düzenlenmesine önemli katkı sağlamaktadır (Deanfield ve ark., 2007). Hiperglisemi, endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde eNOS aktivasyonunu bloke etmekte ve süperoksit anyonu (O_2^-) gibi reaktif

oksijen türlerinin üretilmesini artırarak NO üretimini inhibe etmektedir (Doulias ve Tenopoulou, 2020). Hiperglisemi sonucu NO'nun azalması, vasküler hemostazın bozulmasına ve endotel disfonksiyona neden olmaktadır. Çalışmamızda DMK grubu sıçanların aort dokularında eNOS gen ekspresyonu SK grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Ancak silibinin tedavisi alan T1DM'li gruplarda DMK grubuna göre eNOS gen ekspresyonlarında anlamlı artış olduğu görülmüştür. DM+SLB30 ve DM+SLB60 dozları arasında eNOS ekspresyonları açısından fark bulunmamıştır. Bulgularımız silibinin'in her iki dozda da diyabetli sıçanlarda gelişen endotel disfonksiyona karşı koruyucu etkisi olabileceğini göstermektedir. Literatürde T1DM'deki eNOS gen ekspresyonu üzerine silibinin'in etkileri ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Ancak postmenopozal dönemde ortaya çıkan vasküler disfonksiyon kaynaklı aterosklerozu araştırmak için ovariectomi yapılmış dişi sıçanlara 8 hafta 50 mg/kg/gün (p.o.) silibinin uygulamasının eNOS düzeylerini anlamlı olarak artırdığı gösterilmiştir (Maleki ve ark., 2022). Diğer bir çalışmada ise hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulmuş sıçanlara 60 mg/kg (i.p) silibinin uygulanması eNOS ekspresyonlarını artırmış olsa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Akbari-Kordkheyli ve ark., 2019). Ayrıca çalışmamızda sağlıklı sıçanlarda da 60 mg/kg dozunda uygulanan silibinin SK grubuna göre eNOS gen ekspresyonunu anlamlı olarak artırmıştır. Bu bulgu silibinin'in, sağlıklı bireylerde herhangi bir sebeple ortaya çıkabilecek endotel disfonksiyona karşı koruyucu potansiyelinin olduğunu düşündürmektedir.

İzole organ banyosunda yapılan deneylerde, α_1 -adrenerjik reseptörlerinin kan basıncı düzenlenmesinde önemli rolü olması ve α_1 agonisti olan fenilefrin (FE) endotel ile etkileşmeden hızlı ve potent bir etki göstermesi nedeniyle kasıcı ajan olarak FE kullanılmıştır. Hayvanlarda diyabet oluşturulması FE ile alınan maksimum kasılma cevaplarını etkilememiştir. ACh'nin vazodilatör etkilerine endotelden salıverilen NO'un aracılık ettiği ve diyabette gelişen endotel disfonksiyonun, ACh'nin damarlarda endotel bağımlı gevşetici etkisini azalttığı bilinmektedir (Johnstone ve ark., 1993). Çalışmamızda DMK grubu sıçanların aortalarında ACh ile alınan maksimum gevşeme cevapları SK grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Silibinin ile tedavi edilen diyabetli gruplarda ise her iki dozda da benzer oranda ACh'nin gevşetici etkisinin arttığı görülmüştür. T1DM'li gruplarda silibinin tedavisinin hem eNOS gen ekspresyonunu hem de ACh'ye bağlı NO aracılı gevşeme yanıtlarını artırması; diyabette gelişen endotel disfonksiyona karşı koruyucu etkisi olabileceğini göstermektedir. Bir çalışmada silibinin'in endotel disfonksiyon üzerine etkilerini incelemek amacıyla, NOS'un endojen bir inhibitörü olan asimetrik dimetilarginin (ADMA)

