

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

**STREPTOZOTOZİN İLE DİYABET  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA  
PROPOLİSİN ÖĞRENME VE BELLEK  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BURCU KÖKSAL**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DANIŞMAN**

**Prof. Dr. M. Hanifi EMRE**

**MALATYA-2011**

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

**STREPTOZOTOZİN İLE DİYABET  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA  
PROPOLİSİN ÖĞRENME VE BELLEK  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**BURCU KÖKSAL**

**Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. M. Hanifi EMRE**

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından 2010/132 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2011**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı, Danışman

Prof. Dr. M.Hanifi EMRE



Üye

Prof.Dr. Nazan DOLU



Üye

Prof. Dr. Sedat YILDIZ



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2011 tarih ve 2011/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali OTLU  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı hazırlamamda, maddi ve manevi desteği olan, saygıdeğer danışmanım, Prof. Dr. Memet Hanifi EMRE'ye teşekkür ederim.

2010/132 projeme katkılarından dolayı İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarımda, desteğini ve bilgisini esirgemeyen Doç. Dr. Alaadin POLAT'a, teşekkür ederim.

Karşılaştığım zorluklarda bana destek olan Prof. Dr. Sedat YILDIZ'a, Doç. Dr. Süleyman SANDAL'a, Doç. Dr. Nigar VARDI'ya, Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ'e, Doç. Dr. Halil DÜZOVA'ya, Yrd. Doç. Dr. Ergül ALÇİN'e, asistan arkadaşlarım Tuba TAPAN'a ve Güler ORHAN'a teşekkür ederim.

Deney hayvanlarımın bakımında ve temininde titizlik gösteren Uzm. Bio. Zümrüt DOĞAN'a ve Ali ARAYICI'ya, istatistik çalışmalarına yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Cemil ÇOLAK'a, teşekkür ederim.

Teknik katkılarından dolayı Fatih DULKADİROĞLU'na, propolisin temini için çalışmaya yardım eden Zonguldak Arı Birliği Başkanı Selahattin GÜNEY'e teşekkür ederim.

Ayrıca, öğrenim hayatım boyunca her zaman destek olan anneme, babama ve sevgili eşim Mustafa Serdar KÖKSAL'a çok teşekkür ederim.

## ÖZET

Araştırmanın amacı, streptozotozinle (STZ) deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanların, açlık kan glikoz değerlerine, eser element düzeylerine, öğrenme ve bellekleri üzerine, propolisin etkilerini araştırmaktır.

Çalışmada 51 adet, erkek, Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Bellek ve öğrenme değerlendirmeleri için dört hafta boyunca, sıçanlara 8 kollu labirent uygulamaları yapıldı. Çalışma; kontrol (K) (n=14), STZ uygulanan (STZ) (n=12), STZ uygulamasından önce propolisin verilen (P+STZ) (n=12), STZ uygulamasından sonra propolis verilen (STZ+P) (n=13) grup olmak üzere tasarlandı.

Çalışmada latent (gizil) öğrenme, kısa ve uzun süreli bellek hataları, bellek görevi için harcanan zaman değişkenlerine odaklanıldı. Ayrıca, açlık kan glikoz düzeylerine, ağırlık değişimlerine, serumdaki iz elementlere ve oksidatif stres düzeyindeki enzim aktivitelerine bakıldı.

Araştırmanın bulgularına göre, STZ grubunda açlık kan glikoz seviyesinin diğer gruplara göre yüksek değerlere sahip olduğu, propolis uygulaması ile açlık kan glikoz düzeylerinde düşüş olduğu belirlendi. STZ grubundaki sıçanlarda, vücut ağırlıklarında azalma belirlendi. Ayrıca;  $Zn^{2+}$  düzeylerinde, propolis uygulanan gruplarda, anlamlı bir artışın olduğu görüldü. Diğer iz elementler ve oksidatif stres enzim aktiviteleri açısından, gruplar arasında herhangi bir farklılık bulunmadı. Bellek değerlendirmelerinde, en fazla kısa süreli bellek hatasını STZ grubundaki sıçanların yaptığı, en fazla uzun süreli bellek hatasını ise P+STZ grubundaki sıçanların yaptığı görüldü. En az kısa süreli ve en az uzun süreli bellek hatasını, STZ+P grubundaki sıçanlar gösterdi. Ayrıca, sadece STZ uygulanan diyabetik sıçanların, labirentte daha fazla zaman harcamalarına rağmen daha az sayıda toplam kol ve doğru kola girdiği belirlendi. Ancak, propolis uygulanan grupların, kontrol grubuna yakın değerlerde toplam kola girdiği ve girdikleri doğru kol sayısının da kontrole benzer değerlerde olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Öğrenme, Bellek, Propolis, Streptozotosin, Sekiz Kollu Labirent

**ABSTRACT****EFFECT OF PROPOLIS ON LEARNING AND MEMORY OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS**

Purpose of this study was to investigate effects of propolis application on learning and memory of diabetic rats exposed to streptozotocin (STZ). The study was conducted for four weeks by using radial maze with eight arms and included 51 male Sprague Dawley rats.

The study included four experimental groups; control (C) (n=14), STZ application (STZ) (n=12), STZ exposure after propolis application (P+STZ) (n=12) and propolis application after STZ exposure (STZ+P) (n=13).

The study focused on latent learning rate, short-term (STMF) and long-term memory failure (LTMF) rates, and duration for memory tasks. In addition, fasting blood glucose level, change in weights, plasma trace element levels and oxidative stress indicators were investigated.

According to the findings of the study, fasting blood glucose levels of STZ group were higher than the other groups and propolis application decreased the glucose levels. Weight lost was also determined in the STZ group. Plasma Zn<sup>+2</sup> levels of the rats exposed to propolis were higher than the other groups while there were no differences between groups in terms of other trace element and oxidative stress indicator levels. The most frequent STMF was in the STZ group while the most frequent LTMF was in the P+STZ group. The least frequent STMF and LTMF were in the STZ+ P group. Furthermore, the STZ group entered less number of total and correct arms in spite of their staying for longer time in the maze. The rats exposed to propolis entered similar number of total and correct arms with control group rats in similar time interval.

Key Words: Diabetes, Learning, Memory, Propolis, Streptozotocin, Radial Maze

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2. 1. Diyabet	2
2. 1. 1. Diyabetin Sınıflandırılması	2
2. 1. 1. 1. Tip 1 Diyabet	2
2. 1. 1. 2. Tip 2 Diyabet	3
2. 1. 1. 3. Gestasyonel Diyabet ve Diyabetin Diğer Formları	3
2. 2. Diyabetin Tanısı	4
2. 2. 1. Bozulmuş Glikoz Toleransı, Bozulmuş Açlık Glikoz ve Oral Glikoz Tolerans Testi	4
2. 2. 2. Hemoglobin A <sub>1c</sub> (HbA <sub>1c</sub> ) seviyeleri	5
2. 3. Pankreas	6
2. 3. 1. Ekzokrin Pankreas	7
2. 3. 2. Endokrin Pankreas	7
2. 4. İnsülin	8
2. 4. 1. İnsülinin Yapısı	8
2. 4. 2. İnsülinin Biyosentezi	9
2. 4. 3. İnsülinin Salgılanması	10
2. 4. 4. İnsülinin Etki Mekanizması	12
2. 4. 5. Beyindeki İnsülin Reseptörleri	14
2. 4. 6. Glikoz Taşıyıcı Proteinler	16
2. 5. Nöronal Plastisite ve Glutamat Reseptörleri	17
2. 6. Öğrenme ve Bellek	19

2. 6. 1. İmplit Bellek	21
2. 6. 2. Eksplit Bellek	22
2. 6. 3. İmplit ve Eksplit Belleğin Moleküler Temelleri	22
2. 7. Hipokampusun Yapısı	24
2. 7. 1. Hipokampal Yolaklar	26
2. 7. 1. 1. Afferent Yollar	26
2. 7. 1. 2. Efferent Yollar	27
2. 7. 2. Hipokampusun Bellek Oluşumundaki Rolü	27
2. 8. Oksidatif Stres	28
2. 8. 1. Serbest Radikaller	28
2. 8. 2. Reaktif Oksijen Türleri	29
2. 8. 2. 1. Tekli (Singlet) Oksijen	29
2. 8. 2. 2. Süperoksit Radikali	29
2. 8. 2. 3. Hidrojen Peroksit	29
2. 8. 2. 4. Hidroksil Radikali	30
2. 8. 2. 5. Hipokloröz asit	30
2. 8. 3. Reaktif Nitrojen Türleri	30
2. 8. 3. 1. Nitrik Oksit	30
2. 8. 3. 2. Peroksinitrit Anyonu	31
2. 8. 4. Serbest Radikallerin Hücre İçindeki Etkileri	31
2. 8. 5. Antioksidanlar	32
2. 8. 5. 1. Süperoksit dismutaz	32
2. 8. 5. 2. Glutasyon ve Glutasyon Peroksidaz	33
2. 8. 5. 3. Katalaz	33
2. 8. 6. Diyabet ile Oksidatif Stres Arasındaki İlişki	34
2. 9. Propolis	37
2. 9. 1. Propolisin Özellikleri ve Antioksidan Etkileri	37
2. 10. Diyabet Oluşturmanın Deneysel Modelleri	38
2. 10. 1. Streptozotosin (STZ) ve Hücre Hasarı	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3. 1. Araştırma Tipi	41
3. 2. Araştırmanın Evreni	41

3. 3. Kullanılan Araç ve Gereçler	41
3. 4. Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemler	42
3. 4. 1. Deney Grupları	42
3. 4. 2. Streptozotosinin Hazırlanması	42
3. 4. 3. Kan glikoz değerlerine bakılması	43
3. 4. 4. Hayvanların Tartılması	43
3. 4. 5. Propolisin Sulu Eksratının Hazırlanması	43
3. 4. 6. Işınsal Kollu (Sekiz Kollu) Labirent Uygulaması	44
3. 4. 7. Cerrahi Uygulamanın Yapılması	46
3. 4. 8. Eser Element Analizleri	46
3. 4. 8. 1. Serumda $Ca^{2+}$ düzeylerine Bakılması	46
3. 4. 8. 2. Serumda $Zn^{2+}$ ve $Cu^{2+}$ düzeylerine Bakılması	46
3. 4. 9. Hipokampus Dokularının Enzim Çalışmaları İçin Hazırlanması	47
3. 4. 9. 1. SOD enzim aktivite düzeylerine bakılması	47
3. 4. 9. 2. CAT enzim aktivite düzeylerine bakılması	48
3. 4. 9. 3. GSH-Px enzim aktivite düzeylerine bakılması	48
3. 4. 9. 4. TBARs düzeylerinin ölçümü	49
3. 4. 9. 5. Lowry Protein Metodu	50
3. 4. 10. İstatistiksel Analiz	50
4. BULGULAR	51
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
7. KAYNAKLAR	69
8. EKLER	80
Ek 1: Deney Hayvanları Etik Kurul Kararı	80
9. ÖZGEÇMİŞ	81

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

STZ	:Streptozotozin
$\alpha$	:Alfa
$\beta$	:Beta
$\delta$	:Delta
$\gamma$	:Gama
ADA	:Amerikan Diyabet Birliği
GAD	:Glutamikasit dekarboksilaz
BGT	:Bozulmuş glikoz toleransı
BAG	:Bozulmuş açlık glikozu
OGTT	:Oral glikoz tolerans testi
HbA <sub>1c</sub>	:Glikozillenmiş hemoglobin
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
IFCC	:Uluslararası Klinik Biyokimya Derneği
PP	:Pankreatik polipeptit
Cys	:Sistin
GER	:Granüllü endoplazmik retikulum
SRP	:Sinyal tanıma peptidi
ATP	:Adenozin trifosfat
GLUT	:Glikoz taşıyıcısı
K <sup>+</sup>	:Potasyum iyonu
Ca <sup>2+</sup>	:Kalsiyum iyonu
IR	:İnsülin reseptörü
IGF-IR	:İnsülin benzeri büyüme faktörü reseptörü
IRR	:İnsülin reseptörüyle ilişkili reseptör
Bp	:Baz çifti
APS	:Proteinle ilişkili substrat
PIP3	:Fosfaditilinozitol (3, 4, 5)-trifosfat
PDK	:Fosfaditilinozitol (3, 4, 5)-trifosfat bağımlı kinaz
PKB	:Protein kinaz B
MAPK	:Mitojen aktive eden protein kinaz
GTPaz	:Guanozin trifosfataz

SGLTs	:Sodyum-Glikoz eş taşıyıcıları
LTP	:Uzun erimli potansiyalizasyon
LTD	:Uzun erimli depresyon
IP3	:İnozitol trifosfat
DAG	:Diaçil gliserol
AMPA	: $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metilsoksazol-4-propiyonik asit
NMDA	:N-metil-D-aspartat
PKA	:Protein Kinaz A
cAMP	:Döngüsel adenozin monofosfat
Mg <sup>2+</sup>	:Magnezyum iyonu
fMRI	:Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme
CA	:Cornu ammonis
ROS	:Reaktif oksijen türleri
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	:Tekli (singlet) oksijen
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	:Süperoksit radikali
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	:Hidrojen peroksit
Fe <sup>2+</sup>	:Demir iyonu
ONOO <sup>-</sup>	:Peroksinitrit
<sup>·</sup> OH	:Hidroksil radikali
HOCl	:Hipokloröz asit
NO <sup>·</sup>	:Nitrik oksit
MDA	:Malondialdehit
4-HNE	:4- hidroksinonenal
SOD	:Süperoksit dismutaz
GSH-Px	:Glutatyon peroksidaz
CAT	:Katalaz
GSH	:Glutatyon
Cu <sup>2+</sup>	:Bakır iyonu
Zn <sup>2+</sup>	:Çinko iyonu
NADP	:Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
GAPDH	:Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz
NO	:Nitrik oksit

NOS	:Nitrik oksit sentaz
LDL	:Düşük yoğunluklu lipoprotein
UV	:Ultraviole
NF- $\kappa$ B	:Nükleer faktör kappa B
i.p.	:İntraperitoneal
TBARs	:Tiyobarbitürik asit türevleri

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

Şekil 2. 1. Pankreasın yapısı	6
Şekil 2. 2. İnsan insülin molekülü	8
Şekil 2. 3. İnsülin oluşum basamakları	9
Şekil 2. 4. İnsülinin salınması	11
Şekil 2. 5. İnsülin reseptörünün yapısı	12
Şekil 2. 6. İnsülinin etki mekanizması	14
Şekil 2. 7. Uzun süreli bellek çeşitleri	21
Şekil 2. 8. Hipokampus	25
Şekil 2. 9. Hipokampusun yapısı	25
Şekil 2. 10. Hipokampal yollar	26
Şekil 2. 11. Antioksidanlar	32
Şekil 2. 12. Diyabetin oluşturduğu komplikasyonlar	35
Şekil 2. 13. Streptozotozinin yapısı	39
Şekil 2. 14 Streptozotosinin etki mekanizması	40
Şekil 3. 1. Labirent uygulamasının yapıldığı ortam	44
Şekil 3. 2. Çok kollu labirent	45
Şekil 4. 1. Deneklerin deneysel işlemler sonrası açlık kan glikoz değerleri	53
Şekil 4. 2. Deneklerin deneysel işlemler sonrası vücut ağırlıklarının değerleri	55
Şekil 4. 3. Deneklerin serumdaki $Zn^{2+}$ miktarına ilişkin değerler	56
Şekil 4. 4. Deneklerin cevap gecikmesine ilişkin değerler	60

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2. 1. Diyabetin teşhis kriterleri ve gliseminin ilişkili evreleri	5
Tablo 2. 2. HbA <sub>1c</sub> ile ortalama glikoz değerleri arasındaki ilişki	5
Tablo 2. 3. İnsülin salgısını arttıran veya azaltan faktörler veya koşullar	10
Tablo 2. 4. Kolaylaştırılmış glikoz taşıyıcıları izoformları	16
Tablo 2. 5. Diğer antioksidanlar ve etkileri	34
Tablo 4. 1. Kandaki açlık glikoz miktarının, deneysel işlem başlangıcında (STZ uygulamasından 72 saat sonra) ve deneysel işlem sonundaki değerlerinin karşılaştırılmasına ilişkin analiz sonuçları	51
Tablo 4. 2. Deneysel işlem sonundaki açlık kan glikoz miktarlarının karşılaştırılmasına ilişkin analiz sonuçları	52
Tablo 4. 3. Deneklerin deneysel uygulama öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarına ilişkin analiz sonuçları	54
Tablo 4. 4. Deneklerin vücut ağırlıklarının deneysel işlem sonundaki değerlerinin karşılaştırılmasına ilişkin analiz sonuçları	54
Tablo 4. 5. Serumdaki Zn <sup>2+</sup> miktarlarına ilişkin analiz sonuçları	55
Tablo 4. 6. Serumdaki Cu <sup>2+</sup> miktarlarına ilişkin analiz sonuçları	57
Tablo 4. 7. Serumdaki Ca <sup>2+</sup> miktarlarına ilişkin analiz sonuçları	57
Tablo 4. 8. Latent öğrenmeye ilişkin verilerin analiz sonuçları	58
Tablo 4. 9. Bellek hatalarına ilişkin verilerin analiz sonuçları	59
Tablo 4. 10. Deneklerin cevap gecikmesine ilişkin (toplam süre/girilen toplam kol sayısı) değerlerinin karşılaştırılmasına ilişkin analiz sonuçları	59
Tablo 4. 11. Hipokampus dokusundaki TBARs ve enzim çalışmalarına ilişkin değişkenlerin analiz sonuçları	60

## 1. GİRİŞ

Öğrenme olayı deneyimler sonucu bilginin kazanılması iken, bellek elde edinilen bilgilerin saklanması olarak açıklanabilir. Öğrenme ile gelişen davranışlar kişinin çevresiyle ilişkilerini belirlerken, bellek kişinin kimliğini oluşturur. İnsanların öğrenme ve bellek kazanımlarına olumsuz yönde etki eden hastalıklar mevcuttur. Bu hastalıklardan biri de diyabettir (1).

İnsülin salınımındaki yetersizlik, hücrelerde insüline duyarsızlık veya her ikisinde olmasıyla karakterize olan diyabet, bozulmuş glikoz homeostazı sonucunda hiperglisemi ile sonuçlanır. (1–3). Bu hastalığın periferik sinir sistemi ve merkezi sinir sistemde nörolojik komplikasyonlara sebep olduğu bilinmektedir. Streptozotolin (STZ) kullanılarak diyabet oluşturulan sıçanlarda, sinirlerde dejenerasyon meydana gelmekte ve özellikle öğrenme ve belleğin olduğu hipokampus ve serebral korteks gibi beyin alanlarında sinir hasarları oluşmaktadır (3).

Hipokampus glikoz homeostazındaki değişikliklere karşı oldukça duyarlıdır. İnsülin eksikliği veya insülin direnci sonucu bozulan glikoz homeostazında, hipokampusta sinaptik bağlantı oluşmaları bozulmakta ve buna paralel olarak öğrenme ve bellek olaylarında aksamalar olmaktadır (4).

Propolis, arıların çeşitli bitkilerden topladığı reçinemsî madde olup, uzun yıllar boyunca, insanlar tarafından değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, propolisin birçok özelliğinin yanı sıra, pankreasın insülin salınımında görev yapan beta ( $\beta$ ) hücrelerinin hasarını engellediğine dair araştırmalar yapılmıştır (5).

Amacımız; diyabete bağlı olarak gelişen doku ve nörodejeneratif hasarlara bağlı olarak, öğrenme ve bellek oluşumlarındaki olası bozulmalara karşı, propolisin etkilerini araştırmaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2. 1. DİYABET**

Diabetes mellitus, kısaca diyabet, insülin sekresyon yetmezliği, insülin aktivite bozukluğu veya her ikisinin sonucunda da olabilen hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır (2, 3, 4, 6).

#### **2. 1. 1. Diyabetin Sınıflandırılması**

Amerikan Diyabet Birliği (ADA) 2010 yılında diyabeti; Tip 1, Tip 2, gestasyonel diyabet ve diyabetin diğer formları şeklinde sınıflandırmıştır. İnsanlar arasında en fazla görülen formları Tip 1 ve Tip 2 diyabettir (7).

Diyabetin bu iki formunda kan glikozunun düzeyi, uzun süre kontrol altında tutulmadığı için, çeşitli sistemlerde komplikasyonlar gelişebilmektedir (8). Diyabetin süresine ve metabolik kontrol kalitesine göre değişen komplikasyonlar, gözler, böbrekler, kalp, kan damarları ve nöronlar üzerine etki edebilmektedir (2, 3, 9).

Ayrıca son yıllarda, diyabetin, Alzheimer ve bunama hastalığı için risk faktörü olduğunu gösteren ve belleğin olduğu hipokampus ve serebral korteks gibi beyin bölgelerinde nörodejeneratif hasarlar yaptığına dair deneysel bulgular gösterilmiştir (3, 4).

#### **2. 1. 1. 1. Tip 1 Diyabet**

Otoimmün bozukluklar veya viral enfeksiyonlar sonucunda pankreasın  $\beta$  hücrelerinin hasarlanmasıyla oluşan diyabetin Tip 1 formu, insülin yetersizliği ve kronik hiperglisemi ile karakterizedir (8, 10). 18 yaş ve altındaki genç bireylerin %50-60'ında görülen ve kronik bir hastalık olan diyabetin Tip 1 formu, diyabetlilerin %5-10'nu oluşturur (4, 7). Diyabet hastalarının tanısında; insüline,  $\beta$  hücrelerine, glutamikasit dekarboksilaza (GAD) ve tirozin fosfatazlara karşı otoantikorlar saptanmıştır (7).

Tip 1 diyabet de kendi içinde otoimmün kaynaklı ve idiyopatik olarak sınıflandırılır. Otoimmün kaynaklı antikorların, bir veya daha fazlasına sahip olan kişiler Tip 1A olarak sınıflandırılmıştır. Tip 1A hastalarında, plazma insülin ve C

peptid düzeyleri çok düşük veya tespit edilemez düzeydedir. Hâlbuki daha çok Asya ve Afrika kökenlilerde görülen idiyopatik veya Tip1B diyabetli hastalarda, otoimmün antikorlar saptanmamakla birlikte, bu tip hastalarda insülinopeninin patogenezi hala açıklanamamıştır (2).

Tip 1 diyabetli hastalarda,  $\beta$ -hücre yıkım hızı oldukça değişkendir. Özellikle; bebek ve çocuklarda hızlı, yetişkinlerde ise yavaştır. Çocuk ve ergenlerde, hastalığın ilk belirtisi ketoasidozdur. Enfeksiyon ve stres durumlarında, hiperglisemi veya ketoasidoz daha da artmaktadır. Bu kişilerin yaşamlarını sürdürebilmeleri, ekzojen insülin alımlarına bağlıdır (7).

Çocuk ve adolesan yaşlarda, hastalarda en çok gözlenen belirtiler, poliüri, polidipsi, kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluktur. Diyabet gelişmiş hastalarda, kalori kaynağı olan glikozun idrar yolu ile kaybı, lipolize neden olmakta ve subkutan yağ dokusunun azalmasıyla, kilo kayıpları gözlenmektedir (10).

### **2. 1. 1. 2. Tip 2 Diyabet**

Tip 2 diyabet, diyabetli hastaların %90 ile %95'inde görülür. Diyabetin bu formu, insüline duyarlı hücrelerdeki reseptörlerin, insüline direnci ile karakterizedir (7). 40 yaşın üstünde daha fazla görülen Tip 2 diyabette, insülin salgılanması normal ya da normalden daha fazladır ancak hücrelerin insüline cevabında azalma olmaktadır. Bu nedenle, kontrol altına alınamayan yüksek kan glikozu, uzun süreli çeşitli komplikasyonların oluşmasına sebep olmaktadır (11). Bu hastalarda ketoasidoz spontan olarak görülür ve diğer hastalık durumlarında artış gösterebilir (2). Tip 2 diyabet gelişme riski yaş, hareketsizlik ve obezite ile artış gösterir (12).

Tedavi için hastalara ilaç tedavisinin yanı sıra, diyet ve egzersiz programlarının da fayda sağladığı bilinmektedir (7).

### **2. 1. 1. 3. Gestasyonel Diyabet ve Diyabetin Diğer Formları**

Gestasyonel diyabet, gebelik sırasında ortaya çıkan ve gebelikten sonra sonlanan diyabettir. Yani; önceden diyabet olan kadınların hamileliği boyunca kullanılan bir ifade değildir (2).

$\beta$  hücrelerinde genetik kusurlar, kimyasal ilaçlar, geçirilen enfeksiyonlar, pankreasın ekzokrin hastalıkları gibi çeşitli faktörler, tanımlanan diyabet formları dışında, diyabetin çok değişik formlarının görülmesine sebep olabilirler (2, 7).

## 2. 2. DİYABETİN TANISI

Diyabet tanısı için bireylere Bozulmuş Glikoz Toleransı (BGT), Bozulmuş Açlık Glikozu (BAG), Oral Glikoz Tolerans Testleri (OGTT) ve glikozillenmiş hemoglobin A<sub>1c</sub> testleri uygulanır (2, 13).

### 2. 2. 1. Bozulmuş Glikoz Toleransı, Bozulmuş Açlık Glikozu ve Oral Glikoz Tolerans Testi

Bozulmuş Glikoz Toleransı (BGT), kan glikoz seviyesinin normalin üstünde fakat diyabetin oluşmadığı durumlar için kullanılan bir terimdir. Oral Glikoz Tolerans Testleri (OGTT) ile desteklenen BGT, diyabet tanısında kullanılabilir. Bununla beraber bütün BGT gösteren kişilere kesin diyabet tanısı konmaz ancak bu kişilerin diyabete yakalanma riski oldukça yüksektir (2, 14).

Oral Glikoz Tolerans Testi, sabah saatlerinde uygulanır. OGTT öncesi 3 gün herhangi bir diyet ve egzersiz kısıtlaması yapılmamalıdır. Test uygulanacak kişi 10–16 saat arasında açlık durumunda olmalıdır. Hasta su içebilir ancak test süresince sigara içmemelidir. Açlık kan örneği alındıktan sonra kişiye 75 g (çocuklarda 1,75 g/kg) anhidroz glikoz çözeltisi verilir. Bu çözelti, 75 g glikoz 150 ile 300 ml su içinde çözüldükten sonra 5 dakika içerisinde tüketilmelidir. Kişiden 2 saat sonra kan örneği alınır. Herhangi bir hastalık veya enfeksiyöz durumu var ise test sonuçları değerlendirilirken hesaba katılmalıdır (2, 15, 16).

