

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA
RESVERATROLÜN PANKREAS VE KAS DOKULARINDA
VİSFATİN/SIRT-1 SİNYAL YOLAĞI ÜZERİNE ETKİSİ

Hasan GENÇOĞLU

Doktora Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman:Yrd.Doç.Dr Mehmet TUZCU

NİSAN - 2013

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA
RESVERATROLÜN PANKREAS VE KAS DOKULARINDA
VİSFATİN/SIRT-1 SİNYAL YOLAĞI ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ
Hasan GENÇOĞLU

(091110203)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 26.03.2013

Tezin Savunulduğu Tarih: 16.04.2013

Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr Mehmet TUZCU (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri : Prof.Dr. Kazım ŞAHİN (F.Ü)

Prof.Dr. Ökkeş YILMAZ (F.Ü)

Doç.Dr. Ahmet ÇARHAN (Y.B.Ü)

Doç.Dr. Mustafa KARATEPE (F.Ü)

NİSAN -2013

ÖNSÖZ

Diyabet (diabetes mellitus); glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan ve pankreasın beta hücrelerindeki langerhans adacıklarından salgılanan peptid yapılı insülin hormonunun salgılanmasının önemli ölçüde azalması veya yokluğu ve buna bağlı olarak kan şekerinin sürekli yüksek kalması ile kendini gösteren bir hastalıktır. Uzun vadede kontrol edilemeyen kan glukozu özellikle kalp, böbrek, göz, sinir sistemi gibi dokulara ciddi zararlar vererek hastalara ve ülke ekonomisine olumsuz etki eden, önemli bir sağlık sorunudur.

Diyabetin kontrolünde, antioksidan besin takviyeleri ve egzersizin koruyucu etkileri ve bu etkilerin mekanizmaları son derece önem arz etmektedir. Resveratrol; özellikle son yıllarda kardiyoprotektif etkisi çok sayıda bildirimle ortaya konan fitoaleksinin yapıda önemli bir antioksidan polifenol olup, çok sayıda yenilebilen bitki ile birlikte özellikle üzüm kabuğunda yer aldığı bilinmektedir. Bu çalışmada resveratrolün pankreas ve kas dokularındaki çeşitli moleküler yollar ile insülin mekanizmasına nasıl etki yaptığı araştırılmıştır.

Tez çalışması ile ilgili her türlü konuda ve lisans üstü eğitimim süresince ilgi, yardım ve desteğini gördüğüm danışman hocam, sayın Yrd.Doç.Dr. Mehmet TUZCU'ya teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasında desteklerini aldığım Bölüm Başkanım, Prof.Dr. Harun EVREN'e, ayrıca Prof.Dr. Kâzım ŞAHİN ve Prof.Dr. Nurhan ŞAHİN'e katkılarından dolayı teşekkür ederim. Tezime katkıda bulunan; Yrd.Doç.Dr. Fatih AKDEMİR'e, Arş.Gör.Dr. Cemal ORHAN'a, Arş.Gör. Can Ali AĞCA'ya, Arş.Gör. Gökhan Kürşad İNCİLİ'ye, doktora öğrencisi Oğuzhan ÖZDEMİR'e, doktora öğrencisi Engin BERBER'e yüksek lisans öğrencisi Füsün ERTEN'e ve bu çalışmayı FF.11.20 no'lu proje ile destekleyen FÜBAP birimi koordinatörlüğüne teşekkürlerimi bildiririm.

Eğitim hayatım boyunca beni maddi manevi destekleyen, sevgisini, ilgisini, yardımını, sabırla ve eksiltmeden sürdüren anneme, babama ve bana destek olan tüm dostlarıma teşekkür ederim.

Hasan GENÇOĞLU

Mart 2013

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	IX
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Diyabetin Komplikasyonları ve Sekonder Etkileri	5
1.2. Serbest Radikaller ve MDA	7
1.3. Diyabette Alternatif Yaklaşımlar	8
1.3.1. Resveratrol	9
1.3.1.1. Resveratrol Kaynakları	9
1.3.1.2. Resveratrolün Antioksidan Etkileri	11
1.3.1.3. Resveratrolün Antienflamatuar Etkileri	11
1.3.1.4. Resveratrolün Antikanserojen Etkileri	12
1.3.1.5. Resveratrolün Antidiyabetik Etkileri	13
1.4. Diyabette Terapötik Potansiyeli Olan Bazı Proteinler	13
1.4.1. NAMPT/ PBEF/ Visfatin	13
1.4.2. SIRT1	14
1.4.3. Visfatin/Nampt/PBEF ve Sirtuin 1 Yolağının Rolü	16
1.5. Glukoz Taşıyıcı Proteinler	18
1.5.1. GLUT2	19
1.5.2. GLUT4	20
1.6. Amaç	21
2. MATERYAL VE METOD	22
2.1. Hayvan Materyali ve Araştırma Grupları	22
2.2. Laboratuar Analizleri	24
2.2.1. Malondialdehit (MDA) Analizi	24
2.2.2. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)	25
2.2.2.1. Total Protein Miktarının Spektrofotometrik Analizi	27

2.2.2.2.	SDS-PAGE Analizleri	28
2.2.2.3.	Western Blot Analizleri	29
2.3.	İstatistiksel Analizler	31
3.	BULGULAR	32
3.1.	Canlı Ağırlık Değişimleri.....	32
3.2.	Glukoz Düzeyleri.....	33
3.3.	MDA Düzeyleri	35
3.4.	Western Blot Analizleri	36
3.4.1.	PBEF/NAMPT/Visfatin	36
3.4.2.	SIRT1.....	38
3.4.3.	GLUT 2	40
3.4.4.	GLUT 4.....	41
3.4.5.	İNSÜLİN.....	43
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	45
	KAYNAKLAR.....	51
	ÖZGEÇMİŞ.....	65

ÖZET

Diyabet, insülinin üretilmemesi ya da kullanılamaması ile ilgili mekanizmalardaki aksaklıklardan kaynaklanan ve çeşitli sekonder komplikasyonlara neden olan bir sağlık problemidir. Diyabet komplikasyonlarının meydana gelmesinde başlıca etkili faktörlerden biri oksidatif stres olarak bildirilmektedir. Resveratrol, özellikle üzümde yüksek oranda bulunan, antioksidan etkili bir polifenoldür. Bu çalışmanın amacı; Streptozotosin (STZ) uygulaması ile diyabet oluşturulan ratlarda; resveratrolün, canlı ağırlık değişimi, kan glukoz değerleri, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri ile pankreas ve kas dokularında pre-B hücre koloni gelişim faktörü 1 [PBEF/Nikotinamid fosforiboziltransferaz (NAMPT)/Visfatin], Sirtüin 1 (SIRT1), glukoz taşıyıcıları (GLUT2, GLUT4) ve insülin proteinlerinin ekspresyonları üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Çalışmada 8 haftalık yaşta Wistar albino ırkı ratlar (n=40) rastgele dört gruba ayrılmıştır. Gruplar: Standart diyet ile beslenen ve serum fizyolojik (her gün %0,9 NaCl 1ml/kg i.p.) uygulanan grup, Kontrol grubunu; Resveratrol ve serum fizyolojik uygulanan grup (günde 20 mg/kg CA i.p.), Resveratrol grubunu; streptozotosin (tek doz STZ, 55 mg/kg i.p.) ve serum fizyolojik uygulanan grup, STZ grubunu; Resveratrol ve STZ uygulanan grup ise STZ+Resveratrol grubunu oluşturmuştur. Deneme 8 hafta devam etmiştir. Çalışma sonunda, canlı ağırlık değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ grubunda azalırken, STZ+Resveratrol grubunda artmıştır ($P < 0.001$). Kan glukoz değerleri STZ uygulanan gruplarda zamanla yükselirken, resveratrol uygulaması ise bu artışı yavaşlatmaktadır ($P < 0.05$). Serum MDA düzeyi; STZ grubunda yükselirken, resveratrol uygulamasının MDA seviyesini kontrol grubuna yaklaştırdığı görülmüştür ($P < 0.001$). Kas ve pankreas dokularında PBEF/NAMPT/Visfatin, SIRT1, GLUT2 ve GLUT4 ekspresyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; STZ grubunda azalırken, Resveratrol uygulaması ile artmıştır ($P < 0.05$). İnsülin protein ekspresyon düzeyi, pankreas dokusunda STZ grubunda azalmış ve Resveratrol uygulaması ile STZ grubuna göre artmıştır ($P < 0.001$). Sonuç olarak, diyabet oluşturulan ratlarda Resveratrol uygulamasının, lipid peroksidasyonu azalttığı, PBEF/NAMPT/Visfatin ve dolayısı ile SIRT1 yolağı üzerine ve glukoz taşıyıcı proteinleri üzerine olumlu etki gösterdiği, kas ve pankreas insülin ekspresyonunu kısmen artırdığı ve böylece diyabet tedavisinde destekleyici ve komplikasyonları hafifletici özellik gösterdiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Resveratrol, Visfatin, Sirtüin, Glut2, Glut4, İnsülin, Rat