seviyelerini ölçmüşlerdir. Dört hafta boyunca db/db farelere 20 mg/kg/gün (i.p) silibinin uygulamasının, ACh'ye verilen gevşeme yanıtlarını artırdığını, plazma ve vasküler ADMA seviyelerini azalttığını bulmuşlardır (Li Volti ve ark., 2011). Başka bir çalışmada ise yüksek glikoz düzeylerine bağlı oksidatif strese karşı *S. marianum*'un endotel hücreleri üzerine koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. Araştırmacılar azalan glutasyon ve artan protein karbonil seviyelerini düzelterek endotel hücrelerini oksidatif hasara karşı koruduğunu öne sürmüşlerdir (Palomino ve ark., 2017).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında sağlıklı ve STZ ile DM oluşturulan sıçanlara iki farklı dozda silibinin uygulanmıştır. DM'li sıçanlara uygulanan silibinin tedavisinin kandaki insülin seviyelerini yükselttiği, hiperglisemiyi ve HbA_{1c} düzeylerini azalttığı, pankreas dokularında ise insülin ile boyanma şiddeti ve yaygınlığı arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca aort dokusunda ACh'ye bağlı gevşemede artma, VCAM-1 gen ekspresyonunda azalma, eNOS gen ekspresyonunda ise artma gözlenmiştir. Sağlıklı sıçanlarda ise silibinin eNOS gen ekspresyonlarını artırmıştır.

S. marianum, uzun yıllardır başta hepatoprotektif olmak üzere çeşitli amaçlarla kullanılan geleneksel bitkisel tıbbi bir üründür. Silibinin, *S. marianum* bitkisinin en önemli bileşenlerinden biridir ve antidiyabetik etkinliğinin gösterildiği çeşitli araştırmalar mevcuttur. Bu araştırma hem sağlıklı hem T1DM'li sıçanlarda silibinin'in pankreas ve endotel disfonksiyon üzerine etkilerinin incelendiği ilk çalışma niteliğindedir.

Silibinin'in, T1DM'li sıçanlarda kan glikoz ve HbA_{1c} düzeylerini azaltması ve insülin seviyelerini artırması antihiperglisemik etkileri olduğunu göstermektedir. Buna paralel olarak silibinin, pankreas dokularında insülin boyanma şiddeti ve yaygınlığını artırmış; STZ'ye bağlı pankreas β hücre hasarını iyileştirici etki oluşturmuştur. Silibinin'in, antihiperglisemik etki mekanizmalarından biri pankreas üzerine gösterdiği koruyucu etkinlik olabilir, etki mekanizmalarının aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

NO, vasküler hemostazın sürdürülmesinde önemli bir role sahip, kan damarlarını aterogeneze karşı koruyan bir vazodilatördür. eNOS, endotelden NO salıverilmesini düzenler, silibinin'in T1DM'li sıçan aortlarında eNOS gen ekspresyonlarını artırması DM'de bozulan NO aracılı gevşemeyi iyileştirebileceğini göstermektedir. Aort dokularında ACh gevşemelerinde görülen artış da bu durumu destekler niteliktedir. VCAM-1, endotel disfonksiyonun erken belirteçlerinden olan bir hücresel adezyon molekülüdür. Silibinin'in, VCAM-1 gen ekspresyonlarını azaltması vasküler yapıda antiinflamatuvar etkinlik göstererek endotel disfonksiyona karşı koruyucu etki potansiyeli olabileceğini ortaya koymaktadır.

Sağlıklı sıçanlarda eNOS gen ekspresyonlarını artırması herhangi bir nedenle gelişebilecek endotel disfonksiyona karşı koruyucu etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında silibinin'in antidiyabetik etkinliği ve başta endotel disfonksiyon olmak üzere diyabetin neden olduğu mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlara karşı koruyucu etkinlik gösterebileceği ortaya konmuştur. Ancak bu etkilerin ve mekanizmalarının, daha net ortaya konulabilmesi için farklı doz ve sürelerde silibinin uygulanan çalışmalarla desteklenmesi uygun olacaktır.