Bozulmuş Açlık Glikozu (BAG); açlık durumundaki kan glikozunun normale nazaran yüksek olma durumudur. BGT veya BAG bulunanlarda glikozillenmiş hemoglobin miktarı normal veya hafif yüksek olabilir. BAG’da açlık kan glikozu venöz kanda 100 mg/dl ile 125 mg/dl arasında görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) önerisi BAG gösteren hastalara OGTT yapılmasıdır. Böylece bu hastaların BGT veya diyabet olup olmadıklarını belirlemek mümkün olacaktır (2).

BGT, obez kişilerde obez olmayanlara göre daha sık görülür. BGT hiperinsülinemi (insülin fazlalığı) ve insülin direnci ile karakterizedir. BGT oluşumuna çeşitli ilaçlar, genetik hastalıklar da yol açabilir. Bu nedenle BGT, normal glikoz toleransı ile Tip 2 diyabet arasındaki geçiş dönemini temsil eder (2).

Tablo 2. 1. Diyabetin teşhis kriterleri ve gliseminin ilişkili evreleri, (2).

<b>Teşhis Kriterleri</b>	<b>Kapiller Tam Kanda Glikoz Konsantrasyonu (mg/dL)</b>	<b>Venöz Kanda Glikoz Konsantrasyonu (mg/dL)</b>
<b>Diyabet</b>		
Açlık	≥110	≥126
2 saat postglikoz	≥200	≥200
<b>Bozulmuş Glikoz Toleransı</b>		
Açlık	<110	<126
2 saat postglikoz	140–199	140–199
<b>Bozulmuş Açlık Glikozu</b>		
Açlık	X	100–125
2 saat postglikoz	<140 veya <200	<140 veya <200

**2. 2. 2. Hemoglobin A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>) seviyeleri:** Diyabet teşhisi için HbA<sub>1c</sub> seviyelerinden de yararlanılmaktadır (17). Uluslararası Klinik Biyokimya Derneği (IFCC) tarafından, HbA<sub>1c</sub>'in β-zincirinin N-terminal (valinin) amino grubuna glikoz bağlanması ile oluşan dayanıklı yapı HbA<sub>1c</sub> olarak tanımlanmıştır (18). HbA<sub>1c</sub> diyabet taramalarında kullanılan etkin ve kullanışlı bir yöntemdir. Eğer bireylerin HbA<sub>1c</sub> değerleri % 5,6'ya eşit ya da büyükse, ilerde diyabet olma riskleri yüksektir (17).

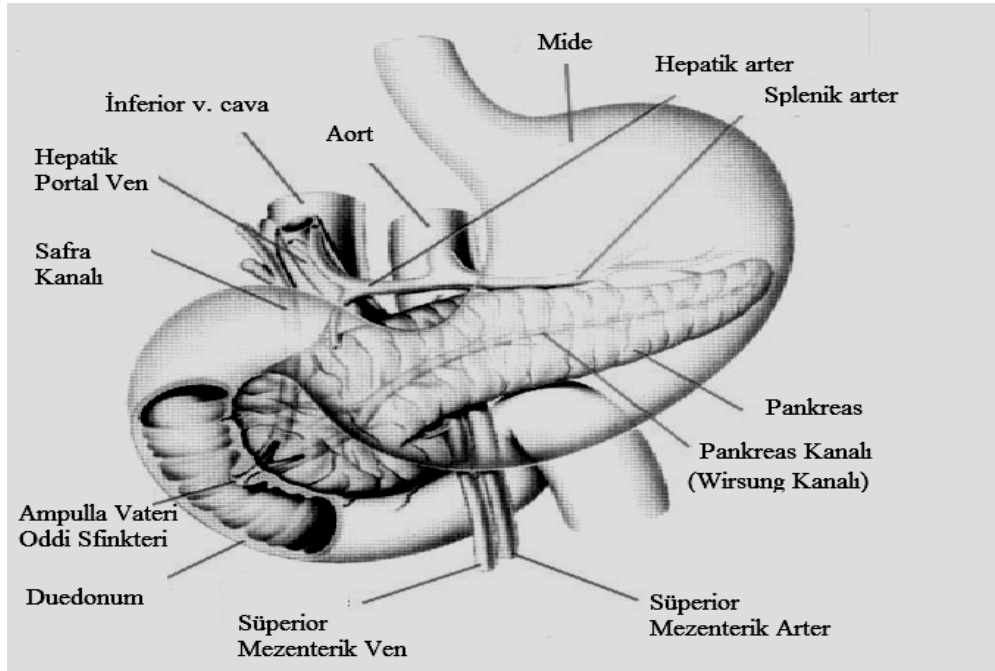
Tablo 2. 2. HbA<sub>1c</sub> ile ortalama glikoz değerleri arasındaki ilişki, (18).

HbA <sub>1c</sub> (%)	6	7	8	9	10	11	12
Ortalama plazma glukoz(mg/dl)	135	170	205	240	275	310	345

### 2. 3. PANKREAS

Omurgalıların tek insülin kaynağı olan pankreas, hem sindirim hem de glikoz homeostazından sorumludur (2). Endokrin, ekzokrin ve kanal hücre tiplerinden oluşan büyük, bileşik bir bezdir (2, 8). İnsanlarda midenin kaudalinde ve gastrointestinal kanala göre karaciğerin karşı tarafında yer alan pankreas, 60 ila 170 g. ağırlığında, 13 ila 25 cm uzunluğunda, yaprağa benzer, lobüllerden oluşan yapıya sahiptir (2). Baş, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere dört bölümden oluşmaktadır. Baş, duodenum kavsine uzanır. Kuyruk kısmı dalak ve sol böbreğe dokunmaktadır. Boyun ve gövdesinin ön yüzü periton ile kaplıdır (2, 8, 19, 20).

Wirsung kanalı olarak da bilinen pankreas kanalı, pankreas boyunca yatay olarak uzanır. Bu kanal pankreasın ekzokrin fonksiyonunda görev alan asiner hücrelerinden sindirim enzimlerini alan büyük bir kanaldır. Sindirim enzimleri, safra kanalı ile birleştiği yer olan Ampulla Vateri'de (Oddi sfinkteri) duodenuma boşaltılır. Sindirim enzimleri karbonhidratları, proteinleri ve yağları sindirir (2).



Şekil 2. 1. Pankreasın yapısı.

Pankreasın endokrin fonksiyonu ise Langerhans adacıkları tarafından yürütülür. Bu adacıklar pankreasın kuyruk kısmında baş ve gövdeye göre daha bol bulunurlar. İnsanda 1–2 milyon kadar adacık hücresi bulunmaktadır (19).

Pankreas, çölyak ve üst mezenterik arterlerce beslenir ve pankreastan kan portal ven yolu ile uzaklaştırılır. Aynı bir kılcak damar ağı da asinüs ve adacıkları besler (20).

Pankreasa vagus sinirinin dalları ulaşır ve pankreastaki kolinerjik sinirlerle kavşak yaparlar. Sempatik sinirler ise üst mezenterik ve çölyak arter ağlarından gelerek pankreasın kan damarlarında daralmaya sebep olurlar (20).

### **2. 3. 1. Ekzokrin Pankreas**

Pankreasın büyük bir kısmını oluşturan ekzokrin pankreas, asiner hücrelerden oluşur. Sindirim enzimleri, asiner hücrelerden sentezlenir (2). Bu hücreler salgı yapan hücreler olup, salınan enzimlerin tekrar hücrelerarası alana geri geçişini engelleyen sıkı bağlantı kompleksleri ile birbirlerine bağlanmışlardır (21).

Asiner hücreler piramit şeklindedirler ve çok sayıda zimogen granülleri ihtiva ederler. Zimogen granüllerinden proteaz, amilaz, nükleaz ve lipaz gibi sindirim enzimleri salınır. Besin çeşidine bağlı olarak salınan bu enzimler inaktif proenzim olarak üretilirler. Sindirim kanalına girdikten sonra enterokinaz enzimi ile aktif hale geçerler. Sindirim enzimleri, pankreas kanalı (Wirsung kanalı) boyunca geçip, Oddi sfinkterinden duodenuma taşınırlar. Kanal boyunca, kanal hücrelerinden bol miktarda sodyum bikarbonat salgılanır (2, 8).

### **2. 3. 2. Endokrin Pankreas**

Pankreasın Langerhans adacıklarından oluşan kısmıdır. İlk kez 1869 yılında Alman Hekim Paul Langerhans tarafından bulunmuştur. Pankreasın her tarafına dağılmış çok sayıda hücre kümeleridir. Salgılarını kana verirler (2). Pankreatik kitlenin %2'sini oluşturur (20). Adacıklardaki hücreler morfolojilerine ve boyanma özelliklerine göre dört tiptir. Pankreastaki adacık kitlesini çeşitli oranlarda temsil eden bu hücrelerin; %70–80 beta ( $\beta$ ) hücreleri, %15–20 alfa ( $\alpha$ ) hücreleri, %5 delta ( $\delta$ ) hücreleri, %1 pankreatik peptit (PP) veya gama ( $\gamma$ ) hücreleridir (2, 19).

Ayrıca, hassas immün boyama teknikleri ile türlere göre çeşitlilik gösteren diğer adacık hücrelerinde, yine türlere göre çeşitli hormon ve peptitlerin salındığı gösterilmiştir (22).

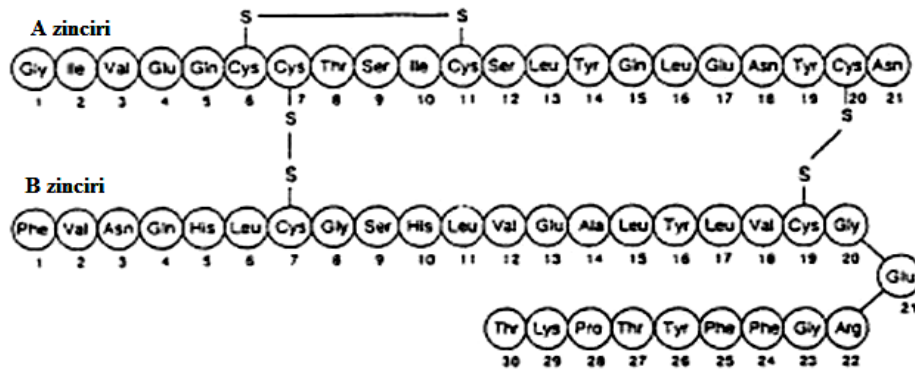
## 2. 4. İNSÜLİN

İlk kez 1921 yılında Banting ve Best tarafından pankreas dokusundan izole edilen insülin, glikoz metabolizmasının önemli hormonal düzenleyicisidir (23). Keşfinden kısa bir süre sonra saflaştırılmamış formu, pankreası çıkarılmış köpeklerde ve diyabet hastalarında kullanılmıştır. Pankreastaki  $\beta$  hücreleri tarafından üretimi, depolanması ve kontrollü sekresyonu söz konusudur.  $\beta$  hücrelerinin otoimmün hasarına bağlı olarak insülin sentezindeki şiddetli azalma veya eksiklik Tip 1 diyabete, insüline karşı direnç veya yetersiz insülin reseptörleri ise Tip 2 diyabete sebep olmaktadır (2).

İnsülin glikoz hemostazisinden sorumlu olduğu kadar, yağ ve protein metabolizmasının düzenlenmesinde de rol oynar (24).

### 2. 4. 1. İnsülinin Yapısı

İnsülin, disülfid köprüleriyle birbirine bağlanmış iki aminoasit zincirinden oluşur. A ve B zincirleri denen bu kısımlar, A zinciri 21 ve B zinciri 30 aminoasit olmak üzere 51 aminoasitten meydana gelmektedir (25, 26). İki peptit zinciri arasında; CysA7 ile CysB7 ve CysA20 ile CysB19 arasında disülfid kovalent bağları bulunmaktadır. Ayrıca aynı zincirinde CysA6 ile CysA11 arasında da disülfid bağ bulunmaktadır. İnsan insülininin molekül ağırlığı 5808 daltondur (25).

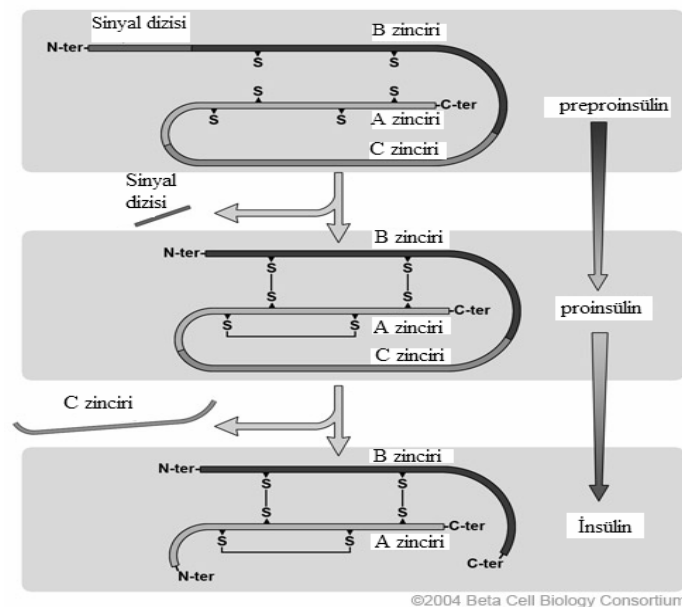


Şekil 2. 2. İnsan insülini molekülü, (27).

## 2. 4. 2. İnsülinin Biyosentezi

İnsülin sentezini uyarmak için az miktarda glikoz konsantrasyonu (2–4 mM) yeterlidir (2). Plazma glikozu 50 mg/dl altına indiğinde insülin sentezi hemen hemen hiç olmazken, en yüksek insülin cevabı ise plazma glikozunun 300 mg/dl seviyesinde gerçekleşir (20). İnsülinin biyosentez hızı, besinler, nörotransmitterler ve hormonlar gibi birçok faktör tarafından kontrol edilir (2).

İnsülinin sentezi, 11. kromozomda yer alan insülin geninin translasyonu ile başlar (28). İlk olarak 110 aminoasitten oluşan inaktif preproinsülin yapılır (29). Bunun 24 aminoasit uzunluğundaki kısmı sinyal peptididir. Sinyal peptit, sentezlenmekte olan preproinsülinin granüllü endoplazmik retikulum (GER) lümenine doğru hareket etmesini sağlar. Hidrofobik rezidülerden zengin olan sinyal peptidindeki SRP (sinyal tanıma peptidi), GER üzerindeki SRP reseptörüyle birleşir ve GER lümenine geçiş hızlanır. GER içerisindeki sinyal peptidaz ile 24 aminoasitlik kısım ayrılır ve proinsülin oluşur. Proinsülin, amino terminal B zinciri, karboksi terminal A zinciri ve C peptidinden oluşur. Endoplazmik retikulum içerisinde birçok özel peptidazla karşılaşan proinsülinde C-peptit kısmı ayrılır. Proinsülin ATP bağımlı yolla cis-golgiye klatrin kaplı veziküllerle taşınır. A ve B zincirleri  $Zn^{2+}$  varlığında sıkı kristaloid yapıyı oluştururlar (20, 25, 30, 31, 32, 33, 35).



Şekil 2. 3. İnsülin oluşum basamakları, (34).

Sağlıklı sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, proinsülinin büyük bir kısmının sekretuar granüllere yönlendirildiği görülmüştür. Ancak açlık halinde, çok az bir kısım proinsülinin ve C-peptidin dolaşımında bulunduğu çeşitli tekniklerle gösterilmiştir. Proinsülin, insülinden daha yavaş olarak dolaşımdan uzaklaştırılmaktadır. Bunun nedeni ise; insülin reseptörünün proinsüline daha az duyarlı olduğudur (2).

Önceleri proinsülinin katlanmasına yardım ettiği düşünülen C-peptidin farklı dokularda da fonksiyonlarının olduğu görülmüştür. Örneğin; renal fonksiyon üzerinde glikoz kullanımını artırıcı etkisi, insüline bağımlı diyabette otonom sinir fonksiyonunu iyileştirici ve insülin sekresyonunu doğrudan etkilediği yapılan çalışmalar arasındadır (2).

### 2. 4. 3. İnsülinin Salgılanması

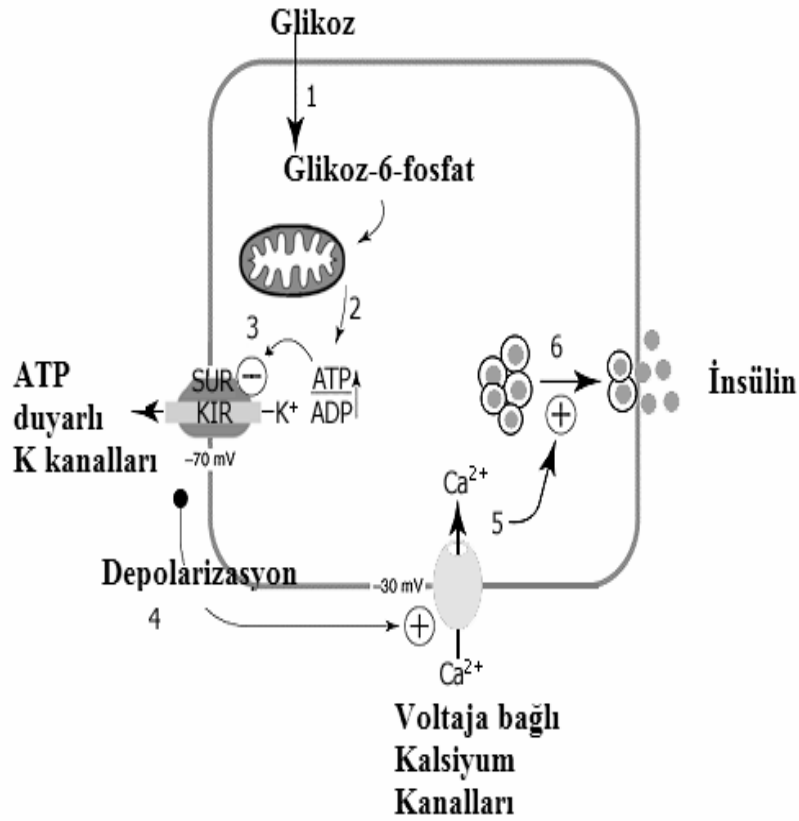
Aşırı miktarda karbonhidrat varlığında,  $\beta$  hücrelerinden salgılanan insülin, glikozun öncelikle karaciğer ve kaslarda glikojen şeklinde depolanmasını sağlar. Glikojen şeklinde depolanmayan glikozun fazlası, yağa çevrilerek yağ dokusunda depo edilir. Beta hücrelerinden insülin salgılanmasının ana kontrolü kandaki glikoz konsantrasyonundaki artma ise de bazı besinler, hormonlar da insülin salgılanmasını artırabilirler (8, 36,).

Tablo 2. 3. İnsülin salgısını arttıran veya azaltan faktörler (8).

<i>İnsülin Salgısını Artıranlar</i>	<i>İnsülin Salgısını Azaltanlar</i>
Artmış kan glikozu	Azalmış kan glikozu
Artmış kan amino asitleri	Açlık
Artmış kan serbest yağ asitleri	Somatostatin
Gastrointestinal hormonlar (gastrin, kolesistokinin, sekretin, gastrik inhibitör peptit)	Alfa adrenerjik aktivite Leptin
Glukogon, büyüme hormonu, kortizol	
Parasempatik uyarı	
B adrenarjik uyarı	
İnsüline direnç	
Sülfonilüre bileşikleri	

İnsülinin salgılanması olayı kısaca şöyle açıklanabilir:

1. Glikoz, insülinin bağımsız glikoz taşıyıcı (GLUT 2) ile pankreasın  $\beta$  hücresine alınır.
2. Glikoz, glikokinaz ile fosfatlanır ve glikoz-6-fosfat oluşur.
3. Glikoz-6-fosfat katabolize olur ve piruvat oluşur.
4. Piruvat mitokondride sitrik asit döngüsüne katılır ve ATP oluşur.
5. Hücre içinde ATP miktarının artmasıyla ATP'ye duyarlı  $K^+$  kanalları kapanır ve hücre zarı depolarize olur.
6. Zarın depolarizasyonu sonucu ekstraselüler  $Ca^{2+}$  iyonları hücre içine geçer ve olgun insülin taşıyan granüllerin ekzositozunu sağlar (37, 38).

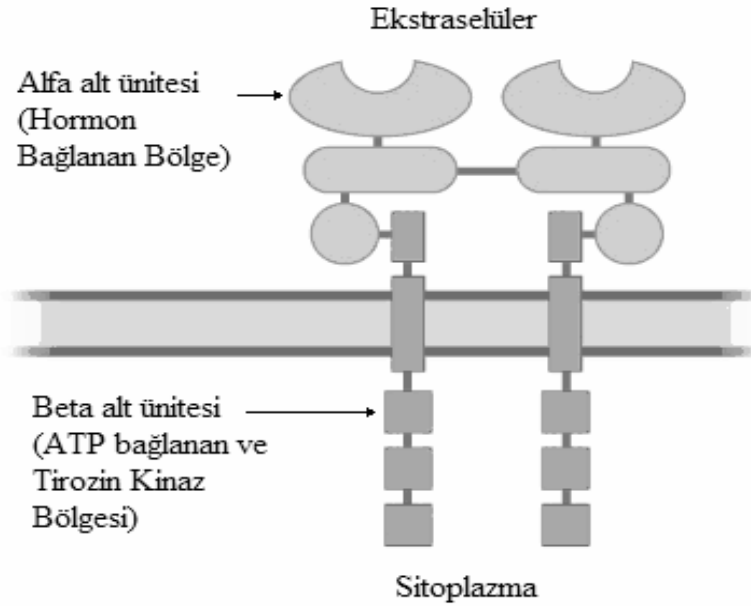


Şekil 2. 4. İnsülinin salınması, (38).

#### 2. 4. 4. İnsülinin Etki Mekanizması

İnsülinin hücrede etki gösterebilmesi için, reseptörüne bağlanması gerekir. Reseptör, tek bir mRNA'dan sentezlenir ve yaklaşık 300.000 molekül ağırlığında bir zar proteindir (20). Birbirine disülfid köprüleriyle bağlanan, iki alfa ve iki beta alt ünitesinin bir araya gelmesiyle oluşan tetramerik yapıya sahiptir (39). İki alfa alt birim hücre dışında bulunur ve ligand bağlanan bölgelere sahiptir, iki beta alt ünite ise hücre içinde bulunur ve sitoplazmaya doğru uzanır.

Omurgasızlarda tek tip insülin reseptörü bulunurken, omurgalılarda üç farklı reseptör tipi tanımlanmıştır: İnsülin reseptörü (IR), insülin benzeri büyüme faktörü reseptörü (IGF-IR) ve insülin reseptörüyle ilişkili reseptör (IRR) (39).



Şekil 2. 5. İnsülin reseptörünün yapısı, (38).

İnsan insülin reseptörü 19. kromozom üzerinde bulunan 120 kb uzunluğa sahip 22 eksonlu bir gen tarafından kodlanmaktadır. 1985 yılında yapılan çalışmalarda, 5kb'lık insan insülin reseptörü cDNA'sının izolasyonu ve karakterizasyonu, tahmini insan insülin proreseptörünün alt birimlerinin sırasıyla 1343 ve 1355 aminoasitten oluştuğunu açıklanmıştır. Büyüklükteki farklılığın IR alfa alt ünitesinin C terminal ucundaki 12 aminoasitlik bir parçanın eklenmesi ya da çıkarılması sonucu oluştuğu bulunmuştur (39). IR geninin ekson-intron organizasyonu üzerine yapılan çalışmalarda, bu 12 aminoasitlik bölgenin 36 bp'lik

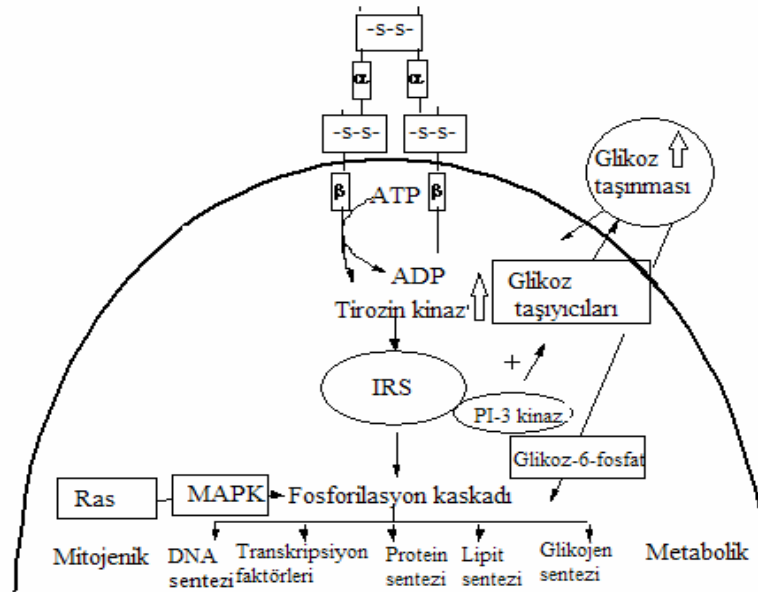
ekson 11 tarafından kodlandığını belirtmektedir. Bu durum, iki IR izoformunun oluşmasına neden olmaktadır. Bunlar; IR-A (ekson 11 içermeyen) ve IR-B (ekson 11 içeren) izoformlarıdır. IR-A, insülin benzeri büyüme faktörü-II'ye yüksek affinite gösterirken, IR-B insülin benzeri büyüme faktörü-II'ye yüksek affinite göstermez. IR-A ekspresyonu, embriyonik hayatta özellikle fetal gelişim ve büyüme için önemlidir. Bununla beraber IR-B ekspresyonu ise, özellikle yetişkin yaşamında, insülinin metabolik faaliyetinde görev alır (39).