SUMMARY

THE EFFECT OF RESVERATROL ON VISFATIN/SIRT-1 SIGNALING PATHWAY OF PANCREAS AND MUSCLE TISSUES IN DIABETES INDUCED RATS

Diabetes, described as the failure of insulin production or utilization mechanisms in the body, is a noteworthy health problem which could be also the reason of some various secondary complications arising from the disruptions. Oxidative stress has been reported as one of the most effective major factors in the occurrence of diabetic complications. Resveratrol is a polyphenolic antioxidant and specifically exists in high rates in grapes. The objective of this study is to determine the efficiency of resveratrol on body weight, blood glucose, lipid peroxidation factor malondialdehyde (MDA) levels, the muscle and pancreas expressions of pre-B-cell colony-enhancing factor [PBEF/ Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT)/Visfatin], Sirtuin 1 (SIRT1), glucose transporters (GLUT2, GLUT4) and insulin in streptozotocin (STZ) induced rats. In this study; male Wistar-albino rats (n = 40, 8 weeks old) were divided randomly to 4 groups. Groups: Standard diet-fed and saline (0.9% NaCl 1ml/kg ip every day) treated group was assigned as the Control group; second group was administered resveratrol and saline (20 mg / kg ip bwt) and assigned as the Resveratrol group; third group was given streptozotocin (STZ single dose, 55 mg / kg ip) and saline alone and assigned as STZ group; the last group was given streptozotocin and treated with resveratrol and assigned as STZ+Resveratrol group. The experiment continued for 8 weeks. At the end of the study, body weights decreased in STZ group compared to controls and increased when treated with resveratrol ($P < 0.001$). Blood glucose levels raised over time in STZ injected group and resveratrol treatment slowed down this increase ($P < 0.05$). Serum MDA levels increased in STZ group and it was observed that treating with resveratrol approximated the MDA levels to the control group ($P < 0.001$). PBEF/NAMPT/Visfatin, SIRT1, GLUT2 and GLUT4 expressions of muscle and pancreas tissues were decreased in STZ group when compared to the Control group and increased in STZ+Resveratrol group when compared to STZ ($P < 0.05$). The translational level of Insulin protein decreased in pancreatic tissue of STZ group whereas it was increased in STZ+Resveratrol group ($P < 0.001$). According to this study, it is concluded that, resveratrol treatment on STZ-induced diabetic rats is able to reduce lipid

peroxidation, improved PBEF/NAMPT/Visfatin and indirectly SIRT1 pathway, has beneficial effects on glucose transporters, partially increased insulin expression and thus showed supportive and alleviating feature in diabetes complications and treatment.

Keywords: Diabetes, Resveratrol, Visfatin, Sirtuin, Glut2, Glut4, Insulin, Rat

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Diyabet Hastalığının Başlıca Belirtileri.	3
Şekil 2. Yaş ve Cinsiyete Bağlı Diyabet Prevelansının 2000 Yılı Verileri.	4
Şekil 3. Diyabet Hastalığının Başlıca Komplikasyonları.	6
Şekil 4. Resveratrolün Kimyasal Yapısı.	9
Şekil 5. Resveratrol Kaynağı Olan Bazı Bitkiler.	10
Şekil 6. Visfatin/PBEF/NAMPT Yapısı.	14
Şekil 7. Genel Sirtuin Yapısı.	15
Şekil 8. Ortalama Ağırlık Değişimleri.	32
Şekil 9. Kan Glukoz Değerleri.	35
Şekil 10. MDA Düzeyleri Değişimi.	36
Şekil 11. Kas Visfatin Protein Ekspresyon Düzeyleri.	37
Şekil 12. Pankreas Visfatin Protein Ekspresyon Düzeyleri.	38
Şekil 13. Kas SIRT1 Protein Ekspresyon Düzeyleri.	39
Şekil 14. Pankreas SIRT1 Protein Ekspresyon Düzeyleri.	40
Şekil 15. Pankreas GLUT2 Ekspresyon Düzeyleri.	41
Şekil 16. Kas GLUT4 Ekspresyon Düzeyleri.	42
Şekil 17. Pankreas GLUT4 Ekspresyon Düzeyleri.	43
Şekil 18. Pankreas İnsulin Ekspresyon Düzeyleri.	44

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Araştırma Grupları.....	22
Tablo 2. Deney Hayvanlarına Verilen Standart Yemin Bileşimi.....	23
Tablo 3. SDS-PAGE İçin Jellerin Hazırlanması	27
Tablo 4. Ortalama Kan Glukozu Değişimleri (mg/dL)	34

SEMBOLLER ve KISALTMALAR

ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
ADP	: Adenozin Difosfat
AGE	: İleri Glikozilasyon Son Ürünleri
AKT	: Protein Kinaz β
AMPK	: Adenozin Mono Fosfat Kinaz
ANOVA	: Analysis of Variance
APS	: Amonyum Persülfat
AROS	: Aktif Sirtüin-1 Regülatörü
BSA	: Bovin Serum Albumin
CH₄O	: Metanol
Cox-2	: Siklo Oksijenaz 2
CtBP	: C-terminal Bağlayıcı Protein
CuSO₄	: Bakır Sülfat
DAB	: Diamino Benzidin
DBC1	: Deleted in Breast Cancer 1
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
FÜHADEK	: Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
GDM	: Gestasyonel Diyabet
GLUT	: Glukoz Taşıyıcı Protein
GSVs	: Glut4 Depolayıcı Vezikülleri
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
HClO₄	: Perklorik Asit
HIC1	: Hipermetile-Kanser-1
HuR	: mRNA Bağlayıcı Protein
ICD-10	: Onuncu Uluslararası Hastalık Sınıflandırması Revizyonu
IDDM	: İnsüline Bağımlı Diyabet
IGT	: Bozulmuş Glukoz Toleransı
IL	: İnter Löklin

IND	: Uluslararası Hastalıklar Nomenklatürü
INS-1E	: İnsülinoma Hücreleri
IR	: İnsülin Reseptörü
IRS	: İnsülin Reseptör Substrat
kDa	: Kilo Dalton
MDA	: Malondialdehit
mM	: Milimolar
MRDM	: Hatalı Beslenme İlişkili Diyabet
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
Na₂CO₃	: Sodyum Bikarbonat
NaCl	: Sodyum Klorür
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADP	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NaH₂PO₄	: Sodyum Dihidrojen Fosfat
NAMPT	: Nikotinamid Fosforibozil Transferaz
NF-Î B	: Nükleer Faktör I/ B
Nf-κβ	: Nükleer Faktör Kappa B
NIDDM	: İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet
NMN	: Nikotin Amid Mono Nükleotid
NMNAT	: Nikotin Amid Mono Nükleotid Adenilil Transferaz
PARP	: Poli-ADP Riboz Polimeraz
PBEF	: Pre-B Hücre Koloni Geliştirme Faktörü
RPM	: Revolutions Per Minute
SDS-PAGE	: Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SEM	: Ortalamanın Standart Hatası
SIRT-1	: NAD-Bağımlı Deasetilaz Sirtüin-1
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
STZ	: Streptozotosin
TEMED	: Tetra Metil Etilen Diamin
UV	: Ultraviyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

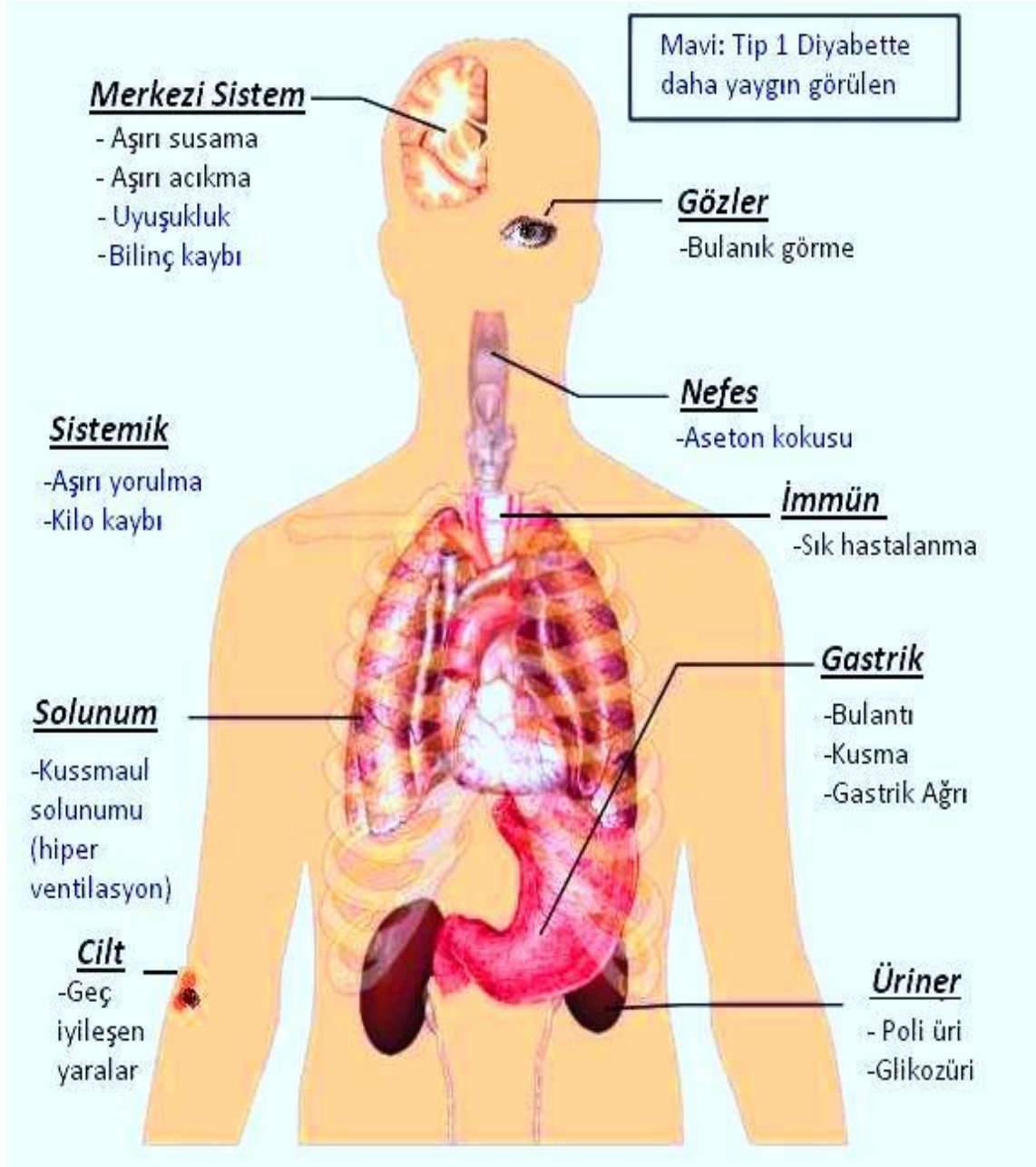
1.GİRİŞ

Diyabet (Diabetes mellitus), glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan ve pankreasın beta hücrelerindeki Langerhans adacıklarından salgılanan peptid yapılı insülin hormonunun salgılanmasının önemli ölçüde azalması veya yokluğu ve hiperglisemi ile karakterize olan ciddi bir hastalık tablosudur (Ganong, 1995; Tuzcu, 2004). Hastalık; aynı zamanda, kronik komplikasyonlar ile seyreden, genellikle beyin ve sinir sistemi, böbrek ve retina gibi organ ve dokuları etkileyen, hastaların yaşam kalitesini oldukça düşüren bir süreç izler (Abou-Seif ve Youssef, 2004; Hasselbaink vd., 2003; Prasad vd., 2000; Sahin vd., 2012).