7. KAYNAKLAR

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

Akbari-Kordkheyli, V., Azizi, S., & Khonakdar-Tarsi, A. (2019). Effects of silibinin on hepatic warm ischemia-reperfusion injury in the rat model. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.34967.8313>

American Diabetes Association. (2009). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 31(1), 62-67. <https://doi.org/10.2337/dc09-S062>

American Diabetes Association. (2015). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 38. <https://doi.org/10.2337/dc15-S001>

American Diabetes Association. (2021). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes-2021. *Diabetes Care*, 44(1), 15-33. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>

Bahmani, M., Shirzad, H., Rafieian, S., & Rafieian-Kopaei, M. (2015). Silybum marianum: Beyond hepatoprotection. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 20(4), 292-301. <https://doi.org/10.1177/2156587215571116>

Baynest, H. W. (2015). Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 6(5). <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541>

Beckman, J. A., Creager, M. A., & Libby, P. (2002). Diabetes and atherosclerosis epidemiology, pathophysiology, and management. *Journal of the American Medical Association*, 287(19), 2570-2581. <https://doi.org/10.1001/jama.287.19.2570>

Binienda, A., Ziolkowska, S., & Pluciennik, E. (2019). The anticancer properties of silibinin: Its molecular mechanism and therapeutic effect in breast cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 20(15), 1787-1796. <https://doi.org/10.2174/1871520620666191220142741>

Callaghan, B. C., Cheng, H. T., Stables, C. L., Smith, A. L., & Feldman, E. L. (2012). Diabetic neuropathy: Clinical manifestations and current treatments. *The Lancet Neurology*,

11(6), 521-534. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70065-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70065-0)

Chu, C., Gao, X., Li, X., Zhang, X., Ma, R., Jia, Y., Li, D., Wang, D., & Xu, F. (2020). Involvement of estrogen receptor- α in the activation of Nrf2-antioxidative signaling pathways by silibinin in pancreatic β -cells. *Biomolecules & Therapeutics*, 28(2), 163-171. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2019.071>

Columbia University Department of Surgery. (2023, 5 Ocak). *The Pancreas and Its Functions*. <https://columbiasurgery.org/pancreas/pancreas-and-its-functions>

Cyr, A. R., Huckaby, L. V., Shiva, S. S., & Zuckerbraun, B. S. (2020). Nitric oxide and endothelial dysfunction. *Critical Care Clinics*, 36(2), 307-321. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2019.12.009>

Çağlar, V., Gönül, Y., & Songur, A. (2014). Pancreas anatomy and variations. *International Journal of Clinical Research*, 2(2), 77-82.

Çiçek, Z., Koçaklı, Z. G., Akıllıoğlu, K., & Doğan, A. (2018). Diyabetik hayvan modelleri ve önemi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 27(3), 311-327. <https://doi.org/10.17827/aktd.357580>

Das, S., Roy, P., Pal, R., Auddy, R. G., Chakraborti, A. S., & Mukherjee, A. (2014). Engineered silybin nanoparticles educe efficient control in experimental diabetes. *PLoS ONE*, 9(7), e101818. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101818>

Deanfield, J. E., Halcox, J. P., & Rabelink, T. J. (2007). Endothelial function and dysfunction. *Circulation*, 115(10), 1285-1295. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.652859>

DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A., & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(1), 15019. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>

Demirtaş Şahin, T., Göçmez, S. S., Eraldemir, F. C., & Utkan, T. (2019). Anxiolytic-like and antidepressant-like effects of resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Noropsikiyatri Arsivi*, 56(2), 144-149. <https://doi.org/10.29399/npa.23176>

Detaille, D., Sanchez, C., Sanz, N., Lopez-Novoa, J. M., Leverve, X., & El-Mir, M. Y. (2008). Interrelation between the inhibition of glycolytic flux by silibinin and the lowering of mitochondrial ROS production in perfused rat hepatocytes. *Life Sciences*, 82(21-22), 1070-1076. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2008.03.007>

Doulias, P. T., & Tenopoulou, M. (2020). Endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide in the regulation of metabolism. *F1000Research*, 9, 1-10. <https://doi.org/10.12688/f1000research.19998.1>

Dökmeci, İ. (2007). *Farmakoloji İlaçlar ve Etkileri*. Alfa Yayınevi.