İnsülin reseptörü tirozin kinaz reseptörünün bir alt ailesindedir. Tirozin kinazların kendini fosforile etme özellikleri vardır. Ligand bağlanmadığı zaman inaktif halde bulunurlar (40).  $\beta$  hücrelerinden sentezlenen insülin, hedef hücresindeki reseptörün alfa alt ünitesine bağlanır. İnsülinin reseptörüne bağlanması,  $\beta$  alt ünitelerinin karşılıklı fosforilasyonunu indükler ve iki  $\beta$  alt ünitesini birbirine yakın hale getirir. Bunu  $\beta$  alt ünitesinin tirozin kinaz ile otofosforilasyonu takip eder. Fosforilasyonun gerçekleşmesi üç sınıfa ayrılan uyarlayıcı proteinler üzerine etkilidir. Bu protein sınıfları; insülin reseptör substratları (IRS), shc proteini ve APS (associate protein substrate) proteinini içerir. IRS proteinleri fosforile olduğunda, hücre membranındaki inozitol fosfolipidlerin fosforilasyonu katalizlenir. Fosfaditilinozitol (3, 4, 5)-trifosfat (PIP3), PIP3 bağımlı kinazlar (PDK) ve protein kinaz B (PKB)'nin aktivasyonu olur (20). Protein kinaz B, *Akt1* ve *Akt2* genleri tarafından kodlanan bir proteindir. Protein kinaz B'nin uyarısı hücre içinde çeşitli proteinlerin aktivitelerini etkilemektedir (40). İnsülinin etkisiyle, fosfoinozitol3-kinaz (PI3K) ve PKB yolu aktive olarak başta glikoz metabolizması olmak üzere hücre döngüsü, apoptozis, DNA tamiri, büyüme gibi hücrenin yaşamsal faaliyetleri düzenlenir (40, 41).

Shc proteinleri insülinin, büyüme ve mitojenik aktivitesini düzenleyen MAPK (Mitogen-activated protein kinases) yolağı ile bağlantılıdır. Ras/Raf/MEK/ERK sinyal iletim yolu ile devam ederler (20). Ökaryotik hücrelerin tümünde mevcut olan bu proteinler, hücre membranından çekirdeğe bilgi aktarılmasında önem taşırlar. Ras/Raf/MEK/ERK sinyal iletim kaskadları, embriyogenezis, yaşama, çoğalma, diferansiasyon ve apoptozis işlevlerinin düzenlenmesinde rol oynar (40).

İnsülin, kas ve yağ dokusundaki hücre membranlarına glikoz taşıyıcısı GLUT-4'ün bağlanması indüklemektedir (19, 20). Bu işlem IRS/PI3K sinyal yolunu ve APS uyarlayıcı protein bağımlı yolu gerektirmektedir. APS uyarlayıcı yol küçük bir GTPaz yolunu aktive eder (20).

İnsülin etki mekanizmasının sonlanması önemli konulardan biridir. Sonlanma mekanizması üç yolla olabilir. İlki, reseptör aracılı endositoz ve yıkıcı yollar tarafından kendi reseptörünün down regülasyonunu teşvik etmesidir. İkincisi, insülin tarafından aktive edilen çeşitli serin/treonin protein kinazlar sonuçta IR ve IRS proteinlerini inaktive ederler. Üçüncü bir mekanizma ise sitokin sinyalinin baskılayıcı proteinlerinin aktivasyonunu kapsar ve bunun sonucunda, IR ve IRS proteinlerinin düzeyi veya aktivitesi azalır (20).



Şekil 2. 6. İnsülinin etki mekanizması, (43).

Önceden yapılan çalışmalarda beynin insülininden bağımsız bir organ olduğu düşünülüyordu. Ancak yapılan çalışmalarda nöronlarda ve astrositlerde insülin reseptörleri eksprese edilmiştir.

#### 2. 4. 5. Beyindeki İnsülin Reseptörleri

İnsülinin, merkezi sinir sisteminde enerji homeostazisi, üreme, nöronal canlılık ile öğrenme ve bellek gibi anahtar süreçler üzerine etki ettiğine dair

çalışmalar bulunmaktadır (36, 43). Beynin özel bölgelerinde, insülin reseptörlerinin bulunması, insülinin merkezi sinir sisteminde de rol oynadığını düşündürmüştür. (36, 44). İnsülin reseptörleri ilk kez 1978'de ligand otoradyografi yöntemiyle merkezi sinir sisteminde belirlenmiştir. Beyinde çok geniş bir alana yayılan insülin reseptörleri, olfaktor şişkinlik, hipotalamus, serebral korteks, serebellum ve hipokampusda yoğunlaşmıştır (42, 45).

Merkezi sinir sisteminde, insülin reseptörünün alfa ve beta alt ünitelerinin molekül ağırlıkları, periferdekinden farklı olarak daha düşük bulunmuştur (46). Merkezi sinir sisteminde sinyal iletiminin başlaması için, kan beyin bariyerindeki kan akımından ayrılan insülinin, reseptörüne ulaşması gerekmektedir. 1960'larda Margolis ve arkadaşları, periferal insülinin uygulanması sonucunda, serebrospinal sıvıda, insülin düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Bunun sonucunda da insülinin kan-beyin bariyerini geçebildiğini iddaa etmişlerdir (42).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, periferal olarak uygulanan insülinin %1'inden daha azının kemirgenlerin merkezi sinir sistemine ulaşabildiğini göstermektedir. Kan beyin bariyerini geçen insülin miktarı türler arasında çok büyük farklılıklar ve değişkenlikler göstermektedir (42).

Diyabet durumunda, dışardan insülin alınması sonucu, merkezi sinir sistemine ulaşan insülin miktarı artmaktadır. Sonuç olarak; insülin, reseptör aracılı taşıma mekanizması yardımıyla, kan beyin bariyerini aşarak merkezi sinir sistemine ulaşmaktadır. Merkezi sinir sisteminde de, öğrenme ve belleğin olduğu beyin bölgelerinden biri olan hipokampusta, nöronların glikoz ihtiyacının sağlamaktadır (36).

Yetişkin memeli beyinde iki çeşit insülin reseptörü bulunmuştur. Bu reseptörler sinyal iletimi bakımından benzer olmakla birlikte moleküler ağırlıkları bakımından farklıdırlar. Glial hücrelerde periferal tipteki IR bulunurken, nöronlarda ise daha düşük ağırlıklı IR bulunmaktadır (36). Bu beyine özgü IR, farklı glikolizasyonun sonucu oluşan düşük molekül ağırlıklı IR-A izoformudur.

Beyindeki insülin reseptörlerinin bilişsel fonksiyonları düzenlediği ve insülinin eksikliği ya da insülin direncinin olduğu durumlarda, zihinsel performansta azalmaya sebep olduğu belirtilmektedir (47).

## 2. 4. 6. Glikoz Taşıyıcı Proteinler

Glikoz hidrofilik bir molekül olduğundan hücre membranından difüze olamaz ve bir taşıyıcıya gereksinim duyar (48). Glikoz taşıyıcı proteinler ailesinin iki çeşidi bulunmaktadır. Bunlar sodyum-glikoz eş taşıyıcıları (SGLTs) ve sodyumdan bağımsız glikoz taşıyıcı proteinler (GLUT)'dir. Sodyum-glikoz eş taşıyıcıları tek katlı epitelin apikal membranlarında yerleşir ve glikozun epiteller arası taşınmasını sağlarlar (20). GLUT ise glikozun kolaylaştırılmış difüzyonunu sağlamaktadır. Bilinen yedi çeşit glikoz taşıyıcı protein bulunmakla beraber, çeşitli dokulardaki ve organlardaki dağılımları da farklılık göstermektedir (49).

Tablo 2. 4. Kolaylaştırılmış glikoz taşıyıcıları izoformları, (49).

Glikoz Taşıyıcıları	Etki Bölgeleri
GLUT 1 (55 kDa)	Eritrositler, kan-doku bariyerleri Beyin; kan- beyin bariyeri
GLUT 1 (45 kDa)	Mast hücreleri, bazal taşıyıcı Beyin; glia, nöronlar, koroid pleksus, endim hücreleri
GLUT 2	Karaciğer, böbrek, pankreas Beyin; astrosit
GLUT 3	Plasenta, sperm, platelet, Beyin; Nöronlar
GLUT 4	Kalp, kas, yağ dokusu Beyin; serebellum, hipokampus nöronları
GLUT 5	İnce bağırsak, makrofajlar, sperm Beyin; mikrogliya
GLUT 6	Pseudogen
GLUT 7	Karaciğer, böbrek, Beyin; astrosit

GLUT 1–2–3 insülden bağımsızken, diğerleri insülin bağımlı reseptörlerdir. GLUT 1 insan eritrositlerinin membranında bulunan önemli bir proteindir. Aynı zamanda, endotel hücreleri, kapiller damarlara yakın glial hücre uzantıları, endim

hücreleri, koroid pleksus ve sirküventriküller yapılarından oluşan kan doku bariyerinde de yoğun olarak bulunmaktadır (50). Ayrıca GLUT 1 embriyonik dokuların başlıca glikoz taşıyıcısıdır (49).

GLUT 3, serebral nöronlar tarafından eksprese edilen en etkili nöronal glikoz taşıyıcısıdır. GLUT 3, glikoza GLUT 1'den daha fazla affinite göstermektedir. Her iki taşıyıcı da merkezi sinir sisteminde aynı anda etki göstererek sinir hücreleri için enerji sağlar (50). GLUT 3 ayrıca plasenta, sperm ve insan plateletlerinde eksprese olmaktadır (49). GLUT 2 ise glikoza düşük affinite gösterir ancak glikoz konsantrasyonundaki geniş aralığında değişim orana göre, glikozun hücreye girişine izin verir (50). Ayrıca, GLUT 2 ince bağırsak, böbrek ve pankreatik beta hücrelerinin bazolateral yüzey membranında lokalizedir (49). GLUT 2, beynin farklı bölgelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve glia hücreleri tarafından eksprese edilir (50). GLUT 5, fruktoz taşıyıcısıdır. Beyinde mikrovasküler endotel hücrelerde ve mikroglialarda bulunur. Kas ve yağ hücrelerinde bulunan GLUT 4, insüline bağımlıdır ve insülinin etki mekanizması periferdeki kas ve yağ hücrelerine etki ettiği biçimdedir. Son yapılan çalışmalarda, GLUT 4'ün sıçan beyninde bazı özelleşmiş bölgelerde bulunduğu saptanmıştır (50). Özellikle; öğrenme ve belleğin şekillendiği beyin bölgelerinden biri olan hipokampusta, GLUT 4 reseptörleri önemli rol oynar. GLUT 4, sıçanların hipokampus nöron membranlarında bulunmakta ve hipokampusa bağımlı öğrenme sırasında nöronal aktivitenin artması ile glikozun nöronlar tarafından kullanımında artış olduğu gösterilmiştir. Böylece, insüline bağımlı glikoz reseptörlerinin beyinde bulunduğu görülmekte ve insülinin kan-beyin bariyerini geçtiği düşüncesi güçlenmektedir (51).

## **2. 5. NÖRONAL PLASTİSİTE VE GLUTAMAT RESEPTÖRLERİ**

Yaşamımız boyunca beynimizde sürekli değişimler meydana gelmekte ve bu değişimler beyin hasarına yanıt ve öğrenme-bellek gibi beynin yüksek entelektüel fonksiyonlarının işlendiği alanlarda da devam etmektedir (52). Bu değişiklikler kişinin hem çevreye adaptasyonunu hem de kişilik özelliklerinin oluşumunu sağlar (53).

Merkezi sinir sisteminin plastisite özelliği, bu sistemi ayrıcalıklı yapmaktadır. Nöronal plastisite yüksek beyin fonksiyonları olan öğrenme ve bellek için temeldir

(54). Nöronlar bu özellikleri sayesinde uyarılma sonucu oluşan nöronal değişikliklerini bireyin yaşamı boyunca devam ettirebilirler (55). Sinaps öncesi hücrelerde arada bir oluşan aksiyon potansiyelleri kalıcı etki bırakmazken, üst üste tekrar eden aksiyon potansiyelleri uzun erimli potansiyalizasyon (Long-Term Potentiation, LTP) oluşumunu sağlar. Uzun erimli depresyon (Long-Term Depression, LTD) ise LTP'nin tersidir (19, 55, 56).

Glutamat, beynimizin LTP yanıtlarında işlev gören bir aminoasittir. Beyin ve omurilikteki uyarıcı iletimde önemlidir. Glutamat reseptörleri; metabotropik reseptörler ve iyonotropik reseptörlerdir (19).

Metabotropik reseptörler hücre içi inozitoltrifosfat (IP3) ve diaçil gliserol (DAG) düzeylerini yükselten veya hücre içi cAMP'yi düşüren G proteinine kenetli petek reseptörlerdir. Onbir farklı alt tipi belirlenmiştir. Beyinde yaygın olarak dağılmışlardır ve bunlar özellikle hipokampus ve serebellumda nöronal plastisitenin oluşumuna katılır. Bu reseptörlere ait genlerden bir tanesinin, mGluR1 formlarından birinin devre dışı bırakılması şiddetli motor bozukluğa ve uzamsal öğrenmede eksikliğe neden olmaktadır (19).

İyonotropik reseptörler ise, ligand kapılı iyon kanallarıdır. İyonotropik glutamat reseptörleri üç tiptir.

—Kainat reseptörleri

—AMPA reseptörleri ( $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metilsoksoazol-4-propiyonik asit)

—NMDA reseptörleri (N-metil-D-aspartat)

Kainat ve AMPA reseptörleri  $\text{Na}^+$ 'un hücre içine ve  $\text{K}^+$ 'un hücre dışına akışına izin verirler.

NMDA reseptörleri bir katyon kanalıdır. Büyük miktarda  $\text{Ca}^{2+}$  geçişine izin verirler. Glisin, NMDA reseptörlerinin işlevini kolaylaştırmak için ona bağlanır. Glutamat, NMDA reseptörüne bağlandığında kanal kapalıdır çünkü normal zar dinlenim potansiyellerinde kanal  $\text{Mg}^{2+}$  iyonu tarafından bloke edilir. Bu bloklama hücrede depolarizasyon başladığında kalkar.

Hipokampusta yüksek derişimde bulunan NMDA reseptörü, öğrenme ve bellek gelişiminde rol oynar (19).

## 2. 6. ÖĞRENME VE BELLEK

Öğrenme ve bellek, beynin yüksek işlevlerindedir. Bu süreçlerin mekanizması hakkında son yıllarda birçok bilimsel çalışmalar yapılmaktadır. 20. yüzyıl “Beyin Yılı” veya “Bilişsel Nörobilim Yılı” olarak adlandırılmıştır (57).

Bireyler yaşadıkları ortamda bilinçli ya da bilinçsiz olarak etkileşimde bulunarak öğrenmeyi gerçekleştirirler ve öğrenme sonucunda bireyde bilişsel ve duyuşsal değişimler ortaya çıkar (1).

Öğrenme, deneyimler sonucunda bilgi kazanbilme yeteneği iken, bellek bilgiyi kodlama, depolama ve geri çağırma süreçlerini kapsar (58). Öğrendiklerimiz ve hatırladıklarımızla ise kimliğimiz oluşmaktadır. Belleğin oluşumundaki temel birimler, nöronlar ve bunların diğer nöronlar ile oluşturduğu sinapslardır. Nöron ve sinaps sayısı ne kadar fazla ise bellek o kadar güçlüdür (59).

Öğrenmeyi anlama çalışmalarında değişik zamanlarda ortaya çeşitli fikirler atılmış ve zamanla öğrenmenin nasıl meydana geldiği konusunda farklı kuramlar oluşturulmuştur. Öğrenmenin doğasını ve doğurduğu sonuçları açıklamaya yönelik ortaya atılan kuramlardan biri de nörofizyolojik ya da beyine dayalı öğrenme kuramlardır (1). Beyine dayalı öğrenme kuramına göre; öğrenme ile nöronlarda yapısal, kimyasal değişiklikler meydana gelmekte ve nöronlarda yeni akson iplikçikleri oluşarak, sinaptik bağlantıların sayısında artma olmaktadır (1, 19, 58). Beyine dayalı öğrenme kuramı, beynin işlev ve yapısına dayanan nörobilim, nörodilbilim ve bilişsel psikoloji ile bağlantılıdır. Beyine dayalı öğrenme kuramı Donald Olding Hebb tarafından sistematik hale getirilmiştir. Bu kurama göre iki çeşit bellek tipi vardır. Bunlar uzamsal (mekânsal) bellek ve bağıntısız bilgiyi göreceli olarak depolayan mekanik bellektir (58).

Öğrenme psikoloji alanında çalışan araştırmacılardan, Tolman ve Honzik 1930 yılında “gizil (latent) öğrenme” kavramını ortaya attılar. Bu araştırmacıların farelerle yaptıkları deneyde, bir grup fareye labirent içinde dolaşırken yiyecek ödülü vermişlerdir. Ödül vermeyele beraber 10 gün süren deneyde, farelerin çıkışa ulaşma hızında bir artma gözlemişlerdir. Ayrıca farelerin hata yapma sayılarının azaldığını görmüşlerdir. Farelerden oluşan ikinci bir gruba ise, labirentte dolaşırken yiyecek ödülü vermeyip, labirentte dolaşmalarını gözlemişlerdir. Ödül verilmeyen bu gruptaki farelerin, labirentte dolaşma hızlarında artma ya da hata sayılarında azalma

olmamıştır ve fareler labirenti dolaşıp kafeslerine geri dönmüşlerdir. Tolman ve Honzik yiyecek ödüllendirilmeyen ikinci gruptaki farelere bu kez labirentte dolaşırken yiyecek ödülü vermişlerdir. Bu deneyde ise, ödüllendirme yapıldığında farelerin koşma hızında artma ve hata sayısında azalma görmüşlerdir. Araştırmacılar, ödül verilmeyen farelerin labirenti gizil olarak öğrendiklerini ve farelerin uzamsal (mekânsal) ilişkileri öğrendiklerini, hatta labirentin bilişsel haritasını geliştirdiklerini belirtmişlerdir (60).

Epizodik bellek ile bağlantılı olduğu düşünülen mekânsal veya uzamsal bellek; kişinin yer ve uzaydaki nesnelere arasındaki ilişkiyi hatırlamasını sağlayan bilişsel bir süreçtir. Uzamsal bellek kişinin etrafındaki nesnelere hakkında topladığı bilgilerle oluşturulur. Örneğin; kişi uzamsal belleği vasıtasıyla tanıdığı bir şehirde rahatça gezebilir (61).

Uzamsal bellek ölçümleri için insanlar, maymunlar ve kemirgenler için çeşitli testler geliştirilmiştir (62). İlk kez 1976 yılında Olton ve Samuelson tarafından tasarlanan çok kollu labirent (sekiz kollu labirent) modeli, sıçanlarda uzamsal bellek ölçümlerinde kullanılmıştır (63).

Bilginin işleme düzeyine ve depolanma süresine göre bellek çeşitleri ise şunlardır:

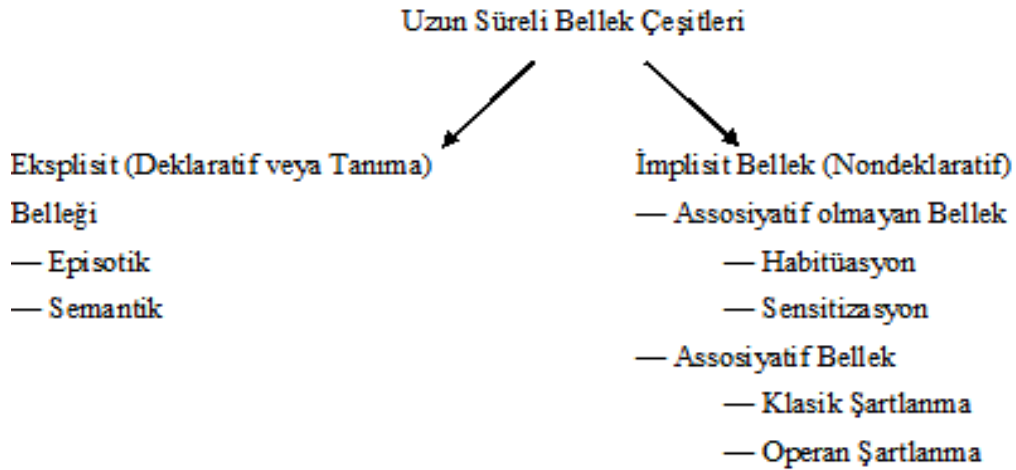
- Çok kısa süreli bellek (Primer Bellek)
- Uzun süreli bellek (Sekonder Bellek)
- Çok uzun süreli bellek (Tersiyer Bellek)

Çok kısa süreli bellek bir saniyeden daha kısa duyuşal sinyalleri saklamaya yarar. Bilgi sadece birkaç saniye için depolanabilir. Eğer bu bellekteki bilgiler kodlanırsa uzun süreli belleğe gönderilebilir (1, 58).

Uzun süreli bellek, kısa süreli bellekteki bilgilerin sık sık tekrarlanmasıyla oluşur. Bu bellekte bilgileri geri çağırma genellikle daha yavaştır (58).

Çok uzun süreli bellek sınırsız bir kapasiteye sahiptir ve yaşam boyu çok iyi derecede sindirilmiş bilgileri saklayabilir. Saklanan bilgiler kolaylıkla geri çağırılabilir (58).

Uzun süreli bellek çeşitleri eksplisit (deklaratif) veya tanıma belleği ve implisit (nondeklaratif) bellek olarak iki başlık altında toplanır. Bu bellek çeşitleri Şekil 2. 7.'de gösterildiği gibi gruplandırılır (19, 64).



Şekil 2. 7. Uzun süreli bellek çeşitleri.

### 2. 6. 1. İmplicit Bellek:

Bir kez kazanıldıktan sonra bilinçsiz ve kendiliğinden gerçekleşir. Uyanıklığı içermez, refleksif bellek olarak da adlandırılır. Beynin farklı bölgelerinde (neokorteks, striatum, serebellum, amigdala ve refleks yolları) işlenir. Habitüasyonda, canlıya uyarının sürekli verilmesi sonucunda, canlı giderek daha az yanıt oluşturmaya başlar yani canlı uyarana alışır ve artık uyarana aldırış etmez. Sensitizasyonda ise yenilenen uyarı, hoş giden ve gitmeyen türden bir uyararla beraber uygulanırsa daha büyük bir yanıt meydana gelir (19, 53).

Klasik şartlanmada canlıya, zayıf, zararsız ve koşullu bir uyararla ilişkili güçlü ve ağırlı koşulsuz bir uyarana verilir. Denemelerden sonra bu iki uyarının tekrar eden şekilde verilmesiyle canlı bu iki uyarana birleştirmeyi öğrenir ve şiddeti artmış bir cevapla koşullu uyarana tepkide bulunur. Örneğin, sıçanlara sesli bir uyararla elektriksel şok verilirse, bir süre sonra sadece ses duyulduğunda sıçanlarda korku davranışı olacaktır (65).

Operan şartlanmada bir ödül elde etmek veya cezadan sakınmak için gereken davranış öğrenilmektedir. Daha önce deneyimlenen olayla ilgili ses ya da koku olayın olumlu veya olumsuz yanlarını hatırlatabilir (64).

### 2. 6. 2. Eksplisit Bellek:

Bilinçli olarak öğrenilen ve hatırlama gerektiren bellektir. Eksplisit bellek bilinçli olarak ulaşabileceğimiz bilgileri içermektedir. Anlama, muhakeme ve

öğrenme gibi karmaşık görevler için gerekli bilgiler aktif olarak akılda tutulur. Dikkat ve müdahale gerektiren süreçler karşısındaki hedefe yönelik aktif izleme gerektiren davranışları gerektirir. Kişi, yer, nesne ve olguları hatırlanır. Episodik (anısıl) ve semantik olarak sınıflandırılır (65).

Epizodik bellek duygu, duyu, kişisel ve görsel bilgi içeren olayların kodlandığı bellektir. Kişinin yaşamıyla ilgili olaylar bu türdendir. Semantik bellek ise daha çok soyut bilgi veren bilginin kodlanmasını sağlar (53).

Öğrenme ve bellek bir bütün olarak işler. Belleğin oluşumu sırasında birçok beyin bölgesi (frontal lob, pariyetal lob, oksipital lob, temporal lob, hipokampusunda içinde bulunduğu limbik sistem) aktive olur (58).

### 2. 6. 3. İmplicit ve Eksplisit Belleğin Moleküler Temelleri

İmplicit bellekle ilgili omurgasızlar ve laboratuvar kemirgenleri üzerinde yapılan araştırmalarda, uzun süreli bellek oluşumunda çok sayıda aktif sinaptik bağlantı ve morfolojik değişimin olduğuna dair deliller elde edilmiştir (67). Memelilerde sinir devreleri oldukça karışık olduğu için daha basit olan omurgasız deniz salyangozu, *Aplysia*'de hücresele düzeyde sinir devreleri incelenmiştir. *Aplysia*, uzun süreli bellek ile ilişkilendirilebilecek, pratikle kazanılan çok özel davranışları öğrenebilmektedir. Bu canlı habitüasyon olayındaki gibi, sürekli olarak yapılan zararsız uyarılara gittice zayıflayan cevaplar vermeyi öğrenmiştir. Tam tersine *Aplysia*'ye, tekrarlayan zararlı bir uyarana karşı, şiddeti gittice artan cevap vermeyi öğrenmiş ve buna da sensitizasyon denmiştir. Hem sensitizasyonda hem de habitüasyonda duyuşal motor refleks deneyimle değişmektedir. Sensitizasyon ve habitüasyon, aksiyon potansiyeline cevap olarak kalsiyum akışındaki değişimlerle şekillenen presinaptik düzeyde bir araya getirilir. Habitüasyonda  $Ca^{2+}$  akışı, duyuşal nöron ucuna doğru azalır ve sonuç olarak glutamatın salınımı azalır. Bu olaya sinaptik baskılama denir. Buna karşın sensitizasyonda, kolaylaştırıcı bir serotonerjik ara nöronun aktivitesi, duyuşal nöron sonlanmasında cAMP konsantrasyonunu artırır, aksiyon potansiyeli ile uyarılan depolarizasyonun uzaması potasyum kanallarının fosforilasyonuna ve protein kinaz A (PKA)'nın aktivasyonuna yol açar.  $Ca^{2+}$  artması glutamat salınımını daha da artırır. Buna ise, sinaptik potansiyalizasyon (kuvvetlendirme) denir (18, 53).