Diyabetin sınıflandırılmasında geniş ölçekte kabul gören ilk çalışma; 1980 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından bildirilmiş olup (WHO,1980), bundan beş yıl sonra ise geliştirilmiş biçimdeki, yeni bir tasnifi yayınlanmıştır (WHO, 1985). Diabetes mellitus ile glukoz intoleransı ve bağıl kategorilerinin 1980 ve 1985 yıllarında yapılan sınıflandırmaları; klinik sınıfları ve iki istatistiksel risk sınıfını içermektedir. Hastalık için; 1980 yılında, uzman komite tarafından iki başlıca sınıf önerilmiş ve bunlara; insüline bağımlı diyabet (IDDM) veya Tip 1 ve insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM) veya Tip 2, adları verilmiştir. Tip 1 ve Tip 2 adlandırması; 1985 yılındaki çalışma grubu tarafından terimsel olarak çıkarıldığı halde, IDDM ve NIDDM terimleri kalmış ve bir başka sınıf olan, hatalı beslenme ilişkili diyabet (MRDM) terimi eklenmiştir. Hem 1980, hem de 1985 raporunda diyabetin diğer sınıflarını; diğer tipler, bozulmuş glukoz toleransı (IGT) ve gestasyonel diyabet (GDM) kapsamıştır. Bu sınıflandırma ve adlandırmalar 1991 yılında, uluslararası hastalıklar nomenklatürüne (IND), ve 1992 yılında, uluslararası hastalıklar sınıflandırmasının onuncu revizyonuna (ICD-10) yansıtılmıştır (Alberti ve Zimmet, 1998). Tip 1 ve Tip 2 adlandırması başlıca glukoz metabolizması bozuklukları olarak, yeniden kabul görmüş olmakla birlikte, gestasyonel diyabet ve metabolik sendrom nedenli bozulmuş glukoz toleransı dışında, çok sayıda genetik diğer tip ve etiyolojik olmayan (oto immün ve idiyopatik) diyabet tipleri de bilinmektedir (WHO, 1999).

İnsüline bağımlı diyabet (Tip 1 diyabet); genellikle 25 yaşından küçük kişilerde ve ağırlıklı olarak 15 yaşından önce görülen otoimmün bir hastalıktır. Bu tür diyabette insülin yetersizliği vardır. Hastalığın belirtileri aniden başlar, Langerhans adacıkları üzerindeki beta hücrelerinin büyük bir bölümü tahrip olur ve sayısı azalır, hatta bu hücre kaybı dolaşımdaki insülinin azalarak bitmesine kadar devam eder (Noyan, 1993; Tuzcu, 2004;

Ganong, 1995; Hasselbaink vd., 2003). Tip 2 diyabet ise genellikle ileri yaşlarda ortaya çıkar. Bu tip diyabette insülin salgılama yeteneği bütünüyle kaybedilmemiştir. Aynı zamanda beta hücrelerinin sayısı da normaldir. Bu nedenle hastalığın bu formu; yaşlılık diyabeti olarak isimlendirilir. Hastalığın başlangıcı ve bulunup bulunmadığı çok belirgin değildir. (Noyan, 1993; Prasad vd., 2000; Hasselbaink vd., 2003; Tuzcu, 2004; Sahin vd., 2012). Yavaş gelişme gösteren Tip 2 diyabette insülinin etkilediği doku hücre membranlarındaki insülin reseptörlerinin yetersiz olduğu bu yüzden glukozun hücrelere yeterince alınamaması ve kullanılamaması durumuyla karşılaşmaktadır. Bu durum Tip 2 diyabetin nedenlerinden biri olup vücutta insüline karşı bir direncin ortaya çıkması olarak tanımlanmaktadır (Noyan, 1993; Ganong, 1995;Tuzcu, 2004). Amerikan Diyabet Birliği (ADA); dahil olmak üzere çeşitli kuruluşlar, diyabet ile ilişkili erken tanı ve tedaviyi kapsayan uzun dönem sonuçlarını iyileştirmek için, toplum bilincini artırma yönünde çaba sarfetmektedir. Bunu gerçekleştirmenin bir yolu, her iki tip diyabet hastalığı ile ilişkili semptomların vurgulanması ve bu belirtileri yaşayan insanların tıbbi yardım arayışının sağlanması şeklinde olmaktadır (Clark vd., 2007). Her iki tip diyabetin meydana gelişinde benzer belirtiler görülmesine karşın, bazı belirtiler özellikle Tip 1 diyabetli hastalarda daha yaygındır (Şekil 1).

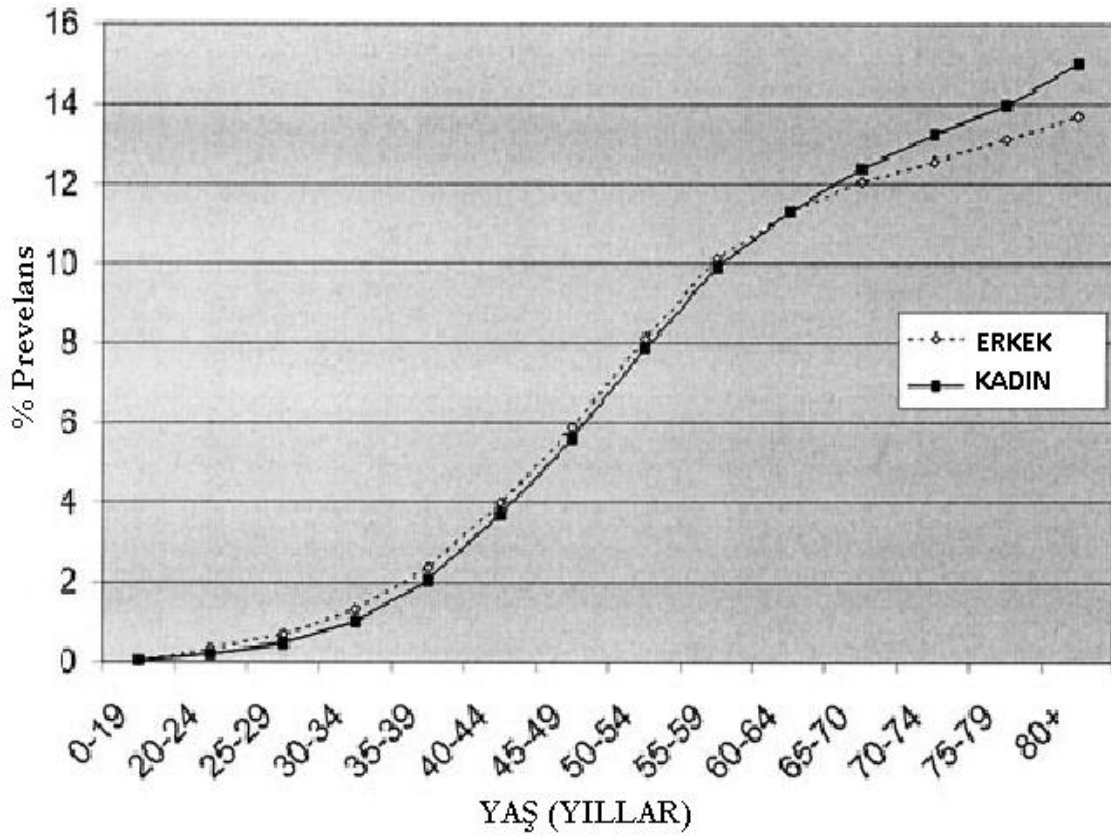


Şekil 1. Diyabet Hastalığının Başlıca Belirtileri.

Herhangi bir birey için, bir şeker hastalığı tipini belirlemek genellikle tanı konulduğunda mevcut bulunan koşullara bağlı olup, birçok diyabetik birey, kolayca tek bir sınıfa dâhil edilemeyebilir (Genuth vd., 2003; ADA, 2012). Bundan dolayı; klinisyen ve hastalar için diyabetin çeşidini belirlemekten ziyade, hipergliseminin patogenezi anlamak ve onu etkin bir şekilde tedavi etmek, daha büyük önem arz etmektedir (ADA, 2012).

Yaşa bağlı prevalansın sabit kalacağı varsayılsa bile, dünyadaki diyabetli birey sayısının 2030 yılına kadar, yalnızca demografik değişimler baz alındığında, iki katına ulaşacağı öngörülmektedir (Wild vd., 2004). Büyük oranlı artışların Ortadoğu

toplumlarında, Afrika'nın güneyinde ve Hindistan'da gerçekleşmesi beklenmektedir. Diyabetli hasta sayısındaki en belirgin artışın ise Hindistan'da olacağı öngörülmektedir. 2000 ve 2030 yılları arasında beklenen nüfus artışının çoğu dünyanın kentsel alanlarda yoğunlaşacaktır. Küresel anlamda en fazla göze çarpan demografik değişim; diyabetli nüfusun 65 yaş üzerindeki bireylerde daha fazla artacak olmasıdır (King vd.,1998; Wild vd., 2004).