Endemann, D. H., & Schiffrin, E. L. (2004). Endothelial dysfunction. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15(8), 1983-1992. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000132474.50966.DA>

Farrar, D., Simmonds, M., Griffin, S., Duarte, A., Lawlor, D. A., Sculpher, M., Fairley, L., Golder, S., Tuffnell, D., Bland, M., Dunne, F., Whitelaw, D., Wright, J., & Sheldon, T. A. (2016). The identification and treatment of women with hyperglycaemia in pregnancy: An analysis of individual participant data, systematic reviews, meta-analyses and an economic evaluation. *Health Technology Assessment*, 20(86), 1-382. <https://doi.org/10.3310/hta20860>

Feldman, E. L., Callaghan, B. C., Rodica, P.-B., Zochodne, D. W., Wright, D. E., Bennett, D. L., Vera, B., Russell, J. W., & Vijay, V. (2019). Diabetic neuropathy. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1), 42. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0097-9>

Feng, B., Huang, B., Jing, Y., Shen, S., Feng, W., Wang, W., Meng, R., & Zhu, D. (2021). Silymarin ameliorates the disordered glucose metabolism of mice with diet-induced obesity by activating the hepatic SIRT1 pathway. *Cellular Signalling*, 84, 110023. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2021.110023>

Fowler, M. J. (2011). Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical Diabetes*, 29(3), 116-122. <https://doi.org/10.2337/diaclin.29.3.116>

Furchgott, R. F., & Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288(5789), 373-376. <https://doi.org/10.1038/288373a0>

Furman, B. L. (2015). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols in Pharmacology*, 70(1), 5.47.1-5.47.20. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0547s70>

Garcia, J., Costa, V. M., Carvalho, A., Baptista, P., de Pinho, P. G., de Lourdes Bastos, M., & Carvalho, F. (2015). Amanita phalloides poisoning: Mechanisms of toxicity and treatment. *Food and Chemical Toxicology*, 86, 41-55. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.09.008>

Giugliano, D., Marfella, R., Coppola, L., Verrazzo, G., Acampora, R., Giunta, R., Nappo, F., Lucarelli, C., & D'Onofrio, F. (1997). Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L -Arginine: Evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. *Circulation*, 95(7), 1783-1790. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.95.7.1783>

Giwa, A. M., Ahmed, R., Omidian, Z., Majety, N., Karakus, K. E., Omer, S. M., Donner, T., & Hamad, A. R. A. (2020). Current understandings of the pathogenesis of type 1 diabetes: Genetics to environment. *World Journal of Diabetes*, 11(1), 13-25. <https://doi.org/10.4239/wjd.v11.i1.13>

Glowinska, B., Urban, M., Peczynska, J., & Florys, B. (2005). Soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and selectins (sE selectin, sP selectin, sL selectin) levels in children and adolescents with obesity, hypertension, and diabetes. *Metabolism*, 54(8), 1020-1026. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.03.004>

Grossman, L. D., Roscoe, R., & Shack, A. R. (2018). Complementary and alternative medicine for diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*, 42, S154-S161. <https://doi.org/10.1016/j.cjcd.2017.10.023>

Haddad, P. S., Haddad, Y., Vallerand, D., & Brault, A. (2011). Antioxidant and hepatoprotective effects of silibinin in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep164>

Hadi, H. A., & Al Suwaidi, J. A. (2007). Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Vascular Health and Risk Management*, 3(6), 853-876.

Haller, M. J., Atkinson, M. A., & Schatz, D. (2005). Type 1 diabetes mellitus: Etiology, presentation, and management. *Pediatric Clinics of North America*, 52(6), 1553-

1578. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2005.07.006>

Holt, R. I. G., Cockram, C. S., Flyvbjerg, A., & Goldstein, B. J. (Ed.). (2010). *Textbook of Diabetes*. Wiley-Blackwell.