Klasik koşullanmada hayvana, zayıf, zararsız ve koşullu bir uyarana ilişkili güçlü ve acılı koşulsuz bir uyarana verilir. Denemelerden sonra bu iki uyarının tekrarlı eşleştirmesini takiben hayvan bu iki uyarıyı birleştirmeyi öğrenir ve şiddeti artmış bir cevapla izole olmuş koşullu uyarana tepkide bulunur. Klasik koşullanmada, nöronal devrede duyu nöronu ve motor nöron arasındaki girdi bağlantılarının sinaptik gücü oldukça artmıştır. Koşullanma gerçekleşmeksizin oluşan öğrenmedeki değişkenliğe bakıldığında bu potansiyasyon hem presinaptik hem de postsinaptik mekanizmaları içermektedir. Bu iki uyarın arasındaki çakışma, sinapsın her iki tarafında yerleşik olan özel çakışma belirleyiciler tarafından ortaya çıkarılır. Presinaptik düzeyde çakışma belirleyici, adenil siklazdır. Adenil siklazın G proteini tarafından sağlanan aktivasyona verdiği cevap, koşullu yolun aktivasyonu tarafından hızlandırılan  $Ca^{2+}$  akışındaki artışı takiben Ca-kalmodilin bağlanması aracılığıyla aktive edilir. Post sinaptik kısımda ise çakışma belirleyici, ligand ve voltaja bağımlı glutamat NMDA reseptörüdür.  $Ca^{2+}$  kanalı yalnız glutamat tarafından açılmaz. Çünkü post sinaptik nöron dinlenme durumunda iken  $Mg^{2+}$  iyonları tarafından bloke edilir. Bununla beraber glutamat salınımı, koşulsuz ve koşullu uyarınların eşleştirildiği zamanda olduğu gibi, post sinaptik depolarizasyonla bağlantılı olduğu zaman,  $Mg^{2+}$  bloğu kaldırılır ve kanal açılabilir. Bu şartlar altında  $Ca^{2+}$  akışı protein kinazların aktivasyonuna, reseptörlerin fosforilasyonuna ve çoklu enzim kaskadlarının aktivasyonuna neden olan sinyal artırımı serilerini başlatır (18, 53, 64). Eksplisit bellek üzerinde yapılan çalışmalar daha kompleksdir. Çünkü, eksplisit bellek çoklu duyuşal girişlerin integrasyonu ve bilinçli bir hatırlama sürecini içermektedir. Bu yüzden, bu çalışmalar omurgasızlar ve daha düşük omurgalılarda anlamlı değildir ve memeli sinir sisteminin kompleksliğini gerektirmektedir. Memelilerde eksplisit belleğin moleküler mekanizmasını açıklayan çalışmalar, hipokampal parçalardaki ağlar üzerindeki, sinaptik plastisite çalışmalarından yararlanılmıştır. Uzamsal bellek ve cismin farkına varabilme testleriyle eksplisit bellek değerlendirilmiştir. Kemirgenlerde ve insanda bu tip bilinçli öğrenmede merkezi bir rol oynayan beyin alanı hipokampustur. Doğrudan deneysel kanıtlar hipokampusun tüm eksplisit bellek türlerinde, özellikle uzamsal bellekte yer aldığını göstermektedir (53).

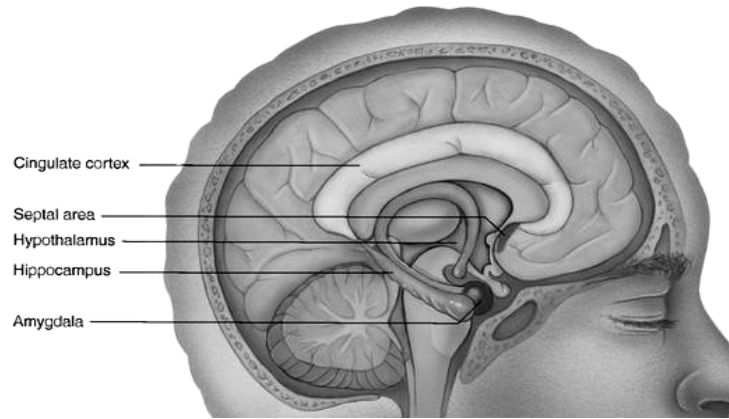
Deneklerin bir harita veya bir yol üzerinde zihinsel olarak çalışmalarını içeren tüm görevlerde orta temporal lobun aktivasyonunu gösteren fMRI (fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme) çalışmaları, bilinçli belleğin çeşitli formlarında hipokampusun önemini göstermektedir. Hipokampus, sinaptik plastisitenin en çok çalışılan ve en çok bilinen beyin bölgesidir. Canlıların deneyimi ile hipokampal LTP teşvik edilir ve tersine LTP'nin bozulduğu veya kaybolduğu durumda ise öğrenme bozulur (64).

LTP, eksplisit belleğin hücresel mekanizmalarına ilişkin tüm özelliklere sahiptir ve omurgasızlarda tanımlanan öğrenme mekanizmalarıyla benzerlik göstermektedir (55). Hem presinaptik hemde postsinaptik mekanizmalar, LTP oluşumunun erken fazlarına katılmaktadır. NMDA glutamat reseptörlerinin işlevi retrograd habercilerin oluşumu ve  $Ca^{2+}$ /kalmodulin bağımlı protein kinaz II (CaMKII)'yi içeren çoklu kinaz yollarının aktivasyonunu başlatmaktadır (67). LTP'nin geç safhaları ise CREB aktivasyonunu ve CREB hedef genlerinin transkripsiyonunun düzenlenmesini içermektedir. Bu olay protein ya da mRNA sentezini önleyen ilaçlarla bloke edilmektedir (53).

## 2. 7. HİPOKAMPUSUN YAPISI

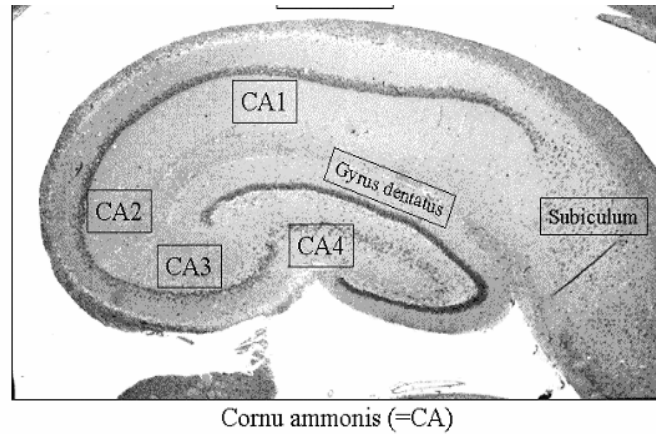
Hipokampus, beynin medial temporal lobunda bulunan, lateral ventrikülün alt boynuz tabanı boyunca uzanır. Bellek ve yön bulmada önemli rolü olan beyin bölgesidir (4). Şekil olarak denizatına benzediği için Yunanca deniz atı anlamına gelen hipokampus (Yunanca: hippos = at, kampos = deniz) adı verilmiştir (68, 69).

Hipokampus, duygusal davranışları ve motivasyon güdülerini kontrol eden limbik sistemde rol alır. Hipokampus, kendine bağlı temporal ve pariyetal lob ile beraber hipokampal yapıyı oluşturur. Bu yapı serebral korteks, amigdala, hipotalamus, septum, mamiller cisimler gibi limbik sistem bölgeleriyle dolaylı olarak bağlantılıdır (69).



Şekil 2. 8. Hipokampus.

Hipokampusun dış yüzü koçboynuzuna benzediğinden dolayı Cornu Ammonis (CA) adı ile anılmıştır. Hücre yapısındaki değişikliklerden dolayı dört alana bölünen bu kısım CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak adlandırılmıştır (68,69).



Şekil 2. 9. Hipokampusun yapısı.

CA1 subikuluma, CA4 ise dentat girusa en yakın olan alanlardır. Hipokampusun tabakalarına histolojik olarak bakıldığında, yedi ayrı tabakadan oluştuğu görülmektedir (68).

- 1-Alveus: Subikulum ve hipokampuse ait piramidal hücre aksonlarını içerir.
- 2-Stratum oriens: Piramidal hücrelerin bazal dendritleri ile internöronların yerleştiği tabakadır. Aksonların çoğu alveus liflerine katılırken bir kısmı ise derindeki moleküler tabakaya uzanır.

3-Stratum pyramidalis: Çoğunlukla büyük piramidal ve Golgi Tip II hücreleri bulunur. Hipokampusu asıl şeklini veren buradaki hücrelerin dizilişidir.

4-Stratum lucidum: Dentat girustan CA3 alanına giren yosunsu lifleri içerir. İnsanlarda daha belirgindir.

5- Stratum radiatum

6- Stratum lakunosum

7- Stratum moleculare, (68)

## 2. 7. 1. Hipokampal Yolaklar

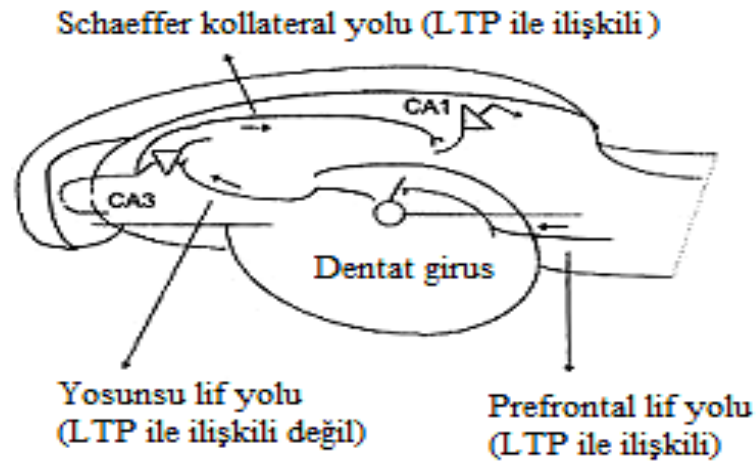
### 2. 7. 1. 1. Afferent Yollar

Entorinal alandan gelen duyu lar hipokampus a dört yolla iletilir.

1-Prefrontal yolak: Entorinal korteksten gelen aksonlar, CA4 alanı hariç bütün hipokampus a dağılır ve dentat girusa geçer.

2-Yosunsu (Mossy) lifler: Granül hücrelerinin aksonlarını içermekte ve hipokampus un CA3 bölgesindeki piramidal hücrelerde sonlanmaktadır.

3-Schaffer kollateralleri: CA3 ve CA2'den uzanan piramidal hücre uzantıları, CA1 bölgesinde sonlanmaktadır (64).



Şekil 2. 10. Hipokampal yollar.

4- Alvear lifler: Bu lifler subkortikal alanlardan gelirler ve hipokampus un CA1 ve subikulumun iç tabakasına dağılırlar (68).

Mossy fiber yolaktaki LTP presinaptiktir ve nörotransmitter olarak glutamat salınır. Glutamat ise hedef piramidal hücrelerdeki NMDA ve NMDA olmayan reseptörlere bağlanmaktadır. Bu yolakta postsinaptik NMDA ve metabotropik glutamat reseptörlerinin blokajının ve postsinaptik  $Ca^{2+}$  girişinin LTP üzerine etkisi yoktur.

Schaffer kollateral yolağındaki LTP ise postsinaptiktir ve nörotransmitter olarak glutamat kullanmaktadır. Schaffer kollateral yolaktaki LTP, NMDA tip glutamat reseptör aktivasyonu ile başlar. Bu yolaktaki LTP pek çok afferent aksonun uyarılmasını gerektirmektedir. Bu duruma işbirliği (cooperativity) denmektedir (64).

### **2. 7. 1. 2. Efferent Yollar**

Forniks hipokampusun en büyük efferent yoludur. Hipokampus beyin alanları ile ilişkidir. Hipokampus, efferent liflerini, esas olarak entorinal alana, subikulum ve septal çekirdeklere projekte eder (68).

### **2. 7. 2. Hipokampusun Bellek Oluşumundaki Rolü**

Yapılan çalışmalar hipokampusun yeni bellek oluşumunda rol oynadığını göstermektedir (54). Çevreden gelen duyuşal deneyimler hipokampusun küçük bir kısmını aktive eder ve limbik sistemin diğer kısımlarına sinyaller gönderir. Böylece, gelen duyuşal sinyaller farklı amaçlar için uygun davranış modellerini başlatır.

Hipokampusda oluşan ciddi hasarlanmalar yeni bellek oluşumuna büyük zararlar vermektedir (54). Hipokampusu epilepsi hastalığının tedavisi amacıyla çıkarılan hastalar, önceden öğrenilen bilgileri hatırlasalar bile, günün büyük kısmını beraber geçirdikleri kişilerin adlarını hatırlayamamışlardır. Daha eski anıların bozulmaması, zaman içinde anıların, hipokampustan beynin diğer kısımlarına transfer edildiği düşüncesine yol açmıştır. Ancak; hipokampus hasarları, yeni motor ve bilişsel becerileri öğrenme faaliyetlerini etkilemez. Bu ise, bazı yeteneklerin farklı bellek türlerine ve farklı beyin parçalarına bağlı olduğunu düşündürmektedir (19).

Hayvanlarda yapılan deneyler, hipokampustaki birçok sinir hücresinin mekânsal bellekle ilgili bilgileri taşıdığını ve hayvan bildik yerlerden geçerken bu sinirlerde hareketlenme olduğunu göstermiştir. Mekânsal bellekle ilgili hücreler, hipokampusun piramidal sinirleri dışında dentat girusun granüllü hücrelerinde de

bulunur. Hipokampus nöronlarının geri kalan kısmının çoğunu oluşturan inhibitör sinir hücreleri de yere bağlı aktivasyon gösterirler ama bunlar daha zayıftır.

1970'lerde bu mekânla ilgili hücrelerinin keşfi, hipokampusun, çevre topografyasının sinir sistemindeki temsilini oluşturan bilişsel bir harita olduğu düşüncesini ortaya çıkartmıştır. Sağlam bir hipokampuse sahip olmayan kişilerin yön bulma konusunda ciddi sıkıntılar gösterdikleri bulunmuştur. Beyin görüntüleme teknikleri kullanılarak yön bulma içinde olan insanların hipokampusunun daha aktif olduğu görülmüştür. Örneğin Londra'daki taksi şoförleri işe başlamadan sıkı bir testten geçerler ve kendilerinden pek çok yeri ve kısa yolları bilmeleri istenir. Londra'da yapılan araştırmada, taksi şoförlerinin hipokampuslarının ilgili kısımlarının daha büyük olduğu, şoför deneyimi arttıkça bu büyüklüğün daha da arttığı saptanmıştır (57).

## **2. 8. OKSİDATİF STRES**

Canlılar için hayati bir öneme sahip oksijen, hücrede enerji üretiminde kullanılmaktadır (70).

Organizmaların normal metabolik aktivitelerinde veya herhangi bir hasar durumunda ortaya çıkan serbest radikaller arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres denen olaya yol açmaktadır (4, 70). Hücrelerde ise oksidatif stresin temel kaynağı moleküler oksijendir. Moleküler oksijenin iki ortaklanmamış elektrona sahip olması özelliği ile yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturma eğilimi bulunmaktadır.

Oksidatif stres oluşumuna birçok kaynak sebep olmakla beraber, bu kaynaklar iki madde ile özetlenebilir (71, 72).

- Beslenme bozukluklarına bağlı olarak gerçekleşen antioksidanların yetersizliği,
- Çeşitli patolojik ve kronik hastalıklar sonucu serbest radikallerin üretiminin artması

### **2. 8. 1. Serbest Radikaller:**

Ortaklanmamış bir ya da daha fazla elektrona sahip, kısa ömürlü ve düşük ağırlıklı olabilen atom veya moleküller serbest radikaller olarak tanımlanır (70, 73, 74).

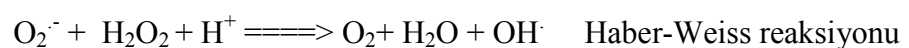
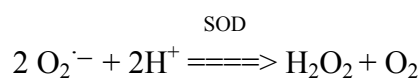
Bu radikaller katyon, anyon veya nötral olabilirler. Serbest radikaller elektron transferi, enerji üretimi gibi diğer metabolik işlevlere de katılırlar ancak kontrolsüz davranışları hücrede hasara sebep olmaktadır (71, 74). Çünkü serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, DNA ve nükleotidler gibi önemli bileşiklerine etki ederler ve yapılarının bozulmasına sebep olurlar (73).

## 2. 8. 2. Reaktif Oksijen Türleri:

**2. 8. 2. 1. Tekli (Singlet) Oksijen ( $^1O_2$ ):** Eşleşmemiş elektronu olmadığı için reaktif değildir ancak çeşitli moleküller için oksidan olabilir (71, 74).

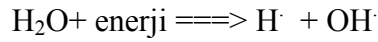
**2. 8. 2. 2. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ):** Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur (75). Elektron transport zinciri dışında hücrede, enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında veya enzimlerin aktivitesinden sonra oluşurlar. Süperoksit dismutaz enzimi ile inaktive edilir. Diğer radikaller kadar reaktif değildir ancak hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) kaynağıdır. Geçiş metallerinin varlığında ise daha reaktif olan hidroksil ( $\cdot OH$ ) radikaline dönüşür. Katalaz, glutatyon peroksidaz gibi bazı antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltabilir. Ayrıca NADH dehidrojenaz gibi enerji metabolizmasında rol alan bazı enzimlerinde aktivitesini azalttığı belirtilmektedir (71, 74, 75).

**2. 8. 2. 3. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ):** Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin  $O_2^{\cdot-}$  dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Hidrojen peroksit,  $Fe^{2+}$  veya diğer geçiş metalleri ile Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu oluşumuna katılabilir. Bunun sonucunda peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) ile daha reaktif olan hidroksil radikalini ( $\cdot OH$ ) oluşturur (71, 74, 76).

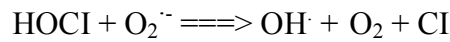




**2. 8. 2. 4. Hidroksil Radikali (OH<sup>·</sup>):** Son derece reaktif bir radikaldir. Fenton, Haber-Weiss ve peroksitnitrit reaksiyonları sonucu oluşurken, suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalması sonucunda da oluşur. Yarılanma ömrü kısadır. Başlıca lipitler, proteinler, karbonhidratlar, sitokromlar ve nükleik asitler de olmak üzere hemen tüm hücre makromoleküllerine zarar verir. DNA'nın baz ve şekerlerine zarar vererek DNA zincir kırılmalarına sebep olur. Eğer hasar fazla ise onarıcı sistemler tarafından onarılamayıp, hücre ölümüne sebep olabilirler. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına ve sonuç olarak büyük hasara sebep olabilir (71, 72, 74, 76).



**2. 8. 2. 5. Hipokloröz asit (HOCl):** Vücuda yabancı bir organizma girdiğinde makrofaj sistemleri uyarılır ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretilir. O<sub>2</sub><sup>-</sup> ise SOD enzimi tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüştürülür. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, miyeloperoksidaz enziminin aktiflemesi sonucu ortamda bulunan klor iyonları ile HOCl oluşturur. Bir kısım H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de geçiş metalleri varlığında yabancı organizmalar ve çevredeki vücut hücrelerine zarar veren OH<sup>·</sup> radikalini oluşturur (71, 72, 74, 76).



### 2. 8. 3. Reaktif Nitrojen Türleri:

**2. 8. 3. 1. Nitrik Oksit (NO<sup>·</sup>):** Hücresel membranları kolayca geçme yeteneğine sahip olan nitrik oksit, oksijen ve azot atomunun ortaklanmamış elektronlarının birleşmesiyle oluşur. Nitrojen monoksit de denen nitrik oksit molekülü hidrofobik ve yüksüz özelliktedir. NO'nun süpürücü etkisinin olmasının yanında, yüksek miktarlarda olması çeşitli hasarlara sebep olur. Normal konsantrasyonlarda guanilat siklaz ve protein kinazlar gibi hücre içi habercileri uyararak, damar düz kasının gevşemesine neden olur. Fazla konsantrasyonlarda DNA hasarına sebep olur.

Kan basıncının düzenlenmesi, bağışıklık hücreleri tarafından patojenlerin yıkımı ve sinirsel iletimde görevleri vardır (71, 72, 74).

**2. 8. 3. 2. Peroksinitrit Anyonu (ONOO<sup>-</sup>):** Nitratlayıcı ve güçlü oksidan ajandır. NO<sup>•</sup> ve O<sub>2</sub><sup>•-</sup>'nin etkileşimiyle oraya çıkan, DNA kırılması ve lipid peroksidasyonuna neden olan bu anyon güçlü toksik özelliğe sahiptir (75).

#### **2. 8. 4. Serbest Radikallerin Hücre İçindeki Etkileri:**

Serbest radikaller etkilerinin çeşitli doku ve organlarda hasarlar oluşturarak gösterirler (77). Hücrelerin protein, lipid, karbonhidrat, DNA ve enzim gibi yapılarına zarar verirler (70, 74, 76). Lipitler hücre membranı, mitokondri ve nükleus membranının önemli bir bileşenidir (70). Fosfat grupları içeren fosfolipitler hücreleri saran yapılardır ve bunların radikaller tarafından hasar görmesi hücre ömrünü kısaltmaktadır. Kolesterol ve yağ asitlerinin çoklu doymamış bağları oksidanlara karşı duyarlıdır. Oksidanlarla tepkimelerinden peroksidasyon ürünleri oluşur. Yağ asiti yan zinciri karbon atomlarından bir hidrojen koparır ve merkezinde karbon olan bir radikal oluşturur. Bu radikalın oksijen ile birleşmesinden peroksi ya da peroksil radikalleri oluşur. Bunlar ise diğer yağ asidi zincirleriyle tepkimeye girerek lipid hidroperoksitlerini oluştururlar. Lipit peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sonlanır. Böylece tiyobarbitürik asit ile ölçülebilen malondealdehit (MDA) ve 4- hidroksinonenal (4-HNE) oluşur. MDA lipid peroksidasyon düzeylerinin ölçümünde sıklıkla kullanılır. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan reaktif aldehitler hücre bileşenlerine ciddi zararlar verirler. Hidrofobik olduklarından membran geçirgenliğini değiştirirler. MDA ve 4-HNE nükleik asitlerle tepkimeye girerek, genetik malformasyona ve kanser oluşumuna sebep olabilirler (76).

Serbest radikaller proteinleri de önemli derecede etkilemektedir. Ancak etki mekanizması aminoasitlerin kompozisyonlarına göre farklılık gösterebilir. Özellikle; sistin, sistein, metiyonin, histidin gibi sülfür içeren aminoasitler hidroksil radikalının oksidasyonuna daha duyarlılardır. Reaktif oksijen türleri ile etkileşen enzimler inaktif hale, proteinler ise üç boyutlu yapılarının değişmesiyle denatüre olabilir.

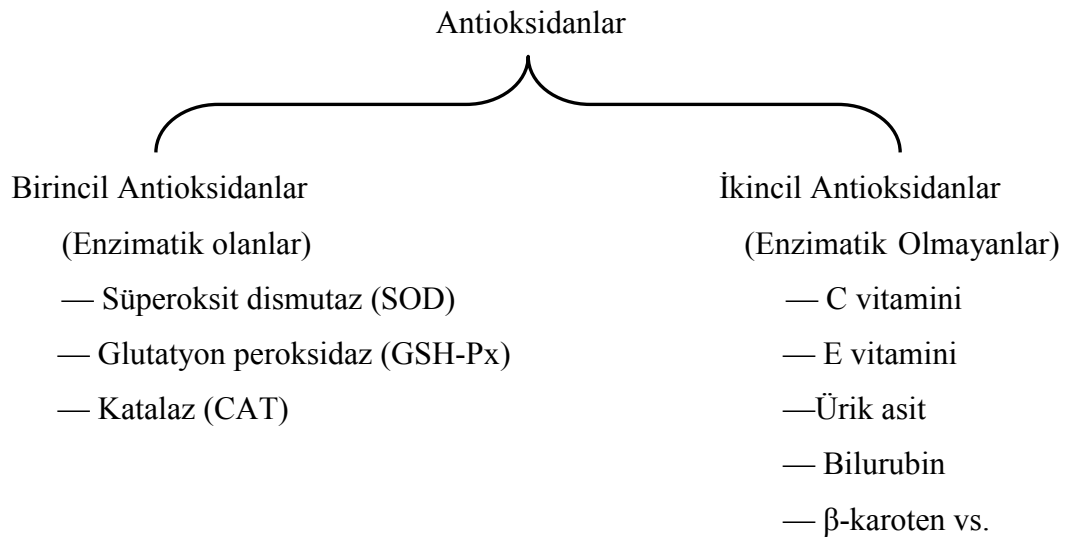
Başta hidroksil radikali olmak üzere serbest radikaller nükleik asitleri baz ve şeker yapılarına etki ederek yapılarını bozabilirler ve zincir kırılmalarına sebep olabilirler. DNA'dan kodlanan proteinlerde değişiklik oluşturabilirler. DNA onarıcı mekanizmaları inhibe ederek DNA tamirine engel olabilirler. Bunların sonucunda da karsinogenez, mutagenez, hücre yaşlanması ve hücre ölümüne neden olurlar (70, 71, 72, 75).

### 2. 8. 5. Antioksidanlar:

Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen ve serbest radikalleri yakalayıp, etkilerini durduran maddelerdir.

Antioksidanlar etki şekillerine göre; süpürücü, bastırıcı, onarıcı ve zincir kırıcı olarak sınıflandırılabilir (71, 72, 74). Mekanizmalarına göre ise birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılır (74).

Birincil antioksidanlar hücresel antioksidanlar olup, yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. İkincil antioksidanlar ise membran ve ekstraselüler antioksidanları olup, oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran bileşiklerdir (74).

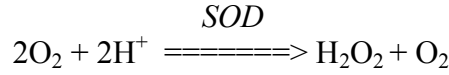


Şekil 2. 11. Antioksidanlar, (74).