Şekil 1. Yaş ve Cinsiyete Bağlı Diyabet Prevelansının 2000 Yılı Verileri (Wild vd., 2004'den adapte edilmiştir).

Diyabet prevalansına yaşın etkisi, cinsiyete de bağlı olarak 2000 yılı ortalamalarına göre Şekil 2'de belirtilmiştir. Küresel anlamda erkek ve kadınların diyabet prevalansı birbirine yakın olmakla birlikte, 60 yaş altındaki erkeklerde kadınlara oranla nispeten biraz daha fazlayken, daha yaşlı kadın bireylerde ise yaşlı erkeklerden fazla olduğu görülmektedir. Genel olarak, diyabet sıklığının erkeklerde daha yüksek olduğu, ancak erkeklere oranla daha çok diyabetli kadının mevcut olduğu söylenebilir. Çoğu toplumda yaşlı kadın sayısının yaşlı erkek sayısından fazla olması ve yaş ilerledikçe diyabetin ortaya

çıkma olasılığının yüksek oluşu bu gözlemin en makul açıklaması olabilir (Wild vd., 2004).

Gelişmekte olan ülkelerde diyabetli insanların çoğunluğunu, daha önceki bildirimlere benzer olarak 45 ve 64 yaş aralığındaki insanlar oluşturmaktadır (King vd., 1998). Buna karşın gelişmiş ülkelerdeki çoğu diyabetli birey 64 yaşın üzerindedir. Gelişmekte olan ülkelerde 2030 yılı itibarıyla; 64 yaşın üzerindeki diyabetli birey sayısının 82 milyondan fazla olacağı, gelişmiş ülkelerde ise 48 milyondan fazla olacağı hesaplanmaktadır (King vd.,1998; Wild vd., 2004).

1.1. Diyabetin Komplikasyonları ve Sekonder Etkileri

Kan şekeri seviyesinin uzun vadede hiperglisemik düzeylerde seyretmesi vücutta; damar, doku, organ ve sistemlerde sayısız tahribatlara sebebiyet vermektedir (Calcutt vd., 2009; Sahin vd., 2007;2010).

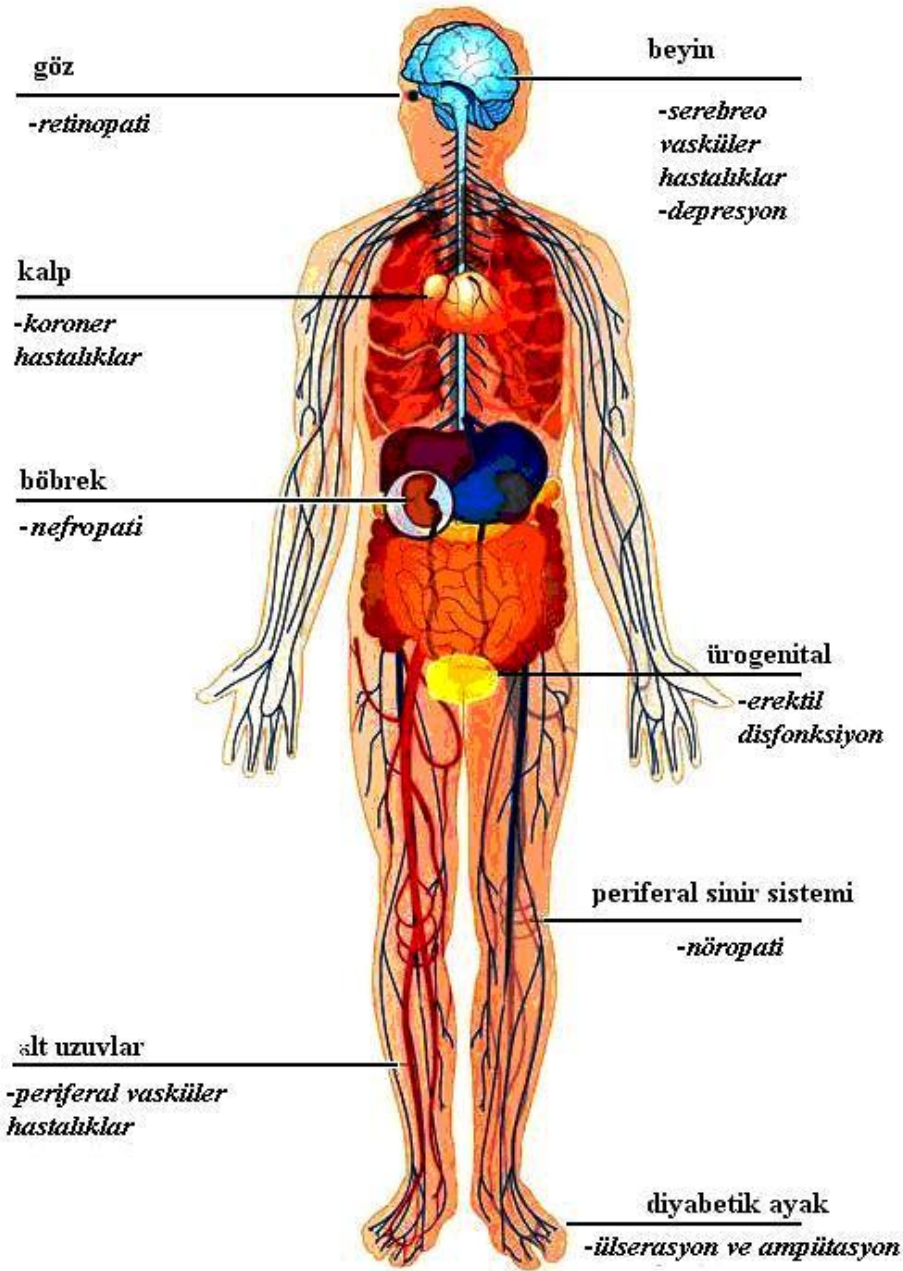
Diyabetin komplikasyonlarından dolayı meydana gelen sağlık sorunları ile mücadele etmek için yapılan harcamalar, ekonomik anlamda diyabet için yapılan harcamanın neredeyse üç katını oluşturmaktadır (Bate ve Jerums, 2003).

Kontrolsüz kan glukoz düzeyleri, hastaların yaşam kalitesini düşürmekle birlikte diyabetli genç hastalar da dâhil olmak üzere her bireyde mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları müteakiben; kardiyomiyopati, retinopati, nöropati ve nefropati gibi önemli sekonder sistemik komplikasyonlar da meydana getirmektedir (Şekil 3), (Sahin vd., 2007;2010;2012).

Bu komplikasyonları ortadan kaldırma adına kök hücre tedavileri dahi geliştirilmeye çalışılmaktadır (Bate ve Jerums, 2003; Calcutt vd., 2009; Bernardi vd., 2012).

Diyabetik komplikasyonların oluşumu iki mekanizma ile açıklanmaktadır. İlk mekanizmada, özellikle iyi kontrol edilmeyen diyabette proteinlerin non-enzimatik glikozillenmesinin arttığı ve ileri glikozilasyon son ürünleri ile (AGE) glikozillenen bu proteinlerin oksidasyonu sonucu serbest radikallerin oluştuğu savunulmaktadır. Plazma membran proteinleri ve insülin bağımsız glukoz alan lens gibi dokuların hücrelerindeki proteinler uzun süre yüksek konsantrasyonda glukoz ile karşı karşıya kalırsa, glukoz hızla proteinlerin amino gruplarına non-enzimatik bir yolla bağlanır. Bunun tipik örneği glikozillenmiş hemoglobindir (Ganong, 1995; Baynes ve Thorpe, 1999).

İkinci mekanizmada; Diabetes Mellitus'ta artan kan glukozuna paralel olarak, insülin bağımsız glukoz alan dokuların hücrelerinde glukoz konsantrasyonunun yükseldiği ve bu dokulardaki artmış glukozun fosforile olmadan, enzimatik olarak sorbitol üzerinden fruktoza fazla miktarda dönüştüğü ve bunları metabolize etmeye yetecek kadar ilgili enzim olmadığından, hücre içinde sorbitol ve fruktozun biriktiği bilinmektedir. Sorbitol ve fruktozun aşırı miktarda birikmesiyle meydana gelen ozmotik değişimler bu doku ve organların yapısına bağlı olarak patolojik durumların sebebi sayılmaktadır (Ganong, 1995, Calcutt vd., 2009).



Şekil 2. Diyabet Hastalığının Başlıca Komplikasyonları.

Diyabet; periferik ve merkezi sinir sisteminde yapısal ve fonksiyonel hastalıklara neden olmaktadır. Öğrenme zorluğu ve hafıza bozukluğu, diyabet hastası erginlerde gözlemlenmiştir. Diyabet, kronik hiperglisemi yoluyla bilişsel bozukluklara yol açmaktadır. Diyabetik hastaların beyinlerinde elektrofizyolojik ve yapısal anormallikler vardır ki bunların bilişsel bozukluklarla bağlantılı olduğu bilinmektedir (Ryan, 1988; Stewart ve Liolitsa, 1999; Gispen ve Biessels, 2000).

1.2. Serbest Radikaller ve MDA

Oksijenli solunum yapan organizmalar; düzenli olarak serbest oksijen radikalleri (SOR) olarak adlandırılan ve moleküler oksijenden meydana gelen reaktif moleküller üretirler. Bu serbest radikaller; dış orbitallerinde tek bir eşleşmemiş elektron taşıyan, elektrik yüklü veya elektrik yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Ömürleri kısa olsa da, radikal olmayan moleküllerle reaksiyona girerek onları da radikal haline getiren zincir reaksiyon başlatabilme kapasiteleri vardır ve nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler (Sies 1997; Sen vd., 2001).