Hundal, R. S., & Inzucchi, S. E. (2003). Metformin: New understandings, new uses. *Drugs*, 63(18), 1879-1894. <https://doi.org/10.2165/00003495-200363180-00001>

IDF. (2021). IDF Diabetes Atlas 2021. *International Diabetes Federation*.

İmamoğlu, Ş., & Özyardımcı Ersoy, C. (Ed.). (2022). *Diabetes Mellitusun Tanı, Tedavi ve İzlemi*. Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.

İmamoğlu, Ş., Satman, İ., Akalın, S., Salman, S., & Yılmaz, C. (Ed.). (2015). *Geçmişten Geleceğe Diabetes Mellitus*. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği.

Jain, D., Somani, R., & Gilhotra, R. (2016). Silibinin ameliorates hyperglycaemia, hyperlipidemia and prevent oxidative stress in streptozotocin induced diabetes in Sprague Dawley rats. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 5(3), 136-144.

Johns, E. C., Denison, F. C., Norman, J. E., & Reynolds, R. M. (2018). Gestational diabetes mellitus: Mechanisms, treatment, and complications. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2018.09.004>

Johnstone, M. T., Creager, S. J., Scales, K. M., Cusco, J. A., Lee, B. K., & Creager, M. A. (1993). Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*, 88(6), 2510-2516. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.88.6.2510>

Kang, J. S., Park, S. K., Yang, K. H., & Kim, H. M. (2003). Silymarin inhibits TNF- α -induced expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells. *FEBS Letters*, 550(1-3), 89-93. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00827-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00827-5)

Karimi, R., Bakhshi, A., Dayati, P., Abazari, O., Shahidi, M., Savaee, M., Kafi, E., Rahmanian, M., & Naghib, S. M. (2022). Silymarin reduces retinal microvascular damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Scientific Reports*, 12(1), 15872. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20297-2>

- Katzung, B. G. (2021). *Temel ve Klinik Farmakoloji* (14. bs). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kayaalp, O. (2012). *Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (C. 2). Pelikan Yayınevi.
- King, A. J. F. (2012). The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology*, *166*(3), 877-894. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x>
- Knapp, M., Tu, X., & Wu, R. (2019). Vascular endothelial dysfunction, a major mediator in diabetic cardiomyopathy. *Acta Pharmacologica Sinica*, *40*(1), 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41401-018-0042-6>
- Kurçer, Z., & Karaoğlu, D. (2012). Deneysel diyabet modellerinde alloksan ve streptozotosin kullanımı. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, *16*(2), 34-40.
- Lee, J. Y., Choi, H. Y., Park, C. S., Pyo, M. K., Yune, T. Y., Kim, G. W., & Chung, S. H. (2019). GS-KG9 ameliorates diabetic neuropathic pain induced by streptozotocin in rats. *Journal of Ginseng Research*, *43*(1), 58-67. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.08.004>
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, *51*(2), 216-226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Li Volti, G., Salomone, S., Sorrenti, V., Mangiameli, A., Urso, V., Siarkos, I., Galvano, F., & Salamone, F. (2011). Effect of silibinin on endothelial dysfunction and ADMA levels in obese diabetic mice. *Cardiovascular Diabetology*, *10*, 1-8. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-10-62>
- Lim, A. K. H. (2014). Diabetic nephropathy – complications and treatment. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, *7*, 361-381. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S40172>
- Liu, P., Cui, L., Liu, B., Liu, W., Hayashi, T., Mizuno, K., Hattori, S., Ushiki-Kaku, Y., Onodera, S., & Ikejima, T. (2020). Silibinin ameliorates STZ-induced impairment of memory and learning by up-regulating insulin signaling pathway and attenuating apoptosis. *Physiology and Behavior*, *213*(112689). <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112689>
- Lu, P., Mamiya, T., Lu, L. L., Mouri, A., Zou, L. B., Nagai, T., Hiramatsu, M., Ikejima, T., & Nabeshima, T. (2009). Silibinin prevents amyloid b peptide-induced memory

impairment and oxidative stress in mice. *British Journal of Pharmacology*, 157(7), 1270-1277. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00295.x>