#### 2. 8. 5. 1. Süperoksit dismutaz (SOD):

Süperoksit anyonunun, hidrojen perokside ve oksijene dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkilerini azaltır.  $H_2O_2$  de  $O_2^-$  gibi bir oksidan olmasına

rağmen daha az reaktif ve toksik etkiye sahiptir. Sitolik kısımda Cu-Zn içeren SOD ile mitokondride Mn içeren SOD ve ekstraselüler SOD olmak üzere üç izoformu vardır (70). Cu-Zn içeren SOD hücrede en fazla bulunan izomer olmakla beraber siyanidle inhibe olurken, Mn içeren SOD siyanidle inhibe olmaz (72, 74).

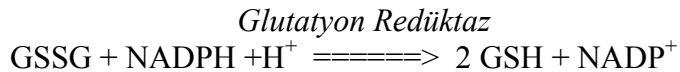
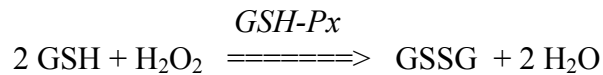


### 2. 8. 5. 2. Glutasyon ve Glutasyon Peroksidaz:

Tiyol grubu taşıyan bir tripeptit olan olan glutasyon (GSH), serbest radikallerin yıkıcı etkilerini azaltan veya önleyen birçok enzimin (transferaz, peroksidaz gibi) substratı olarak görev yapar. GSH hücre membranını lipid peroksidasyonuna karşı korur.

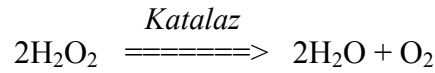
Birçok hücrede bulunan GSH hücre içindeki tekli oksijen, süperoksit anyonu ve hidroksi radikalleri gibi zararlı oksidanlarla enzim katalizi olmadan tepkimeye girebilir.

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) dört Se atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Substratı olan GSH ile  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin suya dönüşümünü ve okside glutasyonu (GSSG) katalizler. Glutasyon redüktaz ise NADPH varlığında okside glutasyonu (GSSG) indirgeyerek glutasyon ve  $\text{NADP}^+$  oluşumunu sağlar (72, 74).



### 2. 8. 5. 3. Katalaz:

Katalaz peroksidomlarda yerleşmiş olup, dört adet hem grubu içerir. SOD enzimi etkisiyle meydana gelen ve zararlı olan hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), katalaz ile su ve oksijene dönüştürülür.  $\text{OH}^-$  oluşumu önlenir (72, 74).



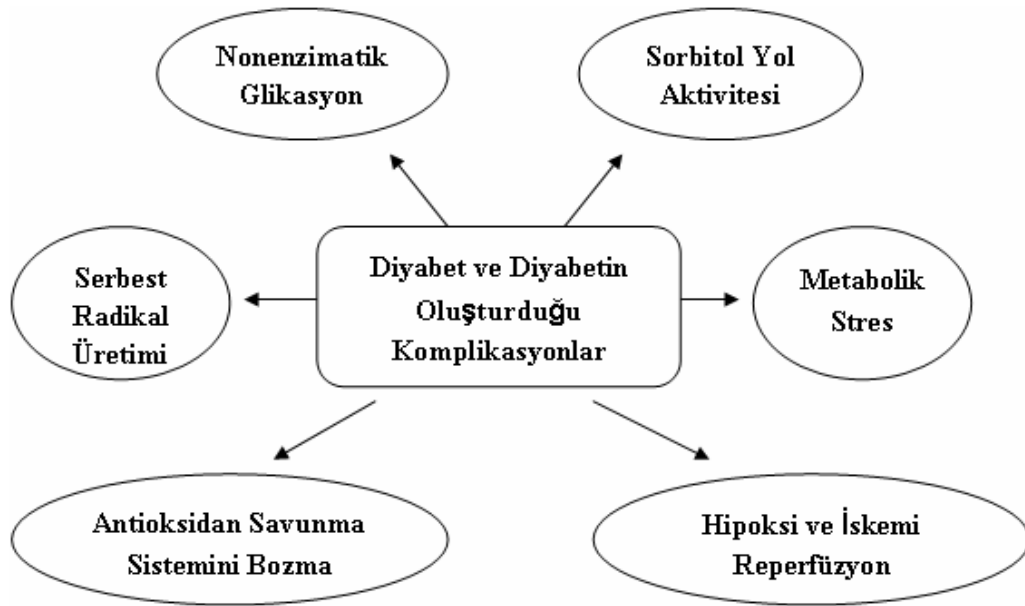
Tablo 2. 5. Diğer Antioksidanlar ve Etkileri, (76).

<i>Antioksidan</i>	<i>Etkileri</i>
Karotenoidler	Hidrofobik antioksidan
Vitamin E	Hidrofobik antioksidan
Askorbik asit	Hidroksil radikal giderici
Niasin, Triptofan	NADH/NADPH öncüsü
Riboflavin	GSH redüktaz için kofaktör
Selenyum	GSH peroksidazın tamamlayıcısı
Zn <sup>2+</sup> /Cu <sup>2+</sup>	SOD tamamlayıcısı
Manganez	SOD tamamlayıcısı
Biyoflavanoidler	Hidrofobik antioksidan
Bitki Fenoller	Hidrofobik antioksidan
GSH	Endojen hidrofilik antioksidan
Ubikinon	Endojen hidrofobik antioksidan
NADH/NADPH	Endojen hidrofilik antioksidan
Transferin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu inhibe eder.
Glukoz	Hidroksil radikali gidericisi

### 2. 8. 6. Diyabet ile Oksidatif Stres Arasındaki İlişki:

Diyabetle, insülin yetersizliği veya insüline direnç sonucu, glikozun hücrelerden tarafından alınmaması, kandaki glikoz konsantrasyonunun artmasına sebep olmaktadır. Hiperglisemi olarak bilinen bu durum oksidan üretiminde artmaya ve antioksidan sistemlerde bozulmalara sebep olmaktadır (76, 77).

Diyabetle gelişen hiperglisemi, serbest oksijen radiklerinde artışa sebep olmaktadır. Birçok diyabetik komplikasyonların etiyolojisinde oksidatif stresin olduğuna dair kanıtlar vardır (76).



Şekil 2. 12. Diyabetin oluşturduğu komplikasyonlar.

Diyabet ile artan serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal veya fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır (78). Hipergliseminin oksidatif stres ile olan ilişkisi in vivo çalışmalarla desteklenmiştir. Deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan N-nitroso türevi streptozotosinin oksidan maddeler meydana getirdiği ve Langerhans adacıklarını tahrip ederek diyabete sebep olduğu belirtilmektedir (73).

Diyabette, yağ ve kas dokuları tarafından insüline bağımlı glikoz alımının bozulması, glikoz konsantrasyonunun kanda yüksek düzeyde kalmasına sebep olur. Sonrasında, insülden bağımsız dokular tarafından glikoz alımı artar. Glikoz miktarındaki bu artış, hem oksidan üretimini artırır, hem de antioksidan savunma mekanizmalarını bozar. (77).

Glikoz hücrelerde enerji kaynağı olarak kullanılır ancak kullanılmayan glikoz poliyol yolu ile sorbitol ve fruktoza çevrilir. Aldoz redüktaz ile oluşan sorbitol normalde membranı geçemez ancak yüksek konsantrasyonlarda osmotik basınç ile insülden bağımsız hücrelere geçebilir. Bu durumda NADPH/NADP<sup>+</sup> oranı azalır. NADPH ise okside olan glutatyonun redükte forma geçmesinde ve NO sentezlenmesinde rol oynar. Ancak NADPH'daki azalma bu olayların oluşumunu

engeller. Bu durum oksidan üretimine ve vasküler komplikasyon gelişimine sebep olur. Vasküler komplikasyon sonucu ise endonörol kan akımı azalır, hipoksi veya iskemi gelişir. Ayrıca sorbitolün hücre içinde artması, miyoinozitol düzeyinde azalmaya sebep olur. Bu azalma ile Na-K ATP<sub>az</sub>'ın aktivitesi azalır ve sinir iletim hızında yavaşlama meydana gelir (77).

Artmış glikoz, diaçil gliserol (DAG) kinazı inhibe eder ve fosfolipaz C'nin aktivasyon mekanizmalarıyla, yeni DAG sentezine sebep olup, protein kinaz C (PKC)'yi aktifleştirir. PKC'nin artması, mitokondriyal NADPH oksidazı aktive ederek oksidatif stresi artırır. Oksidatif glikoz redükte forma geçemediği için süperoksit anyonunun mitokondrideki üretimi artar. Süperoksit anyonu ise hidroksil radikali ve hidrojen peroksidaza dönüşür. Ayrıca, mitokondriyal süperoksit anyonunun artması, gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenazın (GAPDH) aktivitesini inhibe eder. Sonuçta, glikolitik araçlar GAPDH'nin inhibe olmasıyla birikir ve DAG'nin daha fazla artmasına yol açar. Glikozamin-6-fosfat, heksozamin biyosentetik yolu ile üretilir. Glikozamin-6-fosfat, glikozamin-6-fosfat dehidrojenazın aktivitesini inhibe eder. Glikozamin-6-fosfat dehidrojenaz ise NADP<sup>+</sup>'nin NADPH'a indirgenmesini sağlar ancak inhibe olduğundan bu indirgenme olmaz ve NADPH/NADP<sup>+</sup> oranı daha da düşer ve oksidatif stres artar. Bu şartlarda önemli hücrenel antioksidanlar, yapılarını koruyamaz ve oluşumları da azalır. NADPH'ın azalması, okside glutatyondan (GSSH) indirgenmiş glutatyonun (GSH) azalması, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>'ne çeviren katalaz enzimi aktivitesini azaltır (73, 77).

Yüksek hiperglisemik şartlarda, glutatyonun ve NADPH'ın vasküler endotel dokularda azalmasıyla, düz kas hücreleri ve makrofajlar tarafından NO sentaz aktivitesi uyarılır ve serbest radikal olan NO açığa çıkar. NO ise süperoksit anyonu ile reaksiyona girme eğilimi gösterir ve daha da reaktif ürün olan peroksinitriti (ONOO<sup>-</sup>) oluşturur. Bu ise lipit peroksidasyonunu, protein nitrasyonunu ve LDL oksidasyonunu artırır. Ek olarak oksidatif streste, PKC aktivasyonunun artmasıyla serbest yağ asitleri artar. PKC'nin aşırı aktivasyonu NF-kB inhibitörü olan IκB-α'yi azaltır. Stres, serbest radikaller, UV ışınları, okside LDL, bakteriyel ve viral antijenlerle uyarılan NF-kB, DNA hasarına sebep olmaktadır (76).

## 2. 9. PROPOLİS

Propolis, bal arılarının çeşitli bitkilerin tomurcuk ve filizlerinden topladığı özütleri, bal mumu ve diğer bitkisel maddelerle karıştırarak oluşturduğu, yapışkan reçinemsi organik bir maddedir (79). Adını eski Yunanca'dan alır, ön, giriş anlamına gelen "pro" ve topluluk, şehir anlamına gelen "city" kelimelerinden oluşmaktadır (80).

### 2. 9. 1. Propolisin Özellikleri ve Antioksidan Etkileri:

Arılar, kovanı, kovandaki çatlak yerleri ve içerisindeki besinleri ve larvaları korumak için propolisi kullanır. Kovanı propolis ile sararak, kovanı hem dışarıdan gelen tehdit edici uyarılara korurlar hem de kovanın dezenfeksiyonunu sağlarlar. Kovan içine alınan ölmüş canlıları propolis ile mumyalayarak kokuşmasını önlerler (80). Oda sıcaklığında yarı katı halde bulunan propolis, koyu sarı veya kahverengi renkte olabilmektedir.

Propolisin anti bakteriyel, anti viral, anti fungal, anti inflamatuvar, antibiyotik, anti oksidan, immün uyarıcı etkileri yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. İnsanlar çok eski zamanlardan beri propolisi yaraların iyileştirilmesi, kanser için tedavi edici olarak kullanmışlardır (80, 81, 82). Propolisin kimyasal içeriği, bulunulan bölgeye ve o bölgedeki bitkilerin türlerine göre değişir. Ancak propoliste genel olarak birçok maddeden söz edilmektedir. Bunların başlıcaları; flavonoidler, terpenler, streoidler, çeşitli aminoasitler, polisakkaritler, hidrokarbon, alkol, hidroksibenzen, aromatik asitler ve ester bileşiklerdir (5, 80).

Yapılan çalışmalarda, propolisin içerdiği flavonoidler ve fenolik bileşikler sayesinde, yüksek anti oksidan etkisinin olduğu belirtilmiştir (81, 84). Flavonoidler, iz elementlerle veya radikallerle antioksidan özellik göstermektedirler (85). Propolisin sulu ve alkol ile hazırlanmış özütleri elde edilebilir (81). Çeşitli bölgelerden toplanan propolisin sulu özütünün, süperoksit anyonuna karşı antioksidan olduğu belirtilmiştir (83). Lipit peroksidasyonunun artması sonucu SOD aktivitesindeki azalma, propolis uygulandıktan sonra değişmiştir. Propolis uygulanması ile SOD aktivitesi artmış ve lipit peroksidasyonu azalmıştır. Diyabet

sonucu yüksek miktarda oluşan NO ve NOS, propolis uygulandıktan sonra azalma göstermiştir (86).

Ayrıca yapılan çalışmalarda antioksidan özelliği olan propolisin sulu özütünün, beyni çeşitli nöron kaynaklı hastalıklardan ve Alzhemier Hastalığından koruduğu gösterilmiştir (87).

Propoliste bulunan bazı mineraller çinko (Zn) başta olmak üzere, kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum (K), sodyum (Na), demir (Fe), bakır (Cu), ve mangan (Mn) olarak belirlenmiştir (85, 88).

Çinko, pankreasın alfa ve beta hücrelerinde bulunur. Özellikle beta hücrelerinde bulunan çinko, insülinin sentezinde, depo edilmesinde ve salınmasında önemli rol oynar (89). Ayrıca, çinko, serbest radikal süpürücü enzimlerin önemli bir bileşeni olup, lipid peroksidasyonunu engellemektedir (70).

Bakır, serulaplazmin, sitokrom c oksidaz, superoksit dismutaz, dopamin β-hidroksilaz gibi metalloproteinlerin fonksiyon görebilmesi için gereklidir (101). Çalışmamızda SOD aktivitesine katılan bakırın serumdaki değerlerine bakmayı incelemeye değer gördük.

Kalsiyum vücudumuz için önemli bir eser elementtir. Kemik ve dişlerin yapısında yer alan kalsiyum, fonksiyonel olarak kanın pıhtılaşması, hormonların salgılanması, iyonların transportu ve nöronlarda ekzositozla nörotransmitterlerin salınması gibi vücutta birçok görevi üstlenmiştir. Vücudumuz için bu kadar önemli olan bu elementin homeostazından bağırsak, böbrekler ve kemikler sorumludur. Kalsiyum homeostazını bozan çeşitli durumlar olmakla birlikte, birisi de diyabet durumudur. Diyabetle, kalsiyumun böbreklerden emilimi azalır (90).

## **2. 10. DİYABET OLUŞTURMANIN DENEYSSEL MODELLERİ**

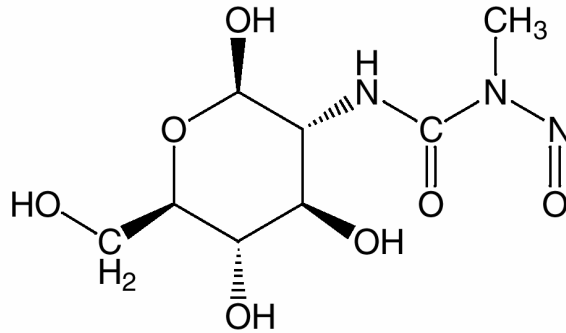
Günümüzde birçok deneysel diyabet modelleri bulunmaktadır. Çeşitli hayvan türlerinde diyabet kimyasal yolla, cerrahi yolla, virüsle veya genetik yollarla yapılabilmektedir. Deneysel daha çok küçük kemirgenler (sıçan, fare, hamster) kullanılarak yapılmaktadır (91). En sık kullanılan yaklaşımlardan biri kimyasal yolların kullanımındır.

Kimyasal uygulamalar streptozotosin ve alloksanla yapılmaktadır. Her iki kimyasal da glikoz analogu sitotoksik maddelerdir ve pankreasın beta hücrelerine seçicilik gösterirler (92).

Bu ilaçlardan en çok streptozotosin kullanılır (%69) (93). İnsüline bağımlı ve insülininden bağımsız diyabetin her ikisini de tetiklemek için kullanılır. İntravenöz, intraperitoneal veya subkutan olarak uygun çözelti ve pH da 40–60 mg/kg olarak 1 gece öncesinde aç bırakılan sıçanlara uygulanır. STZ uygulamasından 6 saat sonra, glikoz çözeltisi, sonrasında da normal yem ve suları verilir. 72 saat sonra açlık kan glikoz değerleri, kuyruktan alınan 1 damla kan ile glikozmetre ile ölçülür (91, 93, 94).

### 2. 10. 1. Streptozotosin (STZ) ve Hücre Hasarı

Kimyasal olarak *2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrosoüreido)-D-Gluko-piranoz* şeklinde adlandırılır. *Streptomyces achromogenes*'den orjinal olarak elde edilir (94). İlk kez 1963'te Rakieten ve arkadaşları tarafından diyabetojenik olduğu öne sürülmüştür. Streptozotosin alkilleyici bir ajandır ve oksidan özelliğe sahiptir. DNA zincirleri arasındaki çapraz bağları alkilleyerek RNA ve protein sentezini etkiler (92).



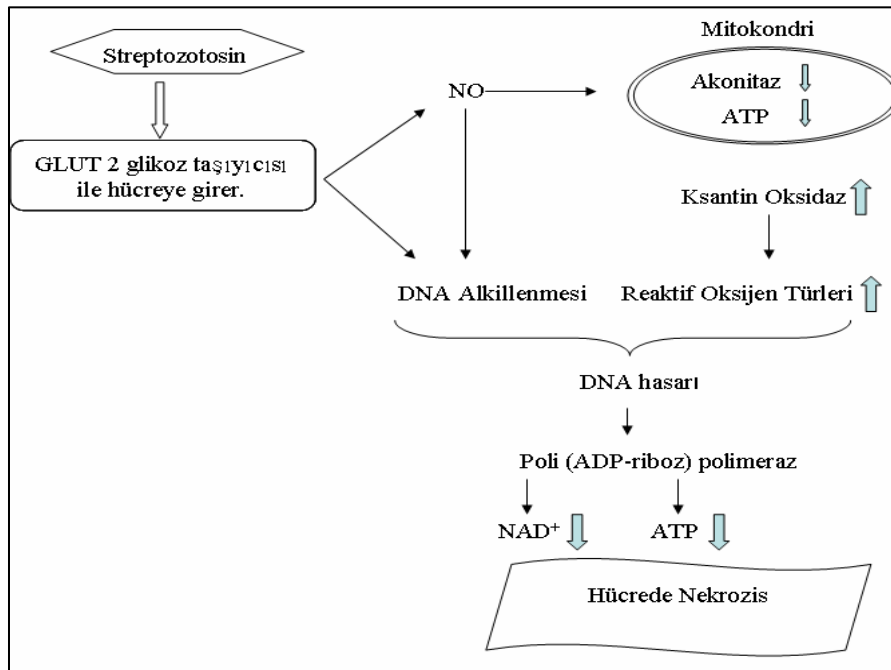
Şekil 2. 13. Streptozotozinin yapısı.

STZ, yapısındaki glikoz molekülü ile beta hücrelerinde bulunan glikoz reseptörlerine (GLUT 2) bağlanır. STZ hücre içine alındıktan sonra metabolize olur ve STZ ile indüklenmiş beta hücrelerinde DNA'nın alkillemesine sebep olur.

STZ hücrede metabolize olurken nitrik oksit (NO) vermeye başlar ve NO ise pankreas beta hücrelerinde STZ ile indüklenmiş DNA hasarı oluşturur. DNA

hasarına karşı Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) aşırı şekilde sentezlenir ve hücrel NAD<sup>+</sup> depoları tükenir (92).

Yapılan araştırmalara göre STZ'nin sitotoksik etkisi bununla sınırlı değildir. STZ metabolizasyonu sonucu oluşan NO, mitokondride krebs dōngüsünü etkiler. NO, demir dūzenleyici proteinlerde akonitaz enzim aktivasyonunu engelleyerek mitokondrinin oksijen kullanımını azaltır. Bunun sonucunda ATP oluşumu kısıtlanır. ATP'nin azalmasıyla beraber ksantin oksidaz artar ve buna bağlı olarak ürik asit üretimi artar. Sonuçta süper oksit radikalleri artar ve hücreyi nekroza götüren hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri oluşur. Pankreas beta hücreleri azalan ATP sonucu insülin sentezi ve sekresyonu yapamaz duruma gelirler (92, 93, 94, 95, 96).



Şekil 2. 14 Streptozotocinin etki mekanizması, (94).

Bu çalışmada, STZ ile sıçanlarda diyabet oluşturarak, propolisin açlık kan glikoz seviyesine, öğrenme ve bellek oluşumlarına, vücut ağırlığına, vücuttaki iz element seviyelerine ve oksidatif stres belirteçlerine nasıl etki edeceğini araştırdık.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3. 1. Araştırma Tipi:

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen 2010/132 no'lu yüksek lisans tez çalışma projesidir.

#### 3. 2. Araştırmanın Evreni:

İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden erişkin (2,5 aylık) erkek Sprague Dawley cinsi 60 adet sıçan temin edildi. Sıçanlar 30 günlük deney sürecinde sabit oda ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ve havalandırılmalı ortamda tutuldu. Her bir kafeste 5 sıçan kalacak şekilde yerleştirildi. Deney gruplarının özelliğine uygun olarak hazırlanan besin içecekleri her gün aynı saatte yenildi. Kafeslerin temizliği haftada iki defa olmak üzere yapıldı.

#### 3. 3. Kullanılan Araç ve Gereçler:

Santrifüj	Heraeus Labofuge 200
Su Banyosu	M96K Elektro-Mag
Hassas Terazi	PM 100 Mettler
Hassas Terazi	Ar2140 Ohaus
Derin Dondurucu	Nuaire NU-6501E
Spektrofotometre	Shimadzu UV-1601 ve UV-120-01
Ph Metre	Mettler Toledo MP 220
Saf su cihazı	Barnstead D11931 ve MP-6A
Soğutmalı Santrifüj	Hettich Rotina 48 RC
Isıtıcı	Elektro-Mag MK318
Çalkalamalı Benmari	Memmert W014
Distile Su Cihazı	Barnstead D11931-MP-6A
Homojenizatör	IKA WERK RW T25B

### 3. 4. Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemler:

Rastgele seçilen sıçanlardan her grupta 15 sıçan olacak şekilde 4 grup yapıldı. Tek tek tartılan sıçanların ağırlıkları kaydedildi. Deney süresince ölen ve diyabet olmayan sıçanlar çalışmaya dâhil edilmedi.

#### 3. 4. 1. Deney Grupları:

1. Grup: Kontrol
2. Grup: STZ
3. Grup: Propolis + STZ (P+STZ)
4. Grup: STZ + Propolis (STZ+P)

1. Grup: Kontrol grubuna deney süresince normal pellet sıçan yemi verilip herhangi bir kimyasal işlem uygulanmadı. Normal çeşme suyu istenildiği kadar verildi.

2. Grup: STZ grubuna distile suda çözünen STZ bir gün öncesi aç bırakılan sıçanlara, 45 mg/kg tek doz olacak şekilde intra peritonel olarak uygulandı (97).

3. Grup: Propolis+STZ (P+STZ) grubuna, önce Alves de Lima ve arkadaşlarının uyguladıkları yöntemle göre STZ uygulamasından 2 gün önce, taze olarak hazırlanan 0,012 g/ml propolis suda çözünmüş olarak verildi. Sonrasında STZ grubundaki gibi STZ uygulaması yapıldı ve propolis 30 gün boyunca suda çözünmüş olarak verilmeye devam edildi (98).

4. Grup: STZ+Propolis (STZ+P) grubuna, STZ uygulaması yapıldıktan 3 gün sonra diyabet olduğu belirlenen sıçanlara Alves de Lima ve arkadaşlarının uyguladıkları yöntemle göre hergün taze olarak hazırlanan 0,012 g/ml propolis (30 gün) suda çözünmüş olarak verildi (98).

#### 3. 4. 2. Streptozotosinin Hazırlanması:

Sigma Aldrich'den ( $\geq 75\%$   $\alpha$ -anomer basis,  $\geq 98\%$  powder "S0130") Streptozotosin temin edildi. STZ distile suda uygun sıcaklık ve pH'da çözülerek, 45 mg/kg olarak intra peritonel verildi (97, 99). STZ uygulandıktan sonra, sıçanlara 6 saat kadar %5'lik dekstroz çözeltisi verildi. Sonrasında normal taze suları ve yemleri verilmeye devam edildi.

**3. 4. 3. Kan glikoz değerlerine bakılması:**

STZ uygulamasından 72 saat sonra sıçanların kuyruklarından alınan 1 damla kandaki glikoz değerlerine *On Call Plus* kan glikoz metresi yardımıyla bakıldı (91). Deneyin başında ve sonunda olmak üzere iki kez kan glikoz değerlerine bakıldı ve not edildi. 200 mg/dl ve üzeri kan glikoz seviyelerinde olan sıçanlar diyabet olarak kabul edildi (3).

**3. 4. 4. Hayvanların Tartılması:**

Her bir sıçan köpük kutu içinde tartıldı ve ağırlıkları kaydedildi. Çalışmanın başında ve sonunda tartım işlemleri yapıldı.

**3. 4. 5. Propolisin Sulu Eksratının Hazırlanması:**

Zonguldak Arı Birliği'nden kestane propolisi elde edildi. Propolis normal oda koşullarında rutubetsiz ve karanlık ortamda saklandı. 100 g propolis iyice parçalandı. Üzerine 900 ml ılık su eklendi. Koyu renkli şişede +50 °C'de 8 saat su banyosunda bekletildi. Daha sonra süspansiyon -20 °C'de oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Çözelti filtre edildi ve filtrat koyu renkli şişeye alındı. Filtre edilen kalıntılara 600 ml ılık su eklendi. Aynı işlemler tekrar edildi. Daha sonra filtre kalıntılarına 400 ml ılık su eklendi ve üç ılık su eklemesinden sonra filtre edilen propolis çözeltisi koyu renkli şişede muhafaza edildi (71, 98). Son solüsyondaki propolis miktarı 0,012 g/ml olarak hesaplandı.