Serbest radikaller; metabolik süreçte doğal olarak oluşur, ancak radikalleri etkisiz hale getiren antioksidan sistemler sayesinde, bu reaktif bileşiklerin ortadan kaldırılması sonucu sitotoksikite meydana gelmez. Fakat bu işleyişte, SOR lehine gerçekleşebilecek bir bozulma çeşitli patolojilerin başlangıcı olmaktadır. Organizmada SOR oluşturan başlıca doğal süreçler; biyokimyasal yıkım, hegsoz monofosfat yolağı, mitokondriyal elektron taşınımı, fagositik hücre aktivasyonu, gibi olaylardır (Fridowich, 1978; Sies 1997).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelebilmektedir. Bunlardan ilkinde; homolitik bir bağ kırılması sonucu kovalent bağ yapan elektronların biri bağ atomlarının birinde ve diğeri ise ötekisinde kalmaktadır. İkincisinde, molekülden yalnızca bir elektron ayrılmakta ve sonuncusunda ise bir moleküle bir atom katılmaktadır (Cheeseman vd., 1993).

Serbest oksijen radikalleri son derece reaktif ve kısa ömürlü olduklarından direkt ölçümleri zordur. Bu amaçla lipid peroksidasyon ürünlerinin ölçülmesi en sık olarak uygulanan, dolaylı (indirekt) yöntemdir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) üretimi ile sonuçlanmaktadır. MDA; $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ formülü ile bilinen bir organik bileşik olup, metabolizmada doğal olarak meydana gelen oksidatif hasarın bir göstergesidir (Tuzcu, 2004). Dolaylı yöntemle ölçülen birkaç madde olmakla birlikte en kolay MDA ölçümü yapılabilmektedir (Karatepe, 2004) . Fare

karaciğer ve böbreklerinde kurşun toksikasyonu ile oluşturulan oksidatif hasarda MDA düzeylerine bakılarak resveratrolün lipid peroksidasyon hasarını tersine çevirebildiği saptanmıştır (Liu vd., 2012).

1.3. Diyabette Alternatif Yaklaşımlar

Diyabetin önlenmesi veya kontrolünde, özellikle diyetel manipulasyonları içeren alternatif ve tamamlayıcı çeşitli yaklaşımlar tip 1 ve tip 2 diyabet tedavisinin vazgeçilmez unsurlarıdır (Friedman, 1980; Tuomilehto vd., 2001) . Diyabetik hastalar tıbbi tedavinin yanı sıra, diyetel terapi ve fiziksel egzersiz yöntemlerine de ihtiyaç duyarlar. Bazı tip 2 diyabetli hastalarda sadece diyeti kontrol etmekle bile kan şekeri seviyeleri normal değerlere çekilebilmektedir (Friedman, 1980; Aksakal, 1997; Tuomilehto vd., 2001).

Diyabetin kesin bir tedavisi olmamasına rağmen, özellikle insülin takviyesi ve kan şekerini düşürücü ilaçlarla yapılan uygulamalar kabul görmektedir. Diyabetteki komplikasyonların altında yatan ana sebep, yüksek kan şekeri ve oluşan oksidatif stresdir (Lewis ve Husicker, 1993; Kakkar vd., 1995; Baynes ve Thorpe, 1999; Sahin vd., 2007; 2010; 2012).

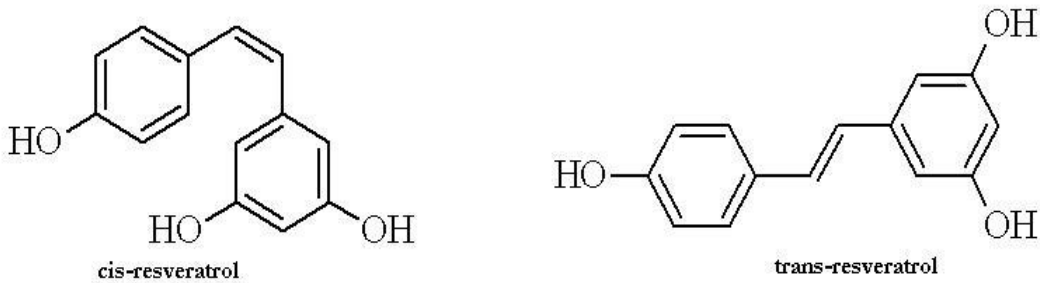
İnsülin takviyesi; kan şekeri üzerine olumlu etki etmesine rağmen, oksidatif stresin düşürülmesi ve sekonder komplikasyonların giderilmesi için yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle diyabet tedavisinde diyetel yaklaşımlar önem kazanmaktadır (Friedman, 1980; Tuomilehto vd., 2001). Diyet tedavisinin amacı; diyabetlinin tüm hayatı boyunca uygulayabileceği en ideal beslenme programını oluşturarak, kan glukoz düzeyini normale yakın tutmak, hiperglisemi ve hipoglisemiyi önlemek, ideal vücut ağırlığını sağlamak ve korumak, diyabete bağlı olarak uzun vadede oluşabilecek çeşitli komplikasyonları önlemek, çocukluk ve ergenlik döneminde normal büyüme ve gelişmeyi sağlamak, gebelikte ve emzirme döneminde yeterli ve dengeli beslenmeyi sağlamak, kısaca hastanın yaşam kalitesini arttırmak ve yaşam süresini uzatmaktır (Friedman, 1980; Baynes ve Thorpe, 1999; Stewart ve Liolitsa, 1999; Tuomilehto vd., 2001).

Diyabetli insanlar ve deneysel diyabet oluşturulmuş laboratuvar hayvanlarını kapsayan çok sayıda çalışmada; vitamin E ve lipoik asit uygulamasının glukoz metabolizmasının bozulmasıyla oluşan oksidatif hasarı azalttığı, biyotin uygulamasının kas dokuda guanilat siklaz enzim aktivitesini teşvik ederek insülinin kullanılabilirliğini artırdığı, yemekten önce alınan ginseng, post prandiyal glisemiyi ortadan kaldırabilirken

tarçın baharatının diyetle eklenmesinin açlık kan glukozunu düşürebildiği, çeşitli organik krom formlarının ise karbohidrat ve lipid metabolizmasında olumlu iyileşmeler sağlayarak bilişsel fonksiyonlarda düzeltilmeler sağlayabildikleri ortaya konmuştur (Ruhe ve McDonald, 2001; Attele vd., 2002; McCarty, 2006; Mang vd., 2006; Sahin vd., 2007; 2010;2012).

1.3.1. Resveratrol

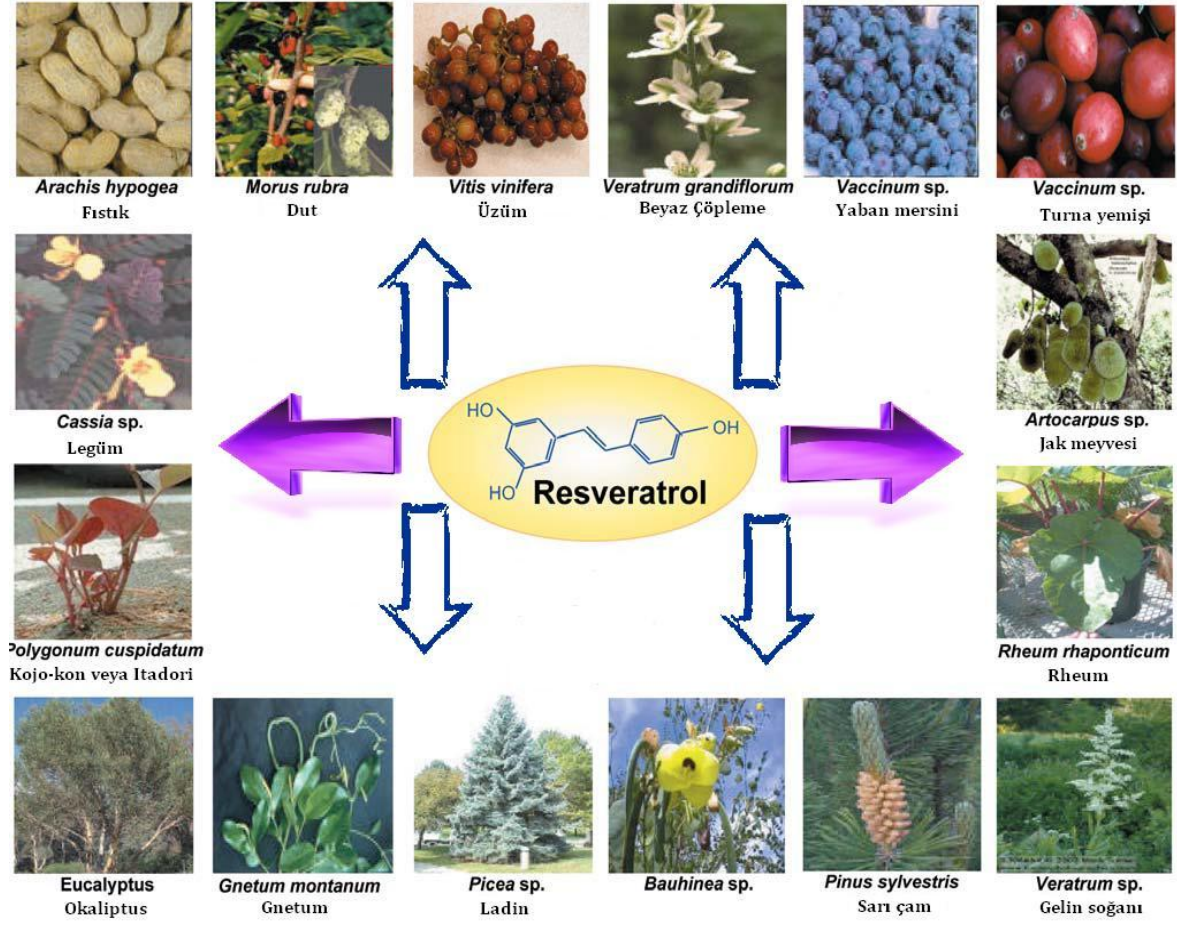
Resveratrol (3,4',5-trihidroksi stilben) yaklaşık 72 türü kapsayan, 31 cins ve 12 aile içeren, pek çok bitkide bulunan polifenolik yapılu bir fitoaleksine olup bakteriyel veya fungal patojenlere karşı sentezlenir (Şekil 4), (Langcake ve Pryce, 1976; Jang vd., 1997). Polifenoller; antosiyaninler, flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve stilbenleri de içeren bir antioksidan ailesidir. Resveratrol (3,4',5-trihidroksi stilben); stilbenlerin alt grubu olup viniferinler adı da verilen molekül ailesine bağlıdır (Burns vd., 2002). Resveratrolün sentezinde öncül madde fenil alanindir ve kalşon sentaz aracılığıyla flavonoidlere dönüşmek yerine resveratrole dönüşümü sağlayan, anahtar görev yapan hücresel enzim ise stilben sentaz enzimidir (Hain vd., 1990; Parage vd., 2012).