Lyons, T. J., & Basu, A. (2012). Biomarkers in diabetes: Hemoglobin A1c, vascular and tissue markers. *Translational Research*, 159(4), 303-312. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2012.01.009>

Maleki, N., Khosh Ravesh, R., Salehiyeh, S., Faiz, A. F., Ebrahimi, M., Sharbati, A., Panji, M., Khiyavi, H. A., Safizadeh, F., Abbasi, M., Abazari, O., Norbakhsh, R., & Eskandari, Y. (2022). Comparative effects of estrogen and silibinin on cardiovascular risk biomarkers in ovariectomized rats. *Gene*, 823(146365). <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146365>

Marty, A. T. (1999). PDR for Herbal Medicines. İçinde *JAMA: The Journal of the American Medical Association* (C. 281, Sayı 19). <https://doi.org/10.1001/jama.281.19.1853>

McKennon, S. A. (2021). *Non-Pharmaceutical Intervention Options for Type 2 Diabetes: Complementary Health Approaches and Integrative Health (Including Natural Products and Mind/Body Practices)* [Endotext [Internet]]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK279062/>

Monnier, V. M., Sell, D. R., & Genuth, S. (2005). Glycation products as markers and predictors of the progression of diabetic complications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1043(1), 567-581. <https://doi.org/10.1196/annals.1333.065>

National Center for Complementary and Integrative Health (NCCIH). (2023, 6 Nisan). *Complementary, Alternative, or Integrative Health: What's In a Name?* <https://www.nccih.nih.gov/health/complementary-alternative-or-integrative-health-whats-in-a-name>

Nesto, R. W. (2004). Correlation between cardiovascular disease and diabetes mellitus: Current concepts. *American Journal of Medicine*, 116(5A), 11-22. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2003.10.016>

Okudan, N., Barişkaner, H., Gökbel, H., Şahin, A. S., Belviranlı, M., & Baysal, H. (2011). The effect of supplementation of grape seed proanthocyanidin extract on vascular dysfunction in experimental diabetes. *Journal of Medicinal Food*, 14(11), 1298-1302.

<https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0030>

Osborn, L., Hession, C., Tizard, R., Vassallo, C., Luhowskyj, S., Chi-Rosso, G., & Lobb, R. (1989). Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell*, *59*(6), 1203-1211. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(89\)90775-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90775-7)

Özcan, N., & İkinciöğulları, D. (2009). Ulusal zehir danışma merkezi antidot listesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, *66*(3), 59-59.

Palomino, O. M., Gouveia, N. M., Ramos, S., Martín, M. A., & Goya, L. (2017). Protective effect of silybum marianum and silibinin on endothelial cells submitted to high glucose concentration. *Planta Medica*, *83*, 97-103. <https://doi.org/10.1055/s-0042-113135>

Park, S. Y., Gautier, J. F., & Chon, S. (2021). Assessment of insulin secretion and insulin resistance in human. *Diabetes and Metabolism Journal*, *45*(5), 641-654. <https://doi.org/10.4093/DMJ.2021.0220>

Plows, J. F., Stanley, J. L., Baker, P. N., Reynolds, C. M., & Vickers, M. H. (2018). The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms19113342>

Post-White, J., Ladas, E. J., & Kelly, K. M. (2007). Advances in the use of milk thistle (Silybum marianum). *Integrative Cancer Therapies*, *6*(2), 104-109. <https://doi.org/10.1177/1534735407301632>

Preiss, D. J., & Sattar, N. (2007). Vascular cell adhesion molecule-1: A viable therapeutic target for atherosclerosis?: Vascular cell adhesion molecule-1. *International Journal of Clinical Practice*, *61*(4), 697-701. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01330.x>

Rainone, F. (2005). Milk Thistle. *American Family Physician*, *72*(7), 1285-1288.