Şekil 3. 1. Labirent uygulamasının yapıldığı ortam.

### 3. 4. 6. Işınsal Kollu (Sekiz Kollu) Labirent Uygulaması:

Deneyde kullanılan bütün sıçanlara sekiz kollu labirent uygulaması yapıldı. Labirent deney başlamadan önce hazırlanmış olup özellikleri şu şekildedir:

Labirentin alt platformu koyu renkli tahta, kolları şeffaf sert plastikten yapılmıştır. Orta kısımda merkezi platform oluşturulup bu platforma 8 adet kol yapılmıştır. Platformun merkezi çapı 25 cm kadar ve 8 kolun her biri 10 x 50 cm<sup>2</sup> boyutlarındadır.

Kolların distal uç noktalarından 2 cm içeride olacak şekilde bir besin kabı gömüldü. Besin kabı delikli bir bez ile alt ve üst kısma ayrıldı. Normal pellet yem besin kokusunun eşit yayılması amacıyla bütün alt kısımlara konuldu ve sıçan bu kısma ulaşamadı. Üst kısma ise sıçanın ulaşabileceği şekilde sadece 1, 3, 5 ve 7. kolların üst kısımlarına besin koyuldu. Düz bir zemine kurulan labirentin yerden yüksekliği 50 cm'dir.

Labirent deney aşamasında beyaz fayanslı, ışık ve sıcaklığı iyi ayarlanmış odada bulunduruldu. Deney sürecinde labirentin bulunduğu odadaki herhangi bir nesnenin yeri değiştirilmeyip odaya gerek olmadıkça başka bir araştırmacı alınmadı. Deney boyunca ortamın sessiz olmasına ve deneyin hergün aynı saatte başlatılmasına

dikkat edildi. Her deneme bitiminde labirentin kolları alkollü temiz bir bez ile temizlendi.

Sıçanlara deneyin ilk 20 günü latent öğrenme çalışmaları yapıldı. Latent öğrenmede, aç bırakılmayan sıçanlar 8 kollu labirenti tanıma sürecine alındı. Burada labirentin 1, 3, 5 ve 7 kollarına yem konularak, labirentin etrafındaki duvara görsel işaretler yerleştirildi. Orta bölmeye konulan sıçanlar tek tek labirente alındı ve orta bölmedeki sepetin kaldırılmasıyla yine her biri için 300 saniye (5 dakika) süre başlatıldı. Bu süre içinde sıçanların etrafındaki işaretleri kullanarak kollara bir kez girmesi “doğru”, kolla ikinci kez girişi “yanlış” olarak değerlendirildi. 5 dakikadan önce bütün kollara giren sıçanlar labirentten çıkarıldı ve labirentte geçirdikleri toplam süre ile birlikte doğru ya da yanlış kola girme sayıları kaydedildi. Her sıçan için tek tek yapılan değerlendirmeler not edildi (62, 100).



Şekil 3. 2. Çok kollu labirent.

Sıçanlar 20 günün sonunda kısa süreli ve uzun süreli bellek çalışmasına tabi tutuldu. Bir gece öncesi aç bırakılan sıçanlar labirentin 1, 3, 5 ve 7 kollarına yem konuldu. 2, 4, 6 ve 8 kollarına ise yem konulmadı. Aç olan sıçanlar latent öğrenme

çalışmasında öğrendikleri gibi kollara girip 5 dakika içindeki hareketleri kaydedildi. Aynı kola tekrar girmeleri kısa süreli bellek hatası, yem olmayan kola girmeleri ise uzun süreli bellek hatası olarak değerlendirildi. 5 dakikadan önce yem konulan kollara giren sıçanlar labirentten çıkarıldı ve labirentte geçirdikleri toplam süreleri kaydedildi. 10 gün boyunca yapılan bellek çalışmaları her bir sıçan için ayrı ayrı yapılarak not edildi (62).

### **3. 4. 7. Cerrahi Uygulamanın Yapılması:**

Labirent uygulamalarından sonra bütün gruplar anestezi verilmeden önce kan glikoz ölçümü glikoz metre ile yapıp kaydedildi. Ketamin/Xylazin (90mg/kg i.p./10mg/kg i.p.) anestezi uygulanan sıçanların kalplerinden 5–6 ml kan örnekleri ve hipokampus örnekleri alındı (71). Hipokampus dokuları -80 °C’de enzim çalışmaları için saklandı. Kan örnekleri eser element çalışmaları için hazırlanan tüplere alındı. Santrifüj sonrası serumları  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  çalışmaları için elde edildi ve ependorf tüplerine alınarak -80 °C’de saklandı.

### **3. 4. 8. Eser Element Analizleri:**

#### **3. 4. 8. 1. Serumda $Ca^{2+}$ düzeylerine Bakılması:**

Alınan serum örneklerindeki  $Ca^{2+}$  miktarları Turgut Özal Tıp Merkezi’nde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda, Architect 16000 ünitesinde analiz edildi.

#### **3. 4. 8. 2. Serumda $Zn^{2+}$ ve $Cu^{2+}$ düzeylerine Bakılması:**

Alınan serum örnekleri Turgut Özal Tıp Merkezi’nde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (Analyst 800 alev ünitesinde) ile  $Zn^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  düzeylerine bakıldı. Serum örnekleri kullanılarak %0,3’lük Nitrik oksit çözeltisi ile standartlar oluşturuldu.

0,125 ppm, 0,250 ppm, 0,50 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm’lik standartlara karşı körlenen atomik absorbsiyon spektrofotometresinde serum  $Cu^{2+}$  miktarları  $\mu\text{g}/\text{dl}$  olarak okundu.

0,0625 ppm, 0,125 ppm, 0,250 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm’lik standartlarına karşı körlenen atomik absorbsiyon spektrofotometresinde serum  $Zn^{2+}$  miktarları  $\mu\text{g}/\text{dl}$  olarak okundu.

### 3. 4. 9. Hipokampus Dokularının Enzim Çalışmaları İçin Hazırlanması:

Çalışma günü, derin dondurucudan çıkarılan hipokampus dokuları, hassas terazide tartılarak ağırlıkları kaydedildi. SOD, GSH-Px, CAT enzim aktiviteleri, TBARs ve protein çalışmaları için dokuların hazırlanmasında Tris-HCl tamponu kullanıldı. Cam tüplere konulan doku üzerine 2 ml Tris-HCl (pH=7,4) tamponu eklendi. Buz doldurulmuş plastik kap içerisine yerleştirilen cam tüpteki doku 16.000 devir/dk hızda 2 dakika homojenize edildi. Son hacim; Tris- HCl tamponuyla 3 ml'ye tamamlandı. Vorteksle 1–2 dakika karıştırıldıktan sonra homojenattan 1ml yedeğe alındı. 0,5 ml homojenat TBARs ölçümü için ependorflara alındı. Geriye kalan 1,5 ml homojenat Cu-SOD, GSH-Px ve CAT enzim aktivitesi ölçümü için 4000 rpm'de ve +4 °C sıcaklıkta 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edildi ve derin dondurucuda saklandı.

#### 3. 4. 9. 1. SOD enzim aktivite düzeylerine bakılması:

Kullanılan Kimyasallar:

- Ksantin
- Na<sub>2</sub>EDTA
- NBT
- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
- BSA
- Ksantin oksidaz
- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- CuCl<sub>2</sub>

SOD enzim aktivitesi, Sun ve arkadaşlarının metoduna göre, nitrobluetetrazoliumun (NBT) ortaya çıkan süperoksit radikallerinin indirgenmesi esasına dayanarak yapıldı. Ksantin-ksantinoksidaz süperoksit üreticisi olarak kullanıldı. Süperoksit radikalleri tetrazolium tuzlarını indirgeyerek suni kromojenik formazon boyası oluşturmaktadır. Bu formazonlar 560 nm dalga boyunda maksimum absorbanı vermektedir. SOD varlığında ise NBT'den formazon oluşumu engellenmektedir. Enzim miktarı ve aktivitesine bağlı olarak daha açık renk oluşmaktadır. Enzimin bulunmadığı ortamda ise bu indirgeme meydana gelmeyip mavi-mor renk oluşmaktadır. Okunan absorbanlara aşağıdaki formül uygulanarak

numunelerdeki % inhibisyon değeri bulundu. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi (101).

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{A_k - A_n}{A_k} \times 100$$

A<sub>k</sub>: Absorbans kör

A<sub>n</sub>: Absorbans numune

### 3. 4. 9. 2. CAT enzim aktivite düzeylerine bakılması:

Kullanılan Kimyasallar:

— NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O

— Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>12H<sub>2</sub>O

— % 30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi

Katalaz aktivitesi Aebi'nin yöntemine göre ölçüldü. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çalışma ortamına eklendiğinde katalaz tarafından H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>'ne parçalanmakta ve 240 nm'de maksimum absorbans veren bu dönüşüm UV spektrofotometrik ölçümde absorbans azalması olarak görülmektedir. Bu absorbans azalması katalaz enzim aktivitesiyle ilişkilidir. Absorbansı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile optik dansitesi 0.500'e ayarlanmış fosfat tamponuna, numune eklenmesiyle 240 nm dalga boyunda 5 dakika boyunca absorbanslardaki düşüş kaydedildi. Değerler aşağıdaki formüle göre hesaplanarak, aktiviter K/g protein olarak ifade edildi (102).

$$K = [ 2.3 \times \log (A_1 - A_2) ] / \Delta t \text{ (sn)}$$

**K:** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin parçalanma hız sabiti

**A<sub>1</sub>:** İlk okunan absorbans

**A<sub>2</sub>:** Son okunan absorbans

### 3. 4. 9. 3. GSH-Px enzim aktivite düzeylerine bakılması:

Kullanılan Kimyasallar:

— NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O

— Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>12H<sub>2</sub>O

— % 30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi

— Na<sub>2</sub>EDTA

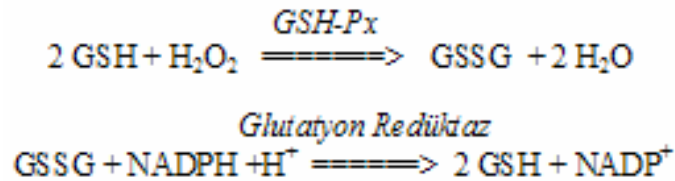
— GSH

— NADPH

- NaN<sub>3</sub>
- GSH redüktaz
- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- % 30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) aktivite çalışması Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. Metod; ortamda bulunan NADPH'ın, glutatyon redüktaz enziminin aktivitesiyle ortamdan uzaklaştırılıp, 340 nm 'de absorbansın azalması ölçümüne dayanır. GSH-Px substratı olan GSH ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin suya dönüşümünü ve okside glutatyonu (GSSG) katalizler. Glutatyon redüktaz ise NADPH varlığında okside glutatyonu (GSSG) indirgeyerek glutatyon (GSH) ve NADP<sup>+</sup> oluşumunu sağlar. Sonuçta NADPH absorbansı giderek azalır (103).

$U/L = [(\Delta A/t) / 6.22 \times 10^{-6}] \times (1/0.02)$  şeklinde hesaplanan GSH-Px enzim aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.



#### 3. 4. 9. 4. TBARs düzeylerinin ölçümü:

Kullanılan Kimyasallar:

- NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- TBA (tiyobarbitürik asit)
- % 85'lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisi
- n- butanol
- 1,1,3,3 tetrametoksiopropan

Uchiyama ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA), tiyobarbitürik asit ile ölçüldü. Ölçüm, MDA'nın 95 °C' de tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmesiyle oluşan pembe renkli homojenata, N-butanol eklenip, ürünün spektrofotometrede 535 ve 520 nm de ölçülmesiyle belirlendi. Tetrametoksiopropan ile oluşturulan standartlara karşı sonuçlar değerlendirildi. Sonuçlar nmol/g yaş doku olarak ifade edildi (104).

### 3. 4. 9. 5. Lowry Protein Metodu:

Kullanılan Kimyasallar:

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- $\text{Na}_3\text{sitrat}$
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- $\text{NaOH}$
- Folin-Ciocalteu
- BSA (Bovine Serum Albumin)

Protein ölçümü modifiye Lowry yöntemi ile yapıldı. Metod; alkali koşullar altında Cu- protein kompleksinin oluşması ve ayıraçtaki asit ile Folin-Ciocalteu reaksiyonu sonucunda mavi renk oluşması esasına dayanır. Koyu mavi renk oluşumu karakteristiktir ve 750 nm dalga boyunda maksimum absorbans verir. Rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu arttıkça artar. BSA ile standart çözeltiler oluşturulup, bu stok çözeltilere göre protein miktarları  $\mu\text{g/ml}$  olarak değerlendirildi (105).

### 3. 4. 10. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen verilerin, gruplar arasında karşılaştırılması amacıyla yapılan analizlerde, parametrik olmayan veriler için kullanılan istatistiksel tekniklerden Kruskal-Wallis tekniği kullanıldı. Bu tekniğin tercih edilmesindeki temel neden çalışma gruplarının her birinde bulunan denek sayısının az olması ve eşit sayıda olmamasıdır. Analizlerin tamamında, tip I hata yapma olasılığı için  $p < 0,05$  düzeyinde bir istatistiksel önemlilik analizi yapıldı. Anlamlı bulunan farklılıklar içinse Mann-Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı. İkili karşılaştırmalarda ise tip I hata oranı olarak belirlenen 0,05 değerinin korunması için tüm ikili analizler, Bonferroni düzeltmesi yapılarak,  $p < 0,008$  düzeyinde yapıldı.

Gruplar açısından her bir gruba ait ilk ve son ölçümler arasında fark olup olmadığına dair karşılaştırmalar için ise Wilcoxon testi kullanıldı. Wilcoxon testi analizleri de  $p < 0,05$  düzeyinde yapıldı.

#### 4. BULGULAR

Deney süresince bütün deney gruplarındaki sıçanlara ilişkin görsel gözlemler ve sayısal veriler kaydedildi. Deney boyunca sıçanların, açlık kan glikoz değerleri, ağırlıkları, toplam doğru ve yanlış kola girme sayıları, labirentte geçirdikleri toplam süreleri belirlendi. Ayrıca bütün gruplardaki sıçanlarda görülen davranışsal ve morfolojik değişiklikler dikkatle izlendi. Deney süresince STZ verilen hayvanlarda idrar miktarında artma, yem ve su alımında artma, harekette yavaşlama, tüy renginde kahverengileşme görüldü. STZ+propolis ve propolis+STZ gruplarında da idrar miktarında artma ve tüy renginde koyulaşma gözlemlendi. Ancak deneyin sonuna doğru rengin normale döndüğü ve yem-su alımlarının STZ grubundaki sıçanlardaki gibi fazla olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunda ise herhangi bir idrar artması, yem ve su alımında artma, harekette yavaşlama ya da tüy koyulaşması görülmedi.

Çalışmada gruplar arası farklılığa ilişkin analizler ve ikili karşılaştırma analizi sonuçları şu şekildedir:

Tablo 4. 1. Kandaki açlık glikoz miktarının, deneysel işlem başlangıcında (STZ uygulamasından 72 saat sonra) ve deneysel işlem sonundaki değerlerinin karşılaştırılmasına ilişkin analiz sonuçları.

Grup	Açlık Kan Şekeri	Ortalama/ SS (mg/dl)	Z	p
Kontrol (n=14)	Deney Baş. AKŞ	88,21±11,49	-3,18	<0,05*
	Deney Son. AKŞ	169,64±64,94		
STZ (n=12)	Deney Baş. AKŞ	313,83±47,31	-2,77	<0,05*
	Deney Son. AKŞ	341,42±56,18		
P+STZ (n=12)	Deney Baş. AKŞ	320,08±59,96	-2,82	<0,05*
	Deney Son. AKŞ	259,17±71,26		
STZ+P (n=13)	Deney Baş. AKŞ	301,08±56,42	-1,54	0,124
	Deney Son. AKŞ	253,15±100,22		

Not: “\*” işareti ilgili istatistiğin 0,05 düzeyinde anlamlı olduğu göstermektedir.

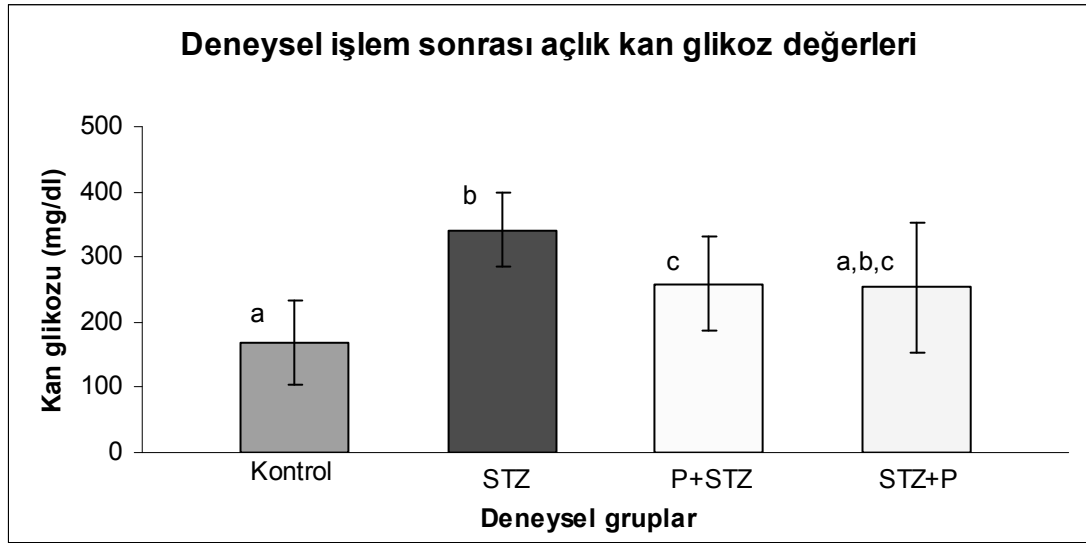
Tablo 4. 1’e göre kontrol grubunun deneyin başındaki ile sonundaki açlık kan glikoz düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme söz konusudur. Ancak açlık kan glikoz değeri, diyabet oluşturacak kadar yüksek değildir. Sadece STZ

uygulanan gruba bakıldığında, STZ uygulamasından sonraki açlık kan glikozunun, deney sonundaki kan glikozu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği ve diyabetik sınırın üzerinde bir değere sahip olduğu görülmektedir (>200mg/dl). Propolis uygulanan gruplardan P+STZ grubuna bakıldığında, STZ uygulamasından sonraki açlık kan glikozu ile deney sonrası açlık kan glikozu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmektedir. STZ+P grubunda ise açlık kan glikoz düzeyinde düşme gözlenmesine rağmen bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tablo 4. 2. Deneysel işlem sonundaki açlık kan glikoz miktarlarının karşılaştırılmasına ilişkin analiz sonuçları.

Grup	SD	Ki-kare	<i>p</i>	İkili Karşılaştırma	Mann-Whitney U	Z	<i>p</i>
Kontrol (n=14)	3	22,22	<0,05	Kontrol / STZ	4,5	-4,09	<0,008*
STZ (n=12)				Kontrol / P+STZ	26	-2,98	<0,008*
P+STZ (n=12)				Kontrol / STZ+P	44	-2,28	0,023
STZ+P (n=13)				STZ / P+STZ	25	-2,71	<0,008*
				STZ / STZ+P	32,5	-2,48	0,013
				P+STZ / STZ+P	76	-0,11	0,91

Not:  $p < 0,05$  düzeyinde, “\*” işareti ilgili istatistiğin 0,008 düzeyinde anlamlı olduğu göstermektedir.



$p < 0,008$  düzeyinde anlamlı

Not: Farklı harfler, gruplar arasında  $p < 0,008$  düzeyinde anlamlı fark olduğunu göstermektedir.

Şekil 4. 1. Deneklerin deneysel işlemler sonrası açlık kan glikoz değerleri.

Tablo 4. 2 ve Şekil 4. 1'deki analiz sonuçlarına göre deneysel işlem sonundaki açlık kan glikoz değerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görülmektedir. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan Post Hoc (Mann-Whitney U) testlerde, kontrol grubunun açlık kan glikoz düzeyinin, sadece STZ uygulanan gruptan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu belirlenmiştir. Yine kontrol grubunun, deneysel işlem sonundaki açlık kan glikoz değerlerinin, P+STZ grubunun değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu görülmektedir. Fakat kontrol grubu ve STZ+P grubunun deneysel işlem sonrası açlık kan glikoz düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark söz konusu değildir. Ayrıca, propolis uygulanan gruplardan P+STZ'nin, deneysel işlem sonrası açlık kan glikoz düzeyinin, sadece STZ uygulanan gruptan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu görülmektedir.

Tablo 4. 3. Deneklerin deneysel uygulama öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarına ilişkin analiz sonuçları.

Grup	Ağırlık	Ortalama/ SS (g)	Z	P
Kontrol (n=14)	Deneyden Önceki Ağırlık	241,43±14,70	-2,98	<0,05*
	Deney Sonunda Ağırlık	266,86±29,84		
STZ (n=12)	Deneyden Önceki Ağırlık	241,00±25,99	-2,28	<0,05*
	Deney Sonunda Ağırlık	219,08±22,66		
P+STZ (n=12)	Deneyden Önceki Ağırlık	242,83±26,04	-0,98	0,33
	Deney Sonunda Ağırlık	233,50±30,19		
STZ+P (n=13)	Deneyden Önceki Ağırlık	233,54±20,37	-1,43	0,15
	Deney Sonunda Ağırlık	225,00±24,07		

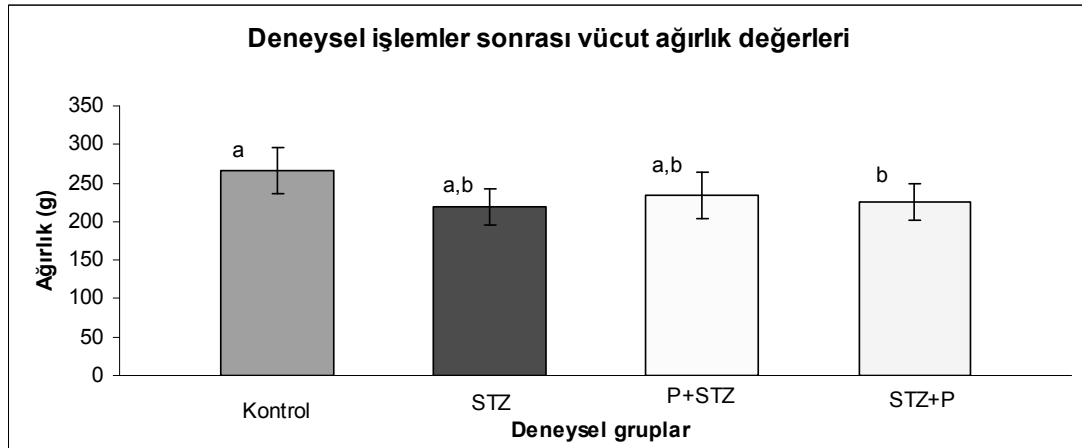
Not: “\*” işareti ilgili istatistiğin 0,05 düzeyinde anlamlı olduğu göstermektedir.

Tablo 4. 3’e göre kontrol grubunun vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme söz konusudur. Sadece STZ uygulanan grupta, vücut ağırlığının deneysel uygulama sürecinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Propolis uygulanan gruplarda ise vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme gerçekleşmemiştir.

Tablo 4. 4. Deneklerin vücut ağırlıklarının deneysel işlem sonundaki değerlerinin karşılaştırılmasına ilişkin analiz sonuçları.

Grup	SD	Ki-kare	p	İkili Karşılaştırma	Mann-Whitney U	Z	p
Kontrol (n=14)	3	13,41	<0,05	Kontrol / STZ	45,50	-1,98	0,048
				Kontrol / P+STZ	35,00	-2,52	0,012
Kontrol / STZ+P				21,50	-3,37	<0,008*	
STZ / P+STZ				61,00	-0,64	0,53	
STZ / STZ+P				47,50	-1,66	0,097	
P+STZ / STZ+P				61,50	-0,90	0,37	

Not: p<0,05 düzeyinde, “\*” işareti ilgili istatistiğin 0,008 düzeyinde anlamlı olduğu göstermektedir.



p < 0,008 düzeyinde anlamlı.

Not: Farklı harfler, gruplar arasında p < 0,008 düzeyinde anlamlı fark olduğunu göstermektedir.

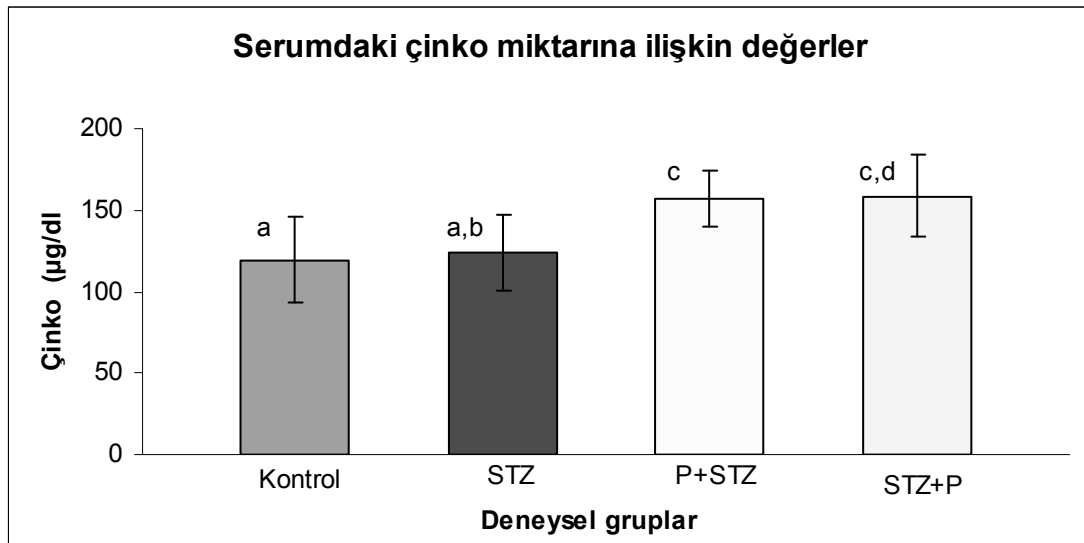
Şekil 4. 2. Deneklerin deneysel işlemler sonrası vücut ağırlıklarının değerleri.