Şekil 4. Resveratrolün Kimyasal Yapısı

1.3.1.1. Resveratrol Kaynakları

Resveratrol; yenilebilen bitkilerden özellikle üzüm kabuğunda, bunun yanı sıra fıstık, dut, yaban mersini ve erikte bulunur (Burns vd., 2002). Resveratrol kaynağı olan bazı bitkiler, Şekil 5.'de gösterilmektedir.



Şekil 5. Resveratrol Kaynağı Olan Bazı Bitkiler (Aggarwal vd., 2004’den adapte edilmiştir).

Kırmızı şarap hazırlanırken üzümler kabuklarıyla birlikte fermente edildiğinden, kabukların çıkarıldığı beyaz şaraba oranla daha yüksek oranda resveratrol içermektedir (Chen vd., 2005; Delmas vd., 2006; de la Lastra ve Villegas, 2007).

İlk olarak 1939 yılında, aslında zehirli olan fakat tıbbi amaçlı kullanılan “*Veratrum grandiflorum*” adlı bitkiden izole edildiği bilinmektedir. “Resveratrol” kelime kökü olarak adını bu bitkiden almıştır. “Res” Latince “-den gelen” anlamında, “veratr” *Veratrum*’dan, -ol ise kimyasal gruplarının alkol içermesinden dolayı verilen ektir. *Veratrum grandiflorum* bitkisinin resveratrolü ve analoglarını sentezlediği bildirilmiştir. Japonya ve Çin’de tıbbi amaçlı kullanılan *Polygonum cuspidatum* bitkisinin köklerinin “kojo-kon” veya “itadori” geleneksel adıyla bilinen ve mantar ile deri hastalıklarından, kalp, karaciğer ve damar hastalıklarına kadar geniş ölçüde kullanılan resveratrolce zengin bir ilaç oduğu 1970’lerin sonlarında bildirilmiştir (Langcake ve Pryce, 1976; Burns vd., 2002; Wenzel ve Somoza, 2005).

1.3.1.2. Resveratrolün Antioksidan Etkileri

Her iki tip diyabette yaşam kalitesinin artırılması ve komplikasyonlarının önlenmesinde, oksidatif strese karşı antioksidan yaklaşımlar son yıllarda yapılan çok sayıda çalışmada bildirilmektedir (Su vd., 2006; Sahin vd., 2007; 2010;2012).

Resveratrolün bir serbest radikal olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ile oluşturulan hücre tahribatında, belirgin bir koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır (Su vd., 2013). Resveratrolün antioksidan rolü üç farklı antioksidan mekanizma ile açıklanmaktadır. Bunlardan biri, ko-enzim q (CoQ) ile yarışmak ve serbest oksijen radikallerinin oluşma lokasyonlarında oksidatif zincir kompleksini azaltmak şeklindedir. Diğeri, mitokondride oluşan süperoksit radikalini yakalamak, sonuncusu ise fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunun inhibisyonunu sağlamak biçimindedir. Birçok çalışmada resveratrolün hem süperoksit hem de hidroksil radikalini yakalama yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (Martinez ve Moreno, 2000; Sgambato vd., 2001; Sayın vd., 2008).

Resveratrolün *in vivo* antioksidan özelliği; vazodilatör etkili bir molekül olan nitrik oksitin sentezini artırma yeteneği ile güç kazanmaktadır. Burada *in vivo* antioksidan olarak nitrik oksit, süperoksit yakalama yeteneğine sahiptir. Resveratrol, biyolojik sistemlerde bulunan antioksidanların hücre içi konsantrasyonlarının sürdürülmesini de sağlamaktadır (Baur vd., 2006; deLastra ve Villegas, 2007). Resveratrolün biyolojik sistemlerde bulunan hücre içi antioksidan konsantrasyonunu da muhafaza edebildiği rapor edilmiştir (deLastra ve Villegas, 2007).

1.3.1.3. Resveratrolün Antienflamatuvar Etkileri

Fransa'da kırmızı şarap tüketilen bölgelerdeki insanlarda kardiyovasküler hastalıkların görülme sıklığının diğer bölgelere oranla daha düşük olduğu saptanmıştır ve bu durum "Fransız paradoksu" olarak isimlendirilmiştir. Bu durum, resveratrolün vasküler tahribata karşı oluşturduğu kardiyoprotektif etkinliğinden kaynaklanmaktadır (Delmas vd., 2006). Antioksidan, antienflamatuvar ve antiapoptotik etkileri olan resveratrolün kardiyovasküler hastalıklarının patofizyolojisinde, oksidatif olarak meydana gelen hücre ve doku tahribatına karşı koruyucu etkinliği gösterilmiş olmasına rağmen biyokimyasal ve hücresel mekanizmaları bütünüyle açıklayamamıştır. Bunun yanında çok sayıda çalışmada

resveratrolün yangıyı indirgeyici özelliği araştırılmıştır (Kopp, 1998; Delmas vd., 2006; Sayın vd., 2008).

Tavşanlarda kronik yangısal artrit modeli oluşturulan bir çalışmada, intraartiküler resveratrol enjeksiyonunun kıkırdak hasarı ve sinoviyal yangıya karşı koruyucu olduğu ortaya konmuştur (Elmalı vd., 2007). Resveratrolün yangıyla yakından ilişkili olan transkripsiyon faktörü nükleer faktör I/B (NF- κ B) üzerine baskılayıcı etki göstermek suretiyle antienflamatuar rol oynadığı, ayrıca proinflamatuar sitokinlerden olan interlökin 1, 6 ve 8 (IL-1,IL-6,IL-8) ekspresyonlarını da indirdiği bildirilmektedir (Aggarwal vd., 2004). Resveratrolün; prostoglandin üretimini ve dolayısıyla inflamasyonu; siklo oksijenaz 2 (Cox-2) ve nükleer faktör kappa B (Nf- κ B) aktivitelerini inhibe etmek suretiyle indirdiği de gösterilmiştir (Martinez ve Moreno, 2000; Shankar vd., 2007; Sayın vd., 2008).

1.3.1.4. Resveratrolün Antikanserojen Etkileri

Karsinojen verilen farelerin derileri ile kanserli meme hücre kültürlerinde resveratrol uygulamasının kanser gelişiminde önleyici olduğu da bildirilmiştir (Jang vd., 1997).

Kardiyoprotektif etkileri yanında, resveratrolün aralarında lenfoid ve miyeloid kanserleri, çoklu miyelom, göğüs kanserleri, prostat, mide, kolon, pankreas ve tiroid, melanom, baş ve boyun yumuşak doku karsinomu, overyan karsinom ve servikal karsinom gibi tiplerin bulunduğu geniş çapta tümör hücrelerinin çoğalmasına karşı da antikanserojenik özellikler gösterdiği bildirilmektedir (Aggarwal vd., 2004). Kemoprevantif bu etkinliğinin yanı sıra kansere karşı terapötik etkilere de sahip olabildiği düşünülen resveratrolün çok aşamalı karsinojen oluşumunu önlemede aktif olabildiği gösterilmiştir (Aggarwal vd., 2004; Mulakayala vd., 2013). Buna karşın; resveratrolün, kanserin kemoprevansiyonu veya kemoterapisindeki potansiyel kullanımını kısıtlayan faktör ise kısa yarılanma ömrü ve düşük biyoyararlanımıdır (Mulakayala vd., 2013).