Rees, D. A., & Alcolado, J. C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, *22*(4), 359-370. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x>

Rorsman, P., Eliasson, L., Renström, E., Gromada, J., Barg, S., & Göpel, S. (2000). The cell physiology of biphasic insulin secretion. *News in Physiological Sciences*, *15*(2), 72-

77. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2000.15.2.72>

Rosenfeld, G. C., & Loose, D. S. (2016). *BRS Farmakoloji* (H. Barışkaner, Ed.). İstanbul Tıp Kitabevleri.

Sacks, D. A., Hadden, D. R., Maresh, M., Deerochanawong, C., Dyer, A. R., Metzger, B. E., Lowe, L. P., Coustan, D. R., Hod, M., Oats, J. J. N., Persson, B., & Trimble, E. R. (2012). Frequency of gestational diabetes mellitus at collaborating centers based on iadpsg consensus panel-recommended criteria. *Diabetes Care*, 35. <https://doi.org/10.2337/dc11-1641>

Salman, S., Satman, İ., Yılmaz, C., İmamoğlu, Ş., & Dinççağ, N. (2020). *TEMĐ Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu*. Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu.

Samanta, R., Pattnaik, A., Pradhan, K., Mehta, B., Pattanayak, S., & Banerjee, S. (2016). Wound healing activity of silibinin in mice. *Pharmacognosy Research*, 8(4), 298-302. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188880>

SB, RSHMB, Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. (2007). *Birinci basamağa yönelik zehirlenmeler tanı ve tedavi rehberi: C. SB-HM-2007/14*.

Schümann, J., Prockl, J., Kiemer, A. K., Vollmar, A. M., Bang, R., & Tiegs, G. (2003). Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. *Journal of Hepatology*, 39(3), 333-340. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(03\)00239-3](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(03)00239-3)

Semaan, H. B., Gurbel, P. A., Anderson, J. L., Muhlestein, J. B., Carlquist, J. F., Horne, B. D., & Serebruany, V. L. (2000). Soluble VCAM-1 and E-Selectin, but not ICAM-1 discriminate endothelial injury in patients with documented coronary artery disease. *Cardiology*, 93, 7-10. <https://doi.org/10.1159/000006995>

Sherwani, S. I., Khan, H. A., Ekhzaimy, A., Masood, A., & Sakharkar, M. K. (2016). Significance of HbA1c test in diagnosis and prognosis of diabetic patients. *Biomarker Insights*, 11, 95-104. <https://doi.org/10.4137/Bmi.s38440>

Soedamah-Muthu, S. S., Chaturvedi, N., Schalkwijk, C. G., Stehouwer, C. D. A., Ebeling, P., & Fuller, J. H. (2006). Soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble E-selectin are associated with micro- and macrovascular complications in Type 1 diabetic

patients. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 20(3), 188-195.
<https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2005.06.005>

Soto, C., Raya, L., Pérez, J., González, I., & Pérez, S. (2014). Silymarin induces expression of pancreatic Nkx6.1 transcription factor and β -Cells neogenesis in a pancreatectomy model. *Molecules*, 19, 4654-4668.
<https://doi.org/10.3390/molecules19044654>

Srinivasan, K., & Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian Journal of Medical Research*, 125(3), 451-472.

Svíglerová, J., Kuncová, J., & Stengl, M. (2017). Cardiovascular models: Heart secondarily affected by disease (diabetes mellitus, renal failure, dysfunctional sympathetic innervation). İçinde *Animal Models for the Study of Human Disease* (ss. 175-203). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00007-3>

Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50(6), 537-546.