Tablo 4. 4 ve Şekil 4. 2'deki analiz sonuçlarına göre, deneysel işlem sonundaki vücut ağırlık değerlerine bakıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görülmektedir. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan Post Hoc (Mann-Whitney U) testlerde, kontrol grubunun vücut ağırlığının, STZ+P grubunun vücut ağırlığından, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4. 5. Serumdaki  $Zn^{2+}$  miktarlarına ilişkin analiz sonuçları.

Grup	$Zn^{2+}$ ( $\mu g/dl$ ) Ort/SS	SD	Ki- kare	$p$	İkili Karşılaştırma	Mann- Whitney U	Z	$p$
Kontrol (n=14)	119,56±26,71	3	19,794	<0,05	Kontrol / STZ	72,50	-0,59	0,55
STZ (n=12)	123,92±22,97				Kont. / P+STZ	22	-3,19	<0,008*
P+STZ (n=12)	156,98±17,43				Kont. / STZ+P	26	-3,15	<0,008*
STZ+P (n=13)	158,57±25,17				STZ / P+STZ	18	-3,12	<0,008*
					STZ / STZ+P	23,50	-2,97	<0,008*
					P+STZ/STZ+P	78	0,000	1,000

Not: p < 0,05 düzeyinde, "\*" işareti ilgili istatistiğin 0,008 düzeyinde anlamlı olduğu göstermektedir.



p <0,008 düzeyinde anlamlı

Not: Farklı harfler, gruplar arasında p<0,008 düzeyinde anlamlı fark olduğunu göstermektedir.

Şekil 4. 3. Deneklerin serumdaki  $Zn^{2+}$  miktarına ilişkin değerler.

Tablo 4. 5 ve Şekil 4. 3'deki deneysel işlem sonundaki, serum  $Zn^{2+}$  düzeylerine ilişkin yapılan analizlere göre, gruplar  $Zn^{2+}$  değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa sahiptir. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan Post Hoc (Mann-Whitney U) testlerde, kontrol grubunun, serum  $Zn^{2+}$  düzeyinin, STZ+P ve P+STZ gruplarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde STZ grubunun serum  $Zn^{2+}$  düzeyinin, STZ+P ve P+STZ gruplarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4. 6. Serumdaki  $\text{Cu}^{2+}$  miktarlarına ilişkin analiz sonuçları.

Grup	$\text{Cu}^{2+}$ ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) Ort/SS	SD	Ki-kare	<i>p</i>
Kontrol (n=14)	117,67±9,76	3	1,001	0,801
STZ (n=12)	115,62±27,10			
P+STZ (n=12)	123,50±17,31			
STZ+P (n=13)	118,89±15,41			

Not:  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı

Tablo 4. 6'da görüldüğü gibi deneysel işlem sonrasında, serumdaki  $\text{Cu}^{2+}$  değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 4. 7. Serumdaki  $\text{Ca}^{2+}$  miktarlarına ilişkin analiz sonuçları.

Grup	$\text{Ca}^{2+}$ ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) Ort/SS	SD	Ki-kare	<i>p</i>
Kontrol (n=14)	9,71±0,40	3	2,97	0,397
STZ (n=12)	9,87±1,22			
P+STZ (n=12)	9,52±0,98			
STZ+P (n=13)	9,63±0,30			

Not:  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı

Tablo 4. 7'de görüldüğü gibi deneysel işlem sonrasında, serumdaki  $\text{Ca}^{2+}$  değerleri açısından, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 4. 8. Latent öğrenmeye ilişkin verilerin analiz sonuçları.

Kol Sayısı/Toplam süre	Grup	Ort/SS	Grup	SD	Ki-kare	<i>p</i>	
Girilen Toplam Doğru Kol Sayısı	Kontrol (n=14)	133,43±24,94	Kontrol	3	6.56	0.09	
	STZ (n=12)	107,00±28,38					
	P+STZ (n=12)	120,08±40,94					
	STZ+P (n=13)	125,62±24,95					
Girilen Toplam Yanlış Kol Sayısı	Kontrol (n=14)	28,64±9,96	Kontrol	3	3.68	0.30	
	STZ (n=12)	31,17±18,32	STZ				
	P+STZ (n=12)	40,92±27,58	P+STZ				
	STZ+P (n=13)	40,38±14,69	STZ+P				
Girilen Toplam Kol Sayısı	Kontrol (n=14)	162,07±31,79	P+STZ	3	3.21	0.36	
	STZ (n=12)	138,17±44,38	STZ				
	P+STZ (n=12)	161,33±64,47	P+STZ				
	STZ+P (n=13)	166,00±32,85	STZ+P				
Toplam Süre	Kontrol (n=14)	76,43±14,45	Kontrol	3	7.33	0.06	
	STZ (n=12)	87,04±9,66					STZ
	P+STZ (n=12)	86,67±14,60					P+STZ
	STZ+P (n=13)	81,54±9,72					STZ+P

Not:  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı

Tablo 4. 8'deki analiz sonuçlarına göre deneysel işlem sürecinde “girilen toplam kol sayısı”, “girilen toplam yanlış kol sayısı”, “girilen toplam doğru kol sayısı” ve “toplam süre” değerlerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görülmektedir.

Tablo 4. 9. Bellek hatalarına ilişkin verilerin analiz sonuçları.

Değişken	Grup	Ort/SS	SD	Ki-kare	<i>p</i>
Kısa Süreli Bellek Hatası	Kontrol (n=14)	10,57±6,55	3	0.30	0.96
	STZ (n=12)	11,00±5,24			
	P+STZ (n=12)	10,92±6,08			
	STZ+P (n=13)	10,23±6,15			
Uzun Süreli Bellek Hatası	Kontrol (n=14)	26,21±6,19		4.33	0.23
	STZ (n=12)	24,83±5,59			
	P+STZ (n=12)	27,75±2,93			
	STZ+P (n=13)	22,92±6,14			

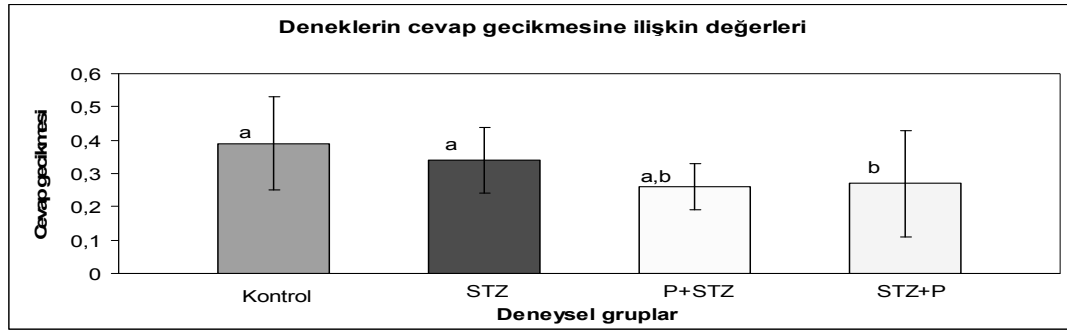
Not:  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı

Tablo 4. 9'deki analiz sonuçlarına göre, “kısa süreli bellek hataları” ve “uzun süreli bellek hatalarına” ilişkin değerler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Tablo 4. 10. Deneklerin cevap gecikmesine ilişkin (toplam süre/girilen toplam kol sayısı) değerlerinin karşılaştırılmasına ilişkin analiz sonuçları.

Grup	Ort/SS	SD	Ki-kare	<i>p</i>	İkili Karşılaştırma	Mann-Whitney U	Z	<i>p</i>
Kontrol (n=14)	0,39±0,14	3	15,84	<0,05	Kont. / STZ	67	-0,87	0,38
STZ (n=12)	0,34±0,10				Kont./P+STZ	40	-2,26	0,02
					Kont./STZ+P	23	-3,30	0,001*
P+STZ (n=12)	0,26±0,07				STZ/P+STZ	44	-1,62	0,11
STZ+P (n=13)	0,27±0,16				STZ/ STZ+P	23	-2,99	0,003*
					P+STZ/STZ+P	48	-1,63	0,10

Not:  $p < 0,05$  düzeyinde, “\*” işareti ilgili istatistiğin 0,008 düzeyinde anlamlı olduğu göstermektedir.



$p < 0,008$  düzeyinde anlamlı

Not: Farklı harfler, gruplar arasında  $p < 0,008$  düzeyinde anlamlı fark olduğunu göstermektedir.

Şekil 4. 4. Deneklerin cevap gecikmesine ilişkin değerler.

Tablo 4. 10. ve Şekil 4. 4'de görüldüğü gibi, STZ+P grubu, kontrol ve STZ gruplarından anlamlı bir şekilde daha az cevap gecikmesi göstermiştir. Kontrol, STZ ve P+STZ gruplarında cevap gecikmesi açısından anlamlı bir farklılık yoktur.

Tablo 4. 11. Hipokampus dokusundaki TBARs ve enzim çalışmalarına ilişkin değişkenlerin analiz sonuçları.

Değişken	Grup	Ort/SS	Karşılaştırılan Gruplar	SD	Ki-kare	<i>p</i>
TBARs nmol/g	Kontrol(n=7)	0,30±0,09	Kontrol	3	3.87	0.28
	STZ(n=6)	0,31±0,09				
	P+STZ (n=6)	0,39±0,11				
	STZ+P(n=7)	0,33±0,04				
SOD U/mg	Kontrol(n=7)	15,51±3,19	STZ	3	6.40	0.09
	STZ(n=6)	18,65±7,30				
	P+STZ (n=6)	23,12±6,20				
	STZ+P(n=7)	21,22±5,25				
CAT K/g	Kontrol(n=7)	1,82±0,48	STZ+P	3	5.98	0.11
	STZ(n=6)	1,97±0,48				
	P+STZ (n=6)	1,29±0,66				
	STZ+P(n=7)	2,31±0,82				
GSH-PXU/mg	Kontrol(n=7)	24,50±4,79	Kontrol	3	3.46	0.33
	STZ(n=6)	28,75±7,92				
	P+STZ (n=6)	31,23±7,25				
	STZ+P(n=7)	27,60±6,91				

Not:  $p < 0,05$  düzeyinde, “\*” işareti ilgili istatistiğin 0,008 düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4. 11'deki analiz sonuçlarına göre deneysel işlem sonundaki hipokampus dokusuna ait TBARs, SOD, CAT ve GSH-Px değerlerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemektedir.

## 5. TARTIŞMA

Diyabet, vücuttaki birçok organda tahripler oluşturan kronik, metabolik bir hastalıktır. Görme kaybı, nöropati, kardiyovasküler hastalıklar bunlardan en sık görülenler olmakla birlikte, bilişsel fonksiyonlar üzerine de etkileri literatürde belirtilmektedir. İlk kez 1922 yılında, diyabetli hastalara bellek ve dikkat testleri uygulanmış ve testlerin sonuçları, kontrol ile karşılaştırıldığında bellek ve dikkatte bozulmalar olduğu görülmüştür. Bu tarihten sonra ise diyabetin bilişsel fonksiyonlar üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (106).

Bu araştırmada, diyabetin bellek ve öğrenme üzerine etkilerine propolis uygulamasının nasıl bir etki yapacağı araştırılmıştır. Çalışmamızda, bellek ve öğrenmeye ilişkin sonuçlar tartışılmadan önce, diyabetle ilişkisi olan açlık kan glikoz düzeyi, ağırlık, serumdaki iz elementlerin ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) düzeyleri, oksidatif stres enzim düzeyleri gibi parametrelere ilişkin sonuçlar tartışılmıştır.

İlk değişken olarak, açlık kan glikoz düzeyi, STZ uygulanan grupta diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni, deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan STZ'nin, pankreas beta hücrelerine girerek, hücreye toksik etki gösterip, beta hücre haraplamasına sebep olmasıdır. Sonuçta pankreas beta hücreleri tahrip olur, insülin üretimi ve salgılanması durur ve kalıcı diyabet oluşur (96). İnsüline bağımlı glikoz taşıyıcıları, insülin yetersizliğinde, hücrelere yeteri kadar glikozu taşıyamaz ve kanda glikoz seviyesi artmaya başlar (96). Açlık kan glikoz seviyesi, STZ verilen gruplarda artmıştır. Açlık kan glikoz düzeyi açısından STZ'yi takip eden diğer gruplar; P+STZ ve STZ+P'dir. Kontrol grubuna ise herhangi bir işlem yapılmadığından, diyabet durumu söz konusu değildir. Deneyin sonundaki, açlık kan glikoz değerleri dikkate alındığında, propolis uygulanan gruplarda, açlık kan glikoz seviyesinde anlamlı bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Bu durum, literatürde de belirtildiği gibi, propolisin hücre aktivitesini artırması ve STZ ile tahrip olmuş pankreasın beta hücrelerinin rejenerasyonunu artırarak insülin yetersizliğini gidermesi şeklinde açıklanabilir. Fuliang ve arkadaşları, propolisin kan glikoz konsantrasyonunu düzenlediğine ve diyabetli hayvanların açlık kan glikoz düzeyini düşürdüğüne dair sonuçlar elde etmişlerdir. (86).

Bir diğer parametre olan vücut ağırlığı ile ilgili sonuçlara bakıldığında, STZ uygulanan gruplarda deneyin başı ile sonunda elde edilen vücut ağırlık ölçümlerinde,

istatistiksel olarak anlamlı kilo kaybı olduğu görülmektedir. Diyabet oluşumu ile en çok gözlenen belirtiler, poliüri, polidipsi, kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluktur. Diyabet gelişimi ile hastalarda, kalori kaynağı olan glikozun idrar yolu ile kaybı, lipolize neden olmakta ve subkutan yağ dokusunun azalmasıyla, kilo kayıpları gözlenmektedir (10). Diyabette glikoz kullanımının azalması sonucu kalori kaybı ile birlikte, aşırı yeme (polifaji) ve canlı ağırlıkta azalma meydana gelir (107). Deneyin sonunda kontrol grubunun kilo artışında, beklenen yönde, anlamlı bir fark bulunmuştur. Diyabet oluşturmadan önce veya diyabet oluşturulduktan sonra propolis verilen gruplarda kilo azalmasında meydana gelen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Burada propolisin diyabetle gelişen kilo verme yönündeki etkilerini durdurmaya başladığını söyleyebiliriz.

Bu çalışmada incelenen diğer önemli değişkenler, serumdaki  $Cu^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  düzeyleridir. Bu çalışmada, STZ grubunun, serum  $Cu^{2+}$  düzeyinin, kontrole ve propolis verilen gruplara göre daha düşük olduğu Tablo 4. 6'da görülmektedir. Diyabette eser elementlerin önemli görevleri bulunmaktadır.  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  SOD enzim aktivitesinde görevlidir ve bu elementlerin eksikliğinde lipid peroksidasyonunda artma olduğu literatürde belirtilmektedir (108). Aktif bir metal olan  $Cu^{2+}$ , oksidatif hasarı başlatabilir veya yüksek konsantrasyonda lipitler, proteinler ve DNA'da oksidatif hasara yol açabilir. Ancak  $Cu^{2+}$ , Cu-Zn SOD enziminin bir parçasıdır ve antioksidan savunma mekanizması için  $Cu^{2+}$ 'ya ihtiyaç vardır (108). Literatürde diyabetlilerin serum  $Cu^{2+}$  düzeylerine ilişkin çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Bazı çalışmalarda, diyabetli hastalardan alınan kan örneklerinde, serum  $Cu^{2+}$  düzeylerinde azalma olduğu görülürken, bazı çalışmalarda ise  $Cu^{2+}$  düzeylerinde artma görülmüştür. Ancak diyabetliler ve kontrol arasında,  $Cu^{2+}$  değerleri açısından, anlamlı bir fark bulunamayan çalışmalarda mevcuttur (108, 109). STZ grubundaki  $Cu^{2+}$  azalmasının diyabetle ilişkili olduğu, P+STZ ve STZ+P gruplarındaki  $Cu^{2+}$  değerlerinin daha yüksek olmasının ise propolis içeriğindeki  $Cu^{2+}$  ile ilişkili olduğu söylenebilir. Ancak, serum  $Cu^{2+}$  değerlerinin gruplar arasında farklı olduğu görülse de bu farklılıkların, istatistiksel olarak anlamlı olmadığı Tablo 4. 6'da gösterilmiştir.

Çalışmamızda, STZ grubunun serum  $Zn^{2+}$  düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu Tablo 4. 5'de görülmektedir. Aynı zamanda, P+STZ ve STZ+P

gruplarındaki serum  $Zn^{2+}$  düzeyleri, kontrol ve STZ gruplarından anlamlı bir şekilde farklıdır. Literatürde diyabetlilerin serum  $Zn^{2+}$  düzeylerine ilişkin yapılan çalışmalarda da çelişkiler görülmektedir. Jarres ve Rükbauer'in yaptıkları çalışmada, diyabetli hastaların serum  $Zn^{2+}$  düzeylerinde artma olduğu gösterilirken (109), Koca ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, diyabetli hastaların serum  $Zn^{2+}$  düzeylerinde azalma olduğu belirtilmiştir (108). Bu çalışmada, propolis uygulanan gruplarda  $Zn^{2+}$  düzeylerinin anlamlı bir şekilde artış göstermesi, literatürde de belirtildiği gibi, propolisin  $Zn^{2+}$  içeriğinin fazla olmasından kaynaklanmaktadır. (85, 88).

Bu çalışmada, Tablo 4. 7'de görüldüğü gibi serum  $Ca^{2+}$  düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur. Ancak, STZ grubunun serum  $Ca^{2+}$  seviyesinin, diğer gruplara göre biraz daha fazla olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda serum  $Ca^{2+}$  düzeyindeki artmanın, yüksek kan basıncı ve bozulmuş glikoz toleransı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (110). STZ grubunun açlık kan glikoz seviyesinin yüksekliği, literatürde belirtildiği gibi, kan glikoz seviyesinin yüksekliği ile serum  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu arasındaki pozitif yöndeki anlamlı ilişki dolaydır (111). Propolis verilen gruplarda ise serum  $Ca^{2+}$  düzeyleri hemen hemen kontrol grubuna yakındır. Bunu ise propolisin açlık kan glikoz seviyesini düşürerek, serum  $Ca^{2+}$  seviyesini de düşürdüğü şeklinde açıklayabiliriz.

Tablo 4.10 ve Şekil 4. 4'te grupların cevap gecikmesine ilişkin değerler verilmiştir. STZ+P grubunun cevap gecikme durumu, diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuştur. Burada, STZ uygulamasından sonraki propolis uygulamasının cevap gecikmesi üzerine olumlu etki gösterdiği görülmektedir.

Diyabet ile ilişkili olduğu düşünülen diğer önemli değişkenler, oksidatif stres enzim düzeyleridir. Bu çalışmada, lipit peroksidasyon değerlerine bakıldığında, en az değer kontrol grubunda olduğu, en yüksek değer ise P+STZ grubunda olduğu Tablo 4. 11'de görülmektedir. Ancak gruplar arasında, hipokampusta bakılan TBARs ile ölçülen lipit peroksidasyon değerlerinde, GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivite değerlerinde anlamlı bir fark bulunmadığı yine Tablo 4. 11'de görülmektedir. Literatürde, diyabetin süresinin uzamasıyla sıçanların beyinlerinde lipit peroksidasyon ürünlerinin arttığı belirtilmektedir. Fakat lipit peroksidasyonun beyindeki bu etkisini göstermesi, diyabet süresi ile doğru orantılıdır (112).

Literatürde, diyabet sonucunda TBARs ile ölçülen lipit peroksidasyon değerlerinde, GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivite değerlerinde değişmelerin olduğu konusunda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda diyabetle, lipit peroksidasyonunda artma görülürken, bazılarında ise diyabetli gruplar kontrolle karşılaştırıldığında, anlamlı fark çıkmadığı ancak plazma lipit peroksidasyonunda farklılıkların olduğu belirtilmiştir (112, 113, 114, 115).

Bu çalışmada, incelenen diğer iki önemli değişken, öğrenme ve bellektir. STZ ile diyabet oluşturduğumuz grupları, öğrenme ve bellek açısından, kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda, öğrenme ve bellek oluşumlarında, hata sayısında artma görülmüştür. Çalışmamızda, Tolman ve Honzik'in 1930 yılında yaptıkları "latent" (gizil) öğrenme çalışmasına benzer olarak, bütün gruplara latent öğrenme deneyi yaptırılmıştır. Sadece STZ verilen grup, diğer gruplara göre daha az sayıda doğru kola girmiş, buna rağmen, labirentte daha fazla süre geçirmişlerdir. En az yanlış kola giren ve labirentte daha az zaman geçiren grup ise kontrol grubudur. P+STZ ve STZ+P gruplarının toplam kol sayısı ve toplam doğru kola girme sayılarına bakıldığında, kontrole yakın değere sahip oldukları görülmektedir. Toplam yanlış kol sayısı ve toplam süre açısından bakıldığında ise, STZ grubuna yakın değerlere sahip oldukları görülmektedir. Burada propolis verilen grupların değerlerinin kontrol ve STZ grubunun değerleri arasında olduğu görülmektedir. Ayrıca latent öğrenme değerlerindeki bu değişimler, gruplar açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı olmadığı Tablo 4. 8'de görülmektedir. Bilişsel fonksiyonlar üzerine diyabetin etkileri çeşitli araştırmacılarca araştırılmış ve kronik (12 haftalık) diyabetin, bilişsel fonksiyonları olumsuz yönde etkilediğine dair sonuçlara ulaşılmıştır (4, 47, 56, 116, 117).

Diyabetin beyine etkileri, hayvan modelleri üzerinde çalışılmıştır. Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarda, kronik diyabetin beyin üzerinde, nörofizyolojik, nörokimyasal, nöroradyolojik ve yapısal etkilerinin olduğu görülmüştür. Ayrıca kronik diyabetin, öğrenme hatalarına sebep olduğu ve hipokampusun CA1 alanında LTP oluşumunu engellediği belirtilmiştir (56).

Kamal ve arkadaşları, diyabetik sıçanlardan aldıkları hipokampal kesitlerde sinaptik plastisitede önemli değişimlerin olduğunu gözlemlemiştir. Altı ile sekiz haftalık diyabet sürecinde, LTP ekspresyonundaki ilerleyen hataların hipokampusun

CA1 alanında saptamışlardır. Bu LTP oluşumundaki bozulmaların, 12 hafta sonra en yüksek değer ulaştığını ve LTP hasarlarının kalıcı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, 12 haftalık diyabet sonunda, LTD'da bir artış saptamışlardır (56).

Papoviç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, diyabetli sıçanların, basit görme görevlerinde, ilk gün daha az doğru cevaplar verdiğini ve kontrolle karşılaştırıldığında daha fazla yanlış yaptıkları görülmüştür. Çalışmanın üçüncü gününde ise diyabetlilerin öğrenme görevlerindeki performanslarının kontrolle benzer cevaplar verdiğini ve diyabetik hayvanların bozulmuş performansının duyusal motor hatalardan kaynaklanmadığını belirtmişlerdir. Diyabetli sıçanların katarak gelişenleri çalışmadan çıkarılmıştır. Geri kalan diyabetik hayvanların öğrenme aktivitelerinin de kontrolle benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda, diyabetli sıçanların öğrenme performans deneyleri ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamayışımızın sebebi, çalışmamızın 4 hafta ile sınırlandırılmış olmasından kaynaklanabilir. Çünkü Kamal ve arkadaşları 6–8 haftalık diyabetli sıçanların hipokampuslarında LTP oluşumunda bozulmalar görmüşlerdir. Bunun insülin uygulandığında, normal seyrine döndüğünü, 12 haftalık diyabetli sıçanlarda ise LTP bozulmasının düzelmediğini belirtmişlerdir (117). Ayrıca Gispen ve Biessels'in Sprague Dawley cinsi diyabetli sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, 6–8 haftalık diyabetli sıçanların hipokampuslarında AMPA reseptörleri için glutamatin affinitesinin azaldığını, ancak NMDA reseptörleri için glutamatin affinitesinin azalmadığını belirtmişlerdir (9).

Grupların uzun ve kısa süreli bellek hatalarına bakıldığında, değerlerin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Tablo 4. 9'da değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Ancak, gruplar arasında ufak farklılıklar göze çarpmaktadır. Tablo 4. 9'da STZ grubunun kısa süreli bellek hatası diğer gruplara göre yüksektir. En fazla uzun süreli bellek hatasını ise P+STZ grubunun yaptığı görülmekte ve bu sonuçlardan propolis önce verilmesinin öğrenme ve bellek üzerine etkisinin önemli düzeyde olmadığı çıkarılabilir.

Gardoni ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulan erişkin sıçanların hipokampuslarındaki NMDA reseptör komplekslerinde, 1 ay sonra bozulmalar olmadığı, ancak, 4 ay sonra NMDA reseptör alt ünitelerinde bozulmalar olduğu belirtilmektedir (118).

Diyabetin süresi, öğrenme ve bellek oluşumunu ölçmek için önemlidir. Diyabetten hemen sonra yapılan bellek değerlendirmelerinde, diyabetin öğrenme ve belleği etkilemediğini belirten çalışmalar da mevcuttur (119).

Sonuç olarak çalışmamızda, STZ ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda, propolisin açlık kan glikoz değerlerini anlamlı olarak düşürdüğü görüldü. Öğrenme-bellek ve oksidatif stres oluşumu üzerine diyabetin olumsuz etkileri görülse de, bu etkiler istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ancak diyabetin süresinin 4 hafta değilde 12 hafta kadar uzatılması durumunda olumsuz etkilerin artacağı düşünülmektedir.

Propolisin diyabetli gruplara verilmesinin, sonuçlara anlamlı bir yansıması olmamıştır.

Diyabet, öğrenme-bellek ve propolisin etkileri üzerine, ileride yapılacak olan araştırmalarda, diyabetin süresinin değişmesiyle etkilerinin de değişeceği hesaba katılarak deney tasarlanmalıdır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kemirgenlerde diyabet modeli oluşturmak için STZ uygun doz ve yöntemle sıçanlara verilmiştir. Kan glikoz seviyesine bakılıp, sıçanlara diyabet tanısı konmuştur. STZ ile pankreasın  $\beta$  hücrelerinde hasar meydana gelmiş ve glikozun hücreler tarafından kullanımı bozulmuştur.