1.3.1.5. Resveratrolün Antidiyabetik Etkileri

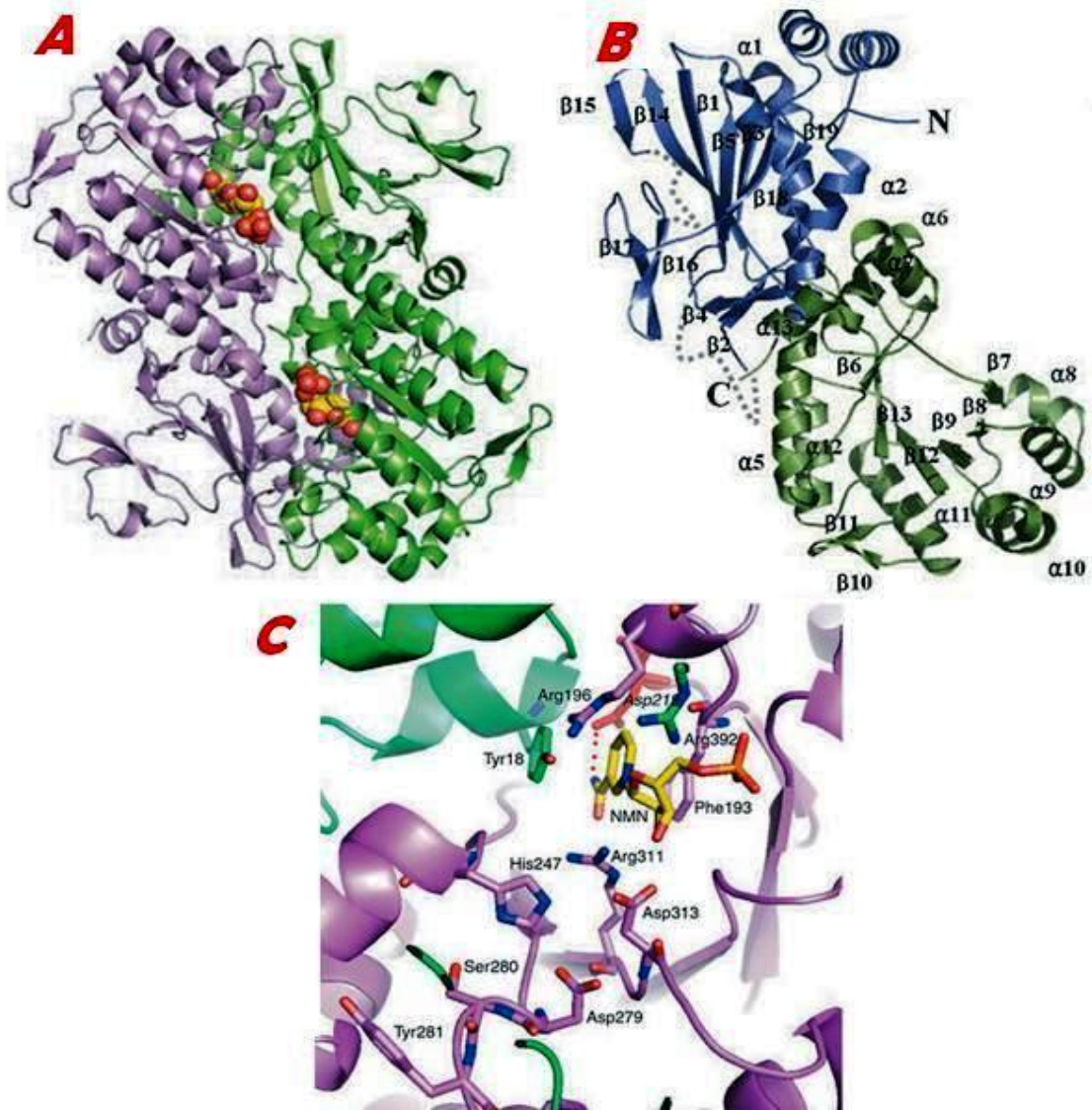
Resveratrolün *in vivo* denemeler için uygun olduğu ratlardaki absorpsiyonunun ilk olarak 1996'da belirlenmesiyle bildirilmiştir (Wenzel ve Somoza, 2005). Çeşitli hayvan modellerinde resveratrolün antioksidan etkileri çalışılmış ve antioksidan etkileri kanıtlanmış, ayrıca polifaji ve polidipsiyi azaltma, ağırlık kaybında azalma gibi antidiyabetik etkilerinin de olabileceği bildirilmesine rağmen, etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (Su vd., 2006).

1.4. Diyabette Terapötik Potansiyeli Olan Bazı Proteinler

Geride bıraktığımız yıllarda; sirtüinler ve NAD biyolojisi alanında hızlı gelişmeler meydana gelmiş, NAD-bağımlı deasetilaz sirtüin-1 ile visfatin aracılı sistemik NAD biyosentezinin; glukoz homeostazisinde önemli rol üstlendikleri bildirilmiştir (Imai vd., 2009; Imai ve Kiess, 2009).

1.4.1. NAMPT/ PBEF/ Visfatin

Nikotinamid fosforiboziltransferaz (NAMPT) olarak da bilinen visfatin; memelilerde pre-B hücre koloni gelişim faktörü 1 (PBEF1) tarafından kodlanan glikoziltransferazlardan pentoziltransferazlar sınıfında yer alan, adipositokinik bir enzimdir (Samal vd., 1994). Visfatinin kanda artan glukoz seviyelerini düşürdüğü ve hücrelerin insülin hassasiyetini arttırdığı da bildirilmiştir. Bu enzim/protein visseral yağ dokusunda ve kan serumunda yüksek oranda eksprese edilir ve obezite gelişimiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Xie vd., 2007; Imai vd., 2009; Barth vd., 2010). Adipositlerden salgılanan protein yapıda bir adipokin olan visfatinin insülinomimetik etkiler gösterdiği bilinmektedir. Visfatin; insülin reseptörüne (IR) bağlanarak onu aktifleştirebilmektedir. Bu sayede insülini taklit eden etkilerini, birbirinden farklı hücre hatlarında gösterebilmektedir. Osteoblastlarda tespit edilen insülin reseptörlerinde, insülinin rolüyle tutarlı olan bu etki önemli bir osteotropik hormonal etki şeklinde gözlemlenmiştir (Xie vd., 2007; Sommer vd., 2008).

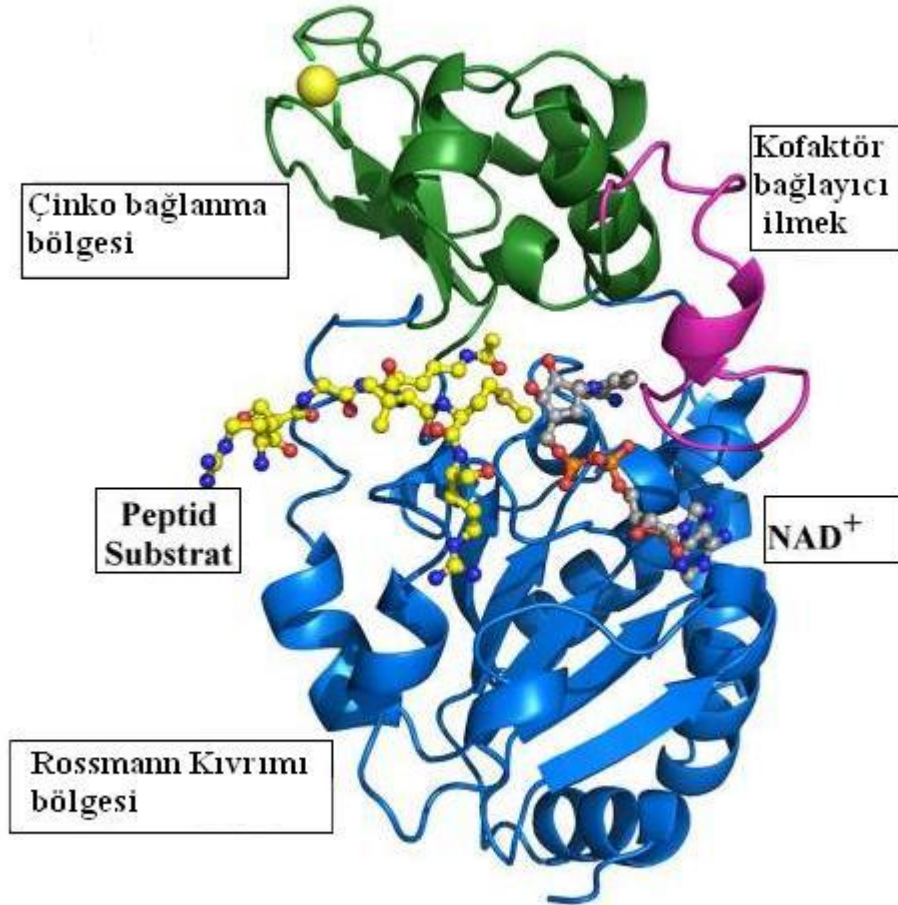


Şekil 6. Visfatin/PBEF/NAMPT Yapısı: (A) Fare visfatin/PBEF/ NAMPT NMN (nikotin amid mononükleotid) ile kompleks halde. Monomerik alt birimler sırasıyla yeşil ve mor renktedirler, NMN karbonları ise sarıdır. (B) Bir visfatin/PBEF/ NAMPT monomerinin şematik kurdele diyagramı. Birbirinden bağımsız domainler sırasıyla mavi ve yeşil renktedir. (C) Fare visfatin/PBEF/ NAMPT NMN kompleksinin aktif bölgesi. Monomerik alt birimler sırasıyla yeşil ve mor renktedirler NMN karbonları ise sarıdır (Sommer vd., 2008'den adapte edilmiştir).

1.4.2. SIRT1

Sirtüin 1, NAD-bağımlı deasetilaz sirtüin-1 veya nikotinamid adenzin dinükleotid-bağımlı histon deasetilaz, insanlarda SIRT1 geni tarafından kodlanan enzimatik yapıda bir proteindir (Frye R.A., 2000).

Memelilerde yaklaşık yedi Sir2 homologu sirtuin (SIRT) 1-7 tanımlanmıştır (Şekil 7). Memeli SIRT1 bu ailenin en yaygın olarak çalışılan üyesi olup protein deasetilasyonunda NAD⁺ hidroliziyle eşleşerek hücrel enerji ve redoks durumu ile çoklu iletişim ve hayatta kalma yolları arasında bağlantı kurar (Hao ve Haase 2010). Visfatin/Nampt/PBEF; nikotinamidin NAD⁺ 'a dönüşmesinde hız sınırlayıcı etki göstermektedir ve SIRT1 aktivasyonu için kritik önemi olan bir enzimdir (Revollo vd., 2004; Zhang vd., 2010). İnsülin reseptör substratlarından IRS-1 ve IRS-2'nin SIRT1 tarafından etkilendikleri ve IRS-2'nin asetillenme seviyesinin insülin uygulaması sonucunda geriye çevrilebildiği belirlenmiştir (Zhang J., 2007). SIRT1 ile ilişkili yolların modülasyonunun; diyabetik nefropatide, potansiyel bir terapötik hedef olduğu bildirilmiştir (Wu vd., 2012).