Şahin, A. S., & Bariskaner, H. (2007). The mechanisms of vasorelaxant effect of leptin on isolated rabbit aorta. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 21(6), 595-600.
<https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2007.00541.x>

Toğay, V. A., Sevimli, T. S., Sevimli, M., Çelik, D. A., & Özçelik, N. (2018). DNA damage in rats with streptozotocin-induced diabetes; protective effect of silibinin. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 825, 15-18.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2017.11.002>

Troncoso, M. F., Ortiz-Quintero, J., Garrido-Moreno, V., Sanhueza-Olivares, F., Guerrero-Moncayo, A., Chiong, M., Castro, P. F., García, L., Gabrielli, L., Corbalán, R., Garrido-Olivares, L., & Lavandero, S. (2021). VCAM-1 as a predictor biomarker in cardiovascular disease. *BBA - Molecular Basis of Disease*, 1867(9), 166170.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2021.166170>

UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. (1999). Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *The Lancet*, 352(2), 837-853.

<https://doi.org/10.1097/00019616-199903000-00016>

Wang, T., Cai, L., Wang, Y., Wang, Q., Lu, D., Chen, H., & Ying, X. (2017). The protective effects of silibinin in the treatment of streptozotocin-induced diabetic osteoporosis in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 89, 681-688. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.018>

Widlansky, M. E., Gokce, N., Keaney, J. F., & Vita, J. A. (2003). The clinical implications of endothelial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*, 42(7), 1149-1160. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(03\)00994-X](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(03)00994-X)

Wong, T. Y., Cheung, C. M. G., Larsen, M., Sharma, S., & Simó, R. (2016). Diabetic retinopathy. *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.12>

World Health Organization. (2023, 10 Ocak). *Diabetes*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>

Xiao, F., Gao, F., Zhou, S., & Wang, L. (2020). The therapeutic effects of silymarin for patients with glucose/lipid metabolic dysfunction. *Medicine*, 99(40). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000022249>

Yamamoto, H., Uchigata, Y., & Okamoto, H. (1981). Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly (ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature*, 294(5838), 284-286.

Yang, J., Li, H., Wang, X., Zhang, C., Feng, G., & Peng, X. (2021). Inhibition mechanism of α -amylase/ α -glucosidase by silibinin, its synergism with acarbose, and the effect of milk proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(36), 10515-10526. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01765>

Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y., & Kang, W. (2014). α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 3, 136-174. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2014.11.003>



8. EKLER



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2020 – 027

Karar Tarihi: 21.04.2020

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD'den Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN, Esra ÜN ARSLAN Tıbbi Patoloji ABD'den Doç. Dr. Hacı Hasan ESEN ve İzmir Demokrasi Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji ABD'den Doç. Dr. Burak Cem SONER tarafından sunulan **"Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Silibinin'in Antidiyabetik ve Endotel Disfonksiyonu Üzerine Etkileri"** başlıklı tez projesi 7 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 6 grupta 58 adet sıçan kullanılacağı, sıçanların anestezi altında intrakardiyak kan alımı ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddeler gereğince "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "Uygun" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Selim KUTLU Başkan	Doç. Dr. Bilsev İNCE Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN Üye-Katılmadı	Prof. Dr. Ruhuşen KUTLU Üye
Prof. Dr. Ercan KURAR Üye	Doç. Dr. Mehmet Tuğrul YILMAZ Üye-Katılmadı	Doç. Dr. Gökhan CÜCE Üye	Doç. Dr. Mehmet Giray SÖNMEZ Üye
Doç. Dr. Mustafa ÖZER Üye-Katılmadı	Vet. Hek. Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER Üye	Vet. Hek. Halil Aydın ŞİMŞEK Üye-Katılmadı	Mustafa ŞİRİN Üye-Katılmadı

Tel : +90 332 223 71 11

Faks : +90 332 223 71 24

Adres: Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Eski Yerleşkesi, Akyokuş Mevkii, 42080 Meram / KONYA

e-posta: konudam@erbakan.edu.tr

Elektronik Ağ: <https://www.erbakan.edu.tr/deneysetip>