Bozulmuş glikoz homeostazı, çeşitli komplikasyonlara sebep olmaktadır. Diyabet, insanlarda olduğu gibi sıçanlarda da çeşitli nörofizyolojik parametrelerde bozulmalara sebep olmuştur. Beyin, bozulan glikoz metabolizmasından olumsuz şekilde etkilenmektedir. Öğrenme-bellek oluşumunda bozulma, harekette yavaşlama meydana getirmiştir. Ancak, akut diyabetli sıçanlarda öğrenme ve bellek bozulmaları ve oksidatif stres ürünleri artmamıştır. Ama bozulmalara karşı bir eğilim olmuştur. Dokularda, hiperglisemi sonucu oksidatif hasar ürünleri oluşmakta ve beyin bu oluşumlardan zarar görmektedir. Ayrıca, vücutta önemli görevleri olan  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Zn}^{2+}$  elementlerinin akut diyabetten etkilenmediği belirlenmiştir.

Propolisin antioksidan özelliğinin yanısıra, pankreasın  $\beta$  hücrelerindeki hasarlanmaları düzelttiği de bilinmektedir. Çalışmamızda da propolis, diyabet sonucu artan kan glikoz seviyesini düşürücü etki göstermiştir.

Diyabetin, kişinin yaşamını etkileyen beyin yüksek bölgelerinde ve hipokampusta oluşturduğu komplikasyonlarını önlemek için, propolis kullanımı daha geniş kapsamda araştırılmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Keleş, E., Çepni, S. (2006). Beyin ve Öğrenme. *Türk Fen Eğitimi Dergisi*, 3 (2),66–82.
2. Kahn, C.R., Weir, G.C., King, G.L., Jacobson, A.M., Moses, A.C., Smith, R.J. (2008). *Joslin's Diabetes Mellitus* (V.Yumuk, Çev.). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi. (2008).
3. Ayoub, R.S. (2009). Effect of exercise on spatial learning and memory in male diabetic rats. *Int J Diabetes & Metabolism*, 17,93–98
4. Wrighten, S.A., Piroli, G.G., Grillo, C.A., Reagan, L.P. (2009). A look inside the diabetic brain: Contributors to diabetes-induced brain aging. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1792, 444–453.
5. Fuliang, H.U., Hepburn, H.R., Xuan, H., Chen, M., Daya, S., Radloff, S.E. (2005). Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacological Research* 51, 147–152.
6. Delibaş, N., Kılınç, İ. (2003). İnsulin ve Gliklazid Tedavisinin Streptozotosin Diabetik Rat Hipokampuslarında Lipid Peroksidasyonuna Etkisi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*,1, 33–39
7. American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 33, 62–69
8. Guyton, A.C., Hall, J.E. (2007). *Tıbbi Fizyoloji* (H. Çavuşoğlu ve B. Çağlayan Yeğen, Çev.). Filedefliya: Elsevier Saunders. (2006).
9. Gispen, W.H., Biessels, G.J. (2000). Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci.* 23, 542–549.
10. Abacı, A., Böber, E., Büyükgebiz, A. (2007). Tip 1 Diyabet. *Güncel Pediatri* 5, 1–10.
11. Halifeoğlu, İ., Karataş, F., Çolak, R., Canatan, H., Telo, S. (2005). Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(3) : 117–122.
12. Ling, C., Del Guerra, S., Lupi, R., Rönn, T., Granhall, C., Luthman, H., Masiello, P., Marchetti, P., Groop, L., Del Prato, S. (2008). Epigenetic

- regulation of PPARGC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion. *Diabetologia*, 51, 615–622
13. Miranda, J. J., Ortiz, A. B., Stanojevic, S., Malaga, G., Gilman, R. H., Smeeth, L. (2011). A1C as a Diagnostic Criteria for Diabetes in Low- and Middle-Income Settings: Evidence from Peru. *PLoS ONE*, 6, 3.
  14. Arslan, M., Atmaca, A., Ayvaz, G., Başkal, N., Beyhan, Z., Bolu, E. ve diğerleri. (2009). Metabolik Sendrom Kılavuzu. Erişim: 27 Nisan 2011. [http://www.turkendokrin.org/files/pdf/metabolik\\_sendrom.pdf](http://www.turkendokrin.org/files/pdf/metabolik_sendrom.pdf).
  15. Saruğ, M., Karaarslan, M., Rasa, K., Saygılı, Ö., İnce, İ., Baysal, Ç., Pour, P.M., akmakçı M., Tözün, N. (2009). Pancreatic cancer and glucose metabolism. *Turk J Gastroenterol*, 20 (4), 257–260
  16. Aktunę, E., Ünalacak, M., Demircan N. (2002). Tip II Diyabet'te Patofizyoloji ve Akılcı Tedavi Yaklaşımı. *Sted 2002*, 11(9), 334–336
  17. Choi, S.H., Kim, T.H., Lim, S., Park, K.S., Jang, H.C., Cho, N.H. (2011). Hemoglobin A<sub>1c</sub> as a Diagnostic Tool for Diabetes Screening and New-Onset Diabetes Prediction A 6-year community-based prospective study. *Diabetes Care*. (Abstract)
  18. Kurt, İ. (2003). Glikozile Hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) Ölçümü ve Diabetes Mellitusun Uzun Dönem Glisemik Kontrolünde Kullanılması. *Gülhane Tıp Dergisi*, 45 (4), 387–395.
  19. Ganong, W.F. (2002). *Tıbbi Fizyoloji* (Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. (2001)
  20. Berne, R.M., Levy, M.N., Koepfen, B.M., Stanton, B.A. (2008). *Fizyoloji* (Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Çev.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevi. (2008).
  21. Kierszenbaum, A.L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi* ( R. Demir, Çev.). Ankara: Palme Yayıncılık. (2006).
  22. Prado, C.L., Pugh-Bernard A. E., Elghazi, L., Sosa-Pineda, B., Sussel, L. (2004). Ghrelin cells replace insulin-producing cells in two mouse models of pancreas development. *PNAS*, 101 (9) 2924–2929.

23. Huang, C.C., Lee, C.C., Hsu, K.S. (2010). The Role of Insulin Receptor Signaling in Synaptic Plasticity and Cognitive Function *Chang Gung Med J* 33, 115–125
24. Zhaoa, W.Q., Chenb, H., Quonb, M.J., Alkon, D.L. (2004). Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory. *European Journal of Pharmacology*, 490, 71– 81.
25. Mayer, J.P., Zhang, F., DiMarchi, R.D. (2007). Insulin structure and function, *Peptide Science* 88 (5), 687–713.
26. Prugovečki, B., Dodson, E.J., Dodson, G.G., and Čalogovića, D.M. (2009). Structure of the T6 Human Nickel Insulin Derivative at 1.35 Å Resolution *Croat. Chem. Acta* 82 (2), 433–438.
27. Insulin Human. Erişim: 27 Nisan 2011, <http://dailymed.nlm.nih.gov>.
28. Owerbach, D., Bell, G.I., Rutter, W.J., Brown, J.A., Shows T.B. (1981). The insulin gene is located on the short arm of chromosome 11 in humans. *Diabetes*,30 (3), 267-270.
29. Poretsky, L. (2010). Principles of Diabetes Mellitus [Elektronik Sürüm]. New York: Springer.
30. Insulin Biosynthesis, Secretion, Structure, and Structure-Activity Relationships. Erişim: 29 Nisan 2011, <http://www.endotext.org/diabetes>
31. Suckale, J., Solimena, M. (2010). The insulin secretory granule as a signaling hub. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 21, 599–609.
32. Lipson, K.L., Fonseca, S.G., Ishigaki, S., Nguyen, L.X., Foss, E., Bortell, R. (2006). Regulation of insulin biosynthesis in pancreatic beta cells by an endoplasmic reticulum-resident protein kinase IRE1. *Cell Metabolism*, 4, 245–254.
33. Huang, L., Yan, M., Kirschke, C.P. (2010). Over-expression of ZnT7 increases insulin synthesis and secretion in pancreatic  $\beta$ -cells by promoting insulin gene transcription. *Experimental Cell Research*, 316, 2630–2643.
34. Beta Cell Biology Consortium. (2006). Insulin—from secretion to action Erişim: 29 Nisan 2011, <http://www.betacell.org/content/briefs/index>.
35. Hou, J.C., Min, L., Pessin, J.E. (2009). Insulin Granule Biogenesis, Trafficking and Exocytosis. *Vitamins&Hormones*, 80, 473–506.

36. Park, C.R. (2001). Cognitive effects of insulin in the central nervous system. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25, 311–323.
37. Xavier, G.S., Leclerc, I., Varadi, A., Tsuboi, T., Moule, S.K., Rutter, G.A. (2003). Role for AMP-activated protein kinase in glucose-stimulated insulin secretion and preproinsulin gene expression. *Biochem. J*, 371, 761–774.
38. Introduction to Diabetes. Erişim: 15 Nisan 2011, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/boks>
39. Belfiore, A., Frasca, F., Pandini, G., Sciacca, L., Vigneri, R. (2009). Insulin Receptor Isoforms and Insulin Receptor/Insulin-Like Growth Factor Receptor Hybrids in Physiology and Disease. *Endocrine Reviews*, 30(6), 586–623.
40. Doğan, A.L., Güç, D. (2004). Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi* 35, 34–42.
41. Woodgett, J.R. (2005). Recent advances in the protein kinase B signaling pathway. *Current Opinion in Cell Biology*, 17, 150–157.
42. Plum, L., Schubert, M., Brüning, J.C. (2005). The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 16,(2), 59–65.
43. Plum, L., Belgardt, B.F., Brüning, J.C. (2006). Central insulin action in energy and glucose homeostasis. *The Journal of Clinical Investigation*, 116 (7), 1761–1766.
44. Gerozissis, K. (2003). Brain Insulin: Regulation, Mechanisms of Action and Functions. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 23,(1), 1–25.
45. Hörsch, D., Kahn, R. (1999). Region-Specific mRNA Expression of Phosphatidylinositol 3-Kinase Regulatory Isoforms in the Central Nervous System of C57BL/6J Mice. *The Journal of Comparative Neurology*, 415, 105–120.
46. Zhao, W., Chen, H., Xu, H., Moore, E., Meiri, N., Quon, M.J., Alkon, D. (1999). Brain Insulin Receptors and Spatial Memory. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(49), 34893–34902
47. Brands, A., Biessels, G.J., Haan, E.H.F., Kappelle, L. J., Roy, P.C. Kessels, R.P.C. (2005). The Effects of Type 1 Diabetes on Cognitive Performance. *Diabetes Care* 28, 726–735.

48. Maher, F., Vannucci, S.J., Simpson, I.A. (1994). Glucose Transporter proteins in brain. *Faseb J.*, 8, 1003-1011.
49. Vannucci, S.J., Maher, F., Simpson, I.A. (1997). Glucose Transporter Proteins in Brain: Delivery of Glucose to Neurons and Glia. *GLIA*, 21,2-21.
50. Messari, S.E., Leloup, C., Quignon, M., Brisorgueil, M.J., Penicaud, L., Arluison, M. (1998). Immunocytochemical Localization of the Insulin-Responsive Glucose Transporter 4 (Glut4) in the Rat Central Nervous System. *The Journal of Comparative Neurology*, 399, 492-512.
51. A. Grillo, A., Piroli, G.G., Hendry, R.M., Reagan, L.P. (2009). Insulin-stimulated translocation of GLUT4 to the plasma membrane in rat hippocampus is PI3-kinase dependent. *Brain Research* 1296, 35-45.
52. Plastisite. Erişim: 15 Nisan 2011,  
<http://www.braincampaign.org/Common/Docs/Files/4504/turkish%20chapter>.
53. Benfenati, F. (2007). Synaptic plasticity and the neurobiology of learning and memory. *ACTA BIOMED*, 78,1, 58-66.
54. Albert, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002). *Hücrenin Moleküler Biyolojisi* (N. Buyru, N. Dalay, M. Özgüç ve diğerleri, Çev.). Ankara: TÜBA. (2008).
55. Bailey, C.H., Bartsch, D., Kandel, E.R. (1996). Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93,13445-13452.
56. Kamal, A., Biessels, G.J., Urban A. and Gispen W.H. (1999). HippocampalSynaptic Plasticity in Streptozotocin- Diabetic Rats: Impairment Of Long-Term Potentiation And Facilitation Of Long-Term Depression. *Neuroscience* 90 (3), 737-745.
57. Moscovitch, M., Rosenbaum, S., Gilboa, A., Addis, D.R., Westmacott, R., Grady, C., McAndrews, M.P., Levine, B., Black, S., Winocur, G., Nadel, L. (2005). Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *J. Anat.*207,35-66.
58. Korkmaz, Ö., Mahiroğlu, A. (2007). Beyin, Bellek ve Öğrenme. *Kastamonu Eğitim Dergisi*, 15 (1), 93-104.

59. Karadeniz, Bayrak, B. (2008). Sınır Hücrelerinde İletim ve Bunun Öğrenme Sürecine Etkisi. *Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Dergisi*, 25, 101 -113.
60. Tolman, E.C. Sign Theory Latent Learning. Erişim: 10 Nisan 2011. <http://www.lifecircles-inc.com/Learningtheories/behaviorism/Tolman>
61. Johnson, E., Adamo-Villani, N. (2010). A Study of the Effects of Immersion on Shortterm Spatial Memory. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 71, 582–587.
62. Şavik, E., Gültekin, F., Karakoyun, İ., Kumbul Doğuç, D., Demirin, H., Delibaş, N. (2008). Klorpirifosun sıçanlarda öğrenmeye etkileri. *S.D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*, 15(3), 1–6.
63. Evola, M., Hall, A., Wall, T., Young, A., Grammas, P. (2010). Oxidative stress impairs learning and memory in apoE knockout mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 96, 181–186.
64. Demirci, S., Eşel, E. (2004). Öğrenme ve hafızanın hücrenel düzenekleri ve psikiyatrik hastalıklarla ilişkisi. *Anadolu Psikiyatri Dergisi*, 5, 239–248.
65. Erdoğan, S. (2010). İleriye Dönük Bellek Bozukluğu. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 2(2), 174–189.
66. Gasparini, L., Govoni S., Battaini F. (1998). A review on the neurobiological basis of memory. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 6, 225–234.
67. Miyamoto, E. (2006). Molecular Mechanism of Neuronal Plasticity: Induction and Maintenance of Long-Term Potentiation in the Hippocampus. *J Pharmacol Sci*, 100, 433 – 442.
68. Songur, A., Özen, O.A., Sarsılmaz, M. (2001). Hipokampus. *Temel Klinik Tıp Bilimleri*, 21, 427–431.
69. The Hippocampus. Erişim: 16 Nisan 2011, <http://homepages.nyu.edu/~eh597/seahorse>
70. Tekcan, M. Oksidatif Stres-Antioksidan Sistemler ve Testis. *İnfertilite*, 131–136.
71. Yılmaz, Z. (2006). Öğrenme ve Hafızanın Şekillendiği Beyin Bölgelerinde Alkolün Oluşturduğu Hasarlarda Propolisin Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.

72. Polat, A. (2004). Safra Kanal Ligasyonu Yapılmış Sıçanlarda Aspirinle Oluşturulan Mide Dokusu Hasarında Melatonin Etkileri. Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.
73. Altan, N., Dinçel, A.S., Koca, C. (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31 (2), 51–56.
74. Koca, N., Karadeniz, F. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 32–37.
75. Temel, H.E. (2008). Demanslı Hastalarda Asetilkolinesteraz Aktivitesi ve Oksidatif Stresin Asetilkolinesteraz Enzim İnhibitörleri ile Değişimi. Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
76. Jakus, V. (2000). The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. *Bratisl Lek Listy* 101 (10), 541–551.
77. Sharma, R., Buras, E., Terashima, T., Serrano, F., Massaad, C.A., Hu, L., Bitner, B., Inoue, T., Chan, L., Pautler, R.G. (2010). Hyperglycemia Induces Oxidative Stress and Impairs Axonal Transport Rates in Mice. *PLoS ONE*, 5 (10), 1–8.
78. Memişoğulları, R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30–39.
79. Sartori, D.R.S., Kawakami, C.L., Orsatti, C.L., Sforcin, J.M. (2009). Propolis Effect On Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis*.15(1),93–102.
80. Bankova, V.S., Castro, S.L., Marcucci, M.C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31, 3–15.
81. Maruyama, H., Sumitou, Y., Sakamoto, T., Araki, Y., Hara, H. (2009). Antihypertensive Effects of Flavonoids Isolated from Brazilian Green Propolis in Spontaneously Hypertensive Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 32(7), 1244–1250.
82. Chaillou, L.L., Nazareno, M. (2009). Bioactivity of propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to their chemical composition. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1422–1427.
83. Banskota, A.H., Tezuka, Y., Kadota, S. (2001). Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis. *Phytotherapy Research*, 15, 561–571.

84. Martos, M.V., Navajas, R.Y., Lopez, J.F., Alvarez, J.A.P. (2008). Functional Properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *Journal Of Food Science*, 73(9), 117–124.
85. Seven, İ., Aksu, T., Seven, P.T. (2007). Propolis ve Hayvan Beslemede Kullanımı. *Yyü Vet Fak Derg*, 18 (2), 79–84.
86. Fuliang, H.U., Hepburn, H.R., Xuan, H., Chen, M., Daya, S., Radloff, S.E. (2005). Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacological Research* 51, 147–152.
87. Chen, J., Long, Y., Han, M., Wang, T., Chen, Q., Wang, R. (2008). Water-soluble derivative of propolis mitigates scopolamine-induced learning and memory impairment in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 90(3), 441–446.
88. Marcucci, M.C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83–99.
89. Neto, J.B., Silva, C.A.B., Rezende, A.A., Almeida, M.G., Sales, V.S.P., Marchini, J.S. (2003). Zinc pharmacokinetics in insulin-dependent diabetes mellitus patients after oral zinc tolerance test. *Nutrition Research*, 23, 141–150.
90. Kurt, C. (2007). Sağlıklı Gönüllülerde Dipiridamolün Serum ve İdrar Kalsiyum-Fosfor Düzeylerine Etkileri. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
91. Öntürk, H., Özbek, H. (2007). Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Derg*, 17(4), 231–236.
92. Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51, 216–226.
93. Gür, S. (2010). Antidiyabetik Aktivite Araştırma Yöntemleri. *Mised*, 23(24), 49–52.
94. Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.*, 50, 536-546.
95. Uysal, Z. (1999). Demir Metabolizmasında, Demir Eksikliğinde ve Demir Fazlalığında Yenilikler. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 52(3), 157–164.

96. Grünblatt, E., Salkovic-Petrisic, M., Osmanovic, J., Riederer, P. and Hoyer, S. (2007). Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *Journal of Neurochemistry*, 101, 757–770.
97. Vardı, N., Uçar, M., Iraz, M., Öztürk, F. (2003). Deneysel Diyabetin Sıçan Endokrin Pankreasında Oluşturduğu Morfolojik Değişiklikler. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 23 (1), 27–32.
98. Alves de Lima, R.O., Bazo, A.P., Said, R.A., Sforcin, J.M., Bankova, V., Darros, B.R., Salvadori, D.M.F. (2005). Modifying Effect of Propolis on Dimethylhydrazine-Induced DNA Damage But Not Colonic Aberrant Crypt Foci in Rats. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 45,8–16.
99. Öztürk, F., Gül, M., Ağkadir, M., Yağmurca, M. (2002). Deneysel Diyabetin Sıçan Testislerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. *T Klin Tıp Bilimleri*, (22), 173–178.
100. Jakubowska-Doğru, E., Gümüşbaş, U. (2005). Chronic intracerebroventricular NGF administration improves working memory in young adult memory deficient rats. *Neuroscience Letters* 382, 45–50.
101. Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y.A. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.*, 34, 497-500.
102. Aebi, H., (1974). Catalase In Bergmeyer HU (ed). *Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press*, 673–677.
103. Paglia, D.E., Valentine W.N. (1967). Studies on quantitative and qualitative Characterization of Erythrocyte Glutathion Peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, 70, 158-170.
104. Uchiyama, M., Mihara, M. (1978). Determination of MDA precursor in Tissue by TBA Test. *Anal Biochem*, 36, 271–278.
105. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). Protein Measurement with Pholin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265- 275.
106. Kodl, C.T., Seaquist, E.R. (2008). Cognitive Dysfunction and Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews*, 29 (4), 494–511.

107. Çelik, S., Bal, R. (2002). Köpek ve Kedilerde Diabetes Mellitus: Böbrek Fonksiyon Bozuklukları ve İdrar Taşı Oluşumu ile İlişkisi. *Uludag Univ. J Fac. Vet. Med.*, 21, 43-48.
108. Koca, C., Altan, N., Dinçel, A.S., Kosava, F., Şahin, D., Arslan, M. (2008). Tip 1 ve Tip 2 Diyabetik Hasta Serumlarında Oksidatif Stres ve Leptin Düzeylerinin İncelenmesi. *Türk Klinik Biyokimya Derg.* 6(3), 99–107.
109. Kruse-Jarres, D. and Rükgaue M. (2000). Trace elements in diabetes mellitus. Peculiarities and clinical validity of determinations in blood cells. *J. Trace Elements Med. Biol.* 14, 21 - 27.
110. Guessous, I., Bonny, O., Paccaud, F., Mooser, V., Waeber, G., Vollenweider, P., Bochud, M. (2011). Serum Calcium Levels Are Associated with Novel Cardiometabolic Risk Factors in the Population-Based CoLaus Study. *PlosOne*, 6(4), 1–9.
111. Yamaguchi, T., Kanazawa, I., Takaoka, S., Sugimoto, T. (2011). Serum calcium is positively correlated with fasting plasma glucose and insulin resistance, independent of parathyroid hormone, in male patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism Clinical And Experimental*, 10, 1–6.
112. VanderJagt, D.J., Harrison, J.M., Ratliff, D.M., Hunsaker, L.A., Vander Jagt, D.L. (2001). Oxidative stress indices in IDDM subjects with and without long-term diabetic complications. *Clinical Biochemistry* 34, 265–270.
113. Atlı, T., Keven, K., Avcı, A., Kutlay, S., Türkçapar, N., Varlı, M., Aras, S., Ertug, E. ve Canbolat, O. (2004). Oxidative stress and antioxidant status in elderly diabetes mellitus and glucose intolerance patients. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 39, 269–275.
114. Sözmen, B., Delen, Y., Girgin, F.K., Sözmen, E.Y. (1999). Catalase and Paraoxonase in Hypertensive Type 2 Diabetes Mellitus: Correlation with Glycemic Control. *Clinical Biochemistry*, 32,(6), 423–427.
115. Bono, A., Caimi, G., Catania, A., Sarno, A., Pandolfo, L. (1987). Red Cell Peroxide Metabolism in Diabetes Mellitus. *Horm Metab Res*, 19(6), 264–266.
116. Reagan, L.P. and McEwen, B.S. (2002). Diabetes, but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications

- for hippocampal synaptic plasticity. *LippincottWilliams &Wilkins*, 13 (14), 1801–1804.
117. Popoviç, M., Biessels, G.J., Isaacson, R.L., Gispen, W.H. (2001). Learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats in a novel spatial/object discrimination task. *Behavioural Brain Research* 122, 201–207.
  118. Gardoni, F., Kamal, A., Bellone, C., Biessels, G.J., Ramakers, G.M.J., Cattabeni, F., Gispen, W.H., Luca, M. (2002). Effects of streptozotocin-diabetes on the hippocampal NMDA. *Journal of Neurochemistry*, 80, 438–447.
  119. Xiao-chun, L., Sai-shan, G., Hagino, N. 2006. Current status of clinical and experimental researches on cognitive impairment in diabetes. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 12(1), 68-74.


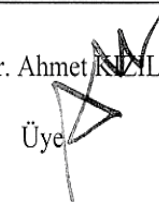
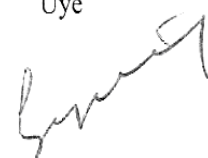
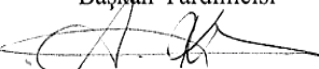
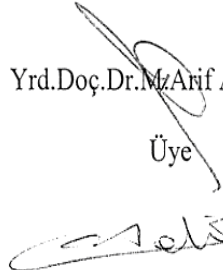
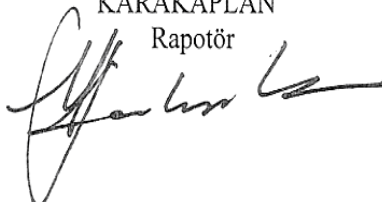
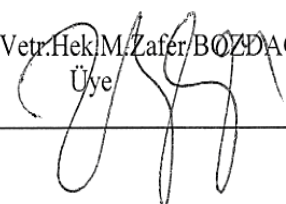



**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi : 10-06-2010  
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
 Araştırma Protokol no.su : 2010/36  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyu : Sprague Dawley  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti :  E  D  Farketmez  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 60  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : Erişkin (250-300 gr)

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.M.Hanifi EMRE'nin yürütücüsü olduğu "STREPTOZOTOZİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA PROPOLİSİN ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE ETKİSİ" isimli 2010/36 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

<p>Prof.Dr.Yusuf TÜRKÖZ</p> <p>Başkan</p> 	<p>Prof.Dr. Ahmet KIZILAY</p> <p>Üye</p> 	<p>Prof.Dr. Selim DOĞANAY</p> <p>Üye</p> 
<p>Doç.Dr.Abdurrahman KARAMAN</p> <p>Başkan Yardımcısı</p> 	<p>Yrd.Doç.Dr.M. Arif ALADAĞ</p> <p>Üye</p> 	<p>Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN</p> <p>Rapotör</p> 
<p>Vetr.Hek.M.Zafer BOZDAĞ</p> <p>Üye</p> 	<p>Salih AVCI</p> <p>Sivil Üye</p> 	

## 9. ÖZGEÇMİŞ

13 Eylül 1984'de Erzurum'da doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi Malatya'da tamamladım. 2003 yılında İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünü kazandım. 2007 yılında lisans eğitimimi bölüm birincisi olarak tamamladım. 2008 yılında, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım. 2008 yılının sonuna doğru İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. 2008 yılı itibariyle halen görevime devam etmekteyim.