Şekil 7. Genel Sirtuin Yapısı: Asetil CoA sentetaz peptid substratı ve NAD⁺ analogu ile bağlı haldeki sirtuin enzimi. Nükleotid bağlayıcı Rossmann kıvrımı bölgesi mavi, çinko bağlanma bölgesi ise yeşil renklindedir. Kofaktör bağlayıcı ilmek kapalı konformasyonda olup mor renktedir ve gri renkli bir karba-NAD molekülünü bağlar. Aktif bölgedeki yarıktaki sarı renkte peptid yapıları substrat görünmektedir (Moniot vd., 2012'den adapte edilmiştir).

SIRT1'in pankreasın beta hücrelerinde glukozla uyarılan insülin salınımını pozitif yönde düzenlediği ortaya konulmuştur (Bordone vd., 2006). Son yıllarda memeli NAD-bağımlı protein deasetilaz SIRT1 ve nikotinamid fosforibozil transferaz (NAMPT) aracılı sistemik NAD biyosentezi üzerine yapılan çalışmalarda; bu iki düzenleyici bileşenin glukoz homeostazisinde, özellikle pankreasın beta hücrelerinde glukozla uyarılan insülin salınımının düzenlenmesinde birlikte görev yaparak kritik bir rol aldıkları kanıtlanmıştır (Revollo vd., 2004; Bordone vd., 2006; Xie vd., 2007; Imai vd., 2009; Hao ve Haase 2010).

Resveratrol, polifenolik bir SIRT1 aktivatörüdür. SIRT1; kalori kısıtlanmasının faydalı etkilerine aracılıkta merkezi bir rol oynamaktadır ve aktivasyonu metabolik hastalıkların indirgenmesi ve uzun yaşamla ilişkilidir. Kalori azaltıcı etkisiyle yaşlanmayı yavaşlatma etkisi göstermekte ve yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde insülin direncinde iyileşmeler sağlamaktadır, ayrıca hücre düzeyinde mitokondriyal hacmi arttırarak yaşam süresini uzattığı bildirilmektedir (Baur vd., 2006; Hao ve Haase 2010).

Resveratrolün SIRT1'i aktiveleştirme özelliğini hücrel enerji homeostazisini düzenleyen bir enzim olan 5' adenozin mono fosfat kinaz (AMPK) aracılığıyla indirekt olarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Baur vd., 2006; Porquet vd., 2012).

1.4.3. Visfatin/Nampt/PBEF ve Sirtüin 1 Yolağının Rolü

Hücrel sirtüin aktivitesi, metabolik veya çevresel kaynaklı durumlarla karşılaşıldığında etkin bir biçimde kontrol edilmektedir (Hao ve Haase, 2010). Bu kontrol, protein ekspresyon düzeylerine, dönüşümlü posttranslasyonel modifikasyonlara, NAD yardımcı substratlarının kullanılabilirliğine ve sirtüin enzimatik aktivitesini modüle edebilme kapasitesine sahip olan etkileşim proteinlerinin bulunup bulunmayışına da bağlıdır. SIRT1 ekspresyonunun, açlık ve besin yoksunluğunda, kalori kısıtlaması sırasında veya hücreler akut olarak DNA hasarı ve oksidatif strese sebep olan durumlara maruz kaldıklarında arttığı bildirilmiştir (Cohen vd., 2004; Rodgers vd., 2005).

SIRT1 ekspresyonunda azalma olması insülin direnciyle, kan glukoz düzeylerinin yüksek oluşuyla, yağdan zengin bir diyetle beslenmeyle ve yaşlanmayla ilişkilidir. Oksidatif stres gibi akut oluşan bir strese cevap olarak SIRT1 ekspresyonunun artışı; kısa süreli olarak gerçekleşmekte ve bir çok düzenleyici aşamada kontrol edilerek dengelenmektedir. Bu durum; promotor, mRNA ve protein düzeylerini kapsayan kompleks bir düzenlemeyi içermektedir. Hipermetile-kanser-1 (HIC1) ve adenoviral E1A protein

ilişkili C-terminal bağlayıcı (CtBP) proteinleri SIRT1 transkripsiyonunu inhibe eden represör kompleksin bir kısmıdır ve hücrel redoks durumundaki değişimlere yanıt olarak ayrışmaktadırlar. Bunun sonucunda oksidatif strese cevap olarak SIRT1 lokusundaki baskı ortadan kalkmakta ve böylece transkripsiyonunda çoğalma meydana gelmektedir (Zhang vd, 2007; Hao ve Haase, 2010).

Oksidatif strese maruz kalınmasından sonra artan SIRT1 transkripsiyonu ve bunun ardından oluşan replikatif yaşlanmaya, SIRT1'i kodlayan mRNA'nın dengesinde meydana gelebilecek azalma ile karşı konulabilmektedir. SIRT1 mRNA'sının kararlı seviyelerini koruyan dengeleyici mRNA bağlayıcı protein (HuR) ekspresyonunun azalması bu dengeyi sağlayabilmektedir. Genom mutasyonlarını önleyen p53 proteini de SIRT1 mRNA'sını hedef alarak SIRT1 seviyesini indirgeyen mikro RNA'yı (miR34a) uyarabilmektedir (Abdelmohsen vd., 2007; Yamakuchi vd., 2008).

Sirtüin 1 biyolojik aktivitesinin düzenlenmesindeki kompleksliğe ek olarak; protein yıkımını ve fosforlanmasını da içeren geri dönüşümlü posttranslasyonel modifikasyonlar gösterilebilir. Bunlara, SIRT1 inhibitörü DBC1 veya SIRT1 aktivatörü AROS gibi inhibe veya aktive edici faktörler arasındaki biyokimyasal ilişkiyi de eklemek yanlış olmaz. Ultraviyole radyasyon veya oksidatif strese maruz kalınması hem SIRT1'in yıkımının gerçekleşmemesine yol açmakta hem de DBC1-SIRT1 komplekslerinde oluşumların artmasına neden olmaktadır. Her iki etkileşim de enzimatik aktivitenin azalması şeklinde sonuçlanmaktadır (Sasaki vd., 2008; Kim vd., 2008; Kim vd., 2007; Hao ve Haase, 2010).

SIRT1 enzimatik aktivitesi; katalitik aktiviteyi inhibe eden, NAD tüketimi ve NAM üretimi ile sırasıyla ilişkilidir (Imai, S., 2009). Yakın zamanlı olarak yapılan çalışmalar; SIRT1 enzimatik aktivitesinin kontrolünde görev alan NAD kurtarma yolağının; inhibe edici NAM konsantrasyonunu azaltarak ve sirtüin ko-substratı NAD seviyelerini arttırarak kritik önem arz ettiğini göstermektedir (Imai, S., 2009). NAD kurtarma yolağındaki ilk reaksiyon; nikotin amid mono nükleotidin (NMN), NAM'den nikotin amid fosforibozil transferaz (NAMPT) aktivitesiyle oluşturulmasıdır. Bu durumu, NMN'in NMN-adenililtransferaz (NMNAT) aracılı NAD'a dönüşmesi takip etmektedir. NAMPT bu yolaktaki hız sınırlayıcı enzimdir ve bu özelliği nedeniyle sirtüin aktivitesinin düzenlenmesinde anahtar role sahip olduğu bildirilmektedir (Imai, S., 2009; Hao ve Haase, 2010).

Kültür hücrelerinde ve fare dokularında NAMPT ekspresyon düzeyi, NAD'ın hücresel seviyesiyle ve sirtuin aktivitesiyle bağlantılıdır (Zhang vd., 2009). Kalori kısıtlanması sırasında NAMPT ve SIRT aktivitelerinin ikisinin birden artması bunu göstermektedir (Yang vd., 2006). NAMPT; hem hücre içi hem de hücre dışı yapılarda bulunur (intraseküller:iNAMPT ve ekstraseküller:eNAMPT). eNAMPT diğer adlarıyla PBEF (pre-B hücre koloni geliştirme faktörü) veya visfatin (visseral yağ kaynaklı hormon) (Samal vd., 1994; Fukuhara vd., 2005), NMN sentezi yaparak sistemik dağılımını mümkün kıldığı ortam olan plazmada daha çok bulunmaktadır. Sistemik bir NAD biyosentetik enzimi olan eNAMPT, glukoz homeostazisinde düzenleyici rol oynadığından büyük önem arz etmektedir (Imai, S., 2009; Hao ve Haase, 2010).

1.5. Glukoz Taşıyıcı Proteinler

Glukoz taşıyıcı proteinler (GLUT'lar), hormonal düzenlenmeleri, metabolik tepkileri ve spesifik doku ekspresyonları bakımından farklı olan içsel membran proteinlerdir. GLUT'ların birçok farklı izoformu tanımlanmıştır. Tümü görünürde ortak transmembran topolojisini, büyük bir yapıyı (% 50 oranında protein kütlesi), yüksek oranda korunurluğu, daha az korunur olan transmembran bölgesini, çoğunlukla asimetrik ve membran olmayan sitoplazmik ve eksooplazmik bölgeleri paylaşmaktadır. Transmembran bölgesi, içerisinde substrat hareketine uygun sıvı yolunu kapsayan 12 adet transmembran domaininden oluşmaktadır. Sitoplazmik bölge; kısa N-terminal segmentini, büyük bir sitosolik halkayı ve büyük C-terminalini kapsamaktadır. Eksooplazmik bölge ise büyük bir halka yatağında tekli N-bağlı küçük oligosakkarit parçasını kapsamaktadır. Aslında sitoplazmik ve eksooplazmik bölgelerde bulunan izoform-spesifik amino asit sekansları, bu bölgelerin dokuya spesifik taşıma fonksiyonunun düzenlenmesinden sorumlu olduklarını göstermektedir. GLUT proteinleri yapısal olarak korunmuş ve birbirleri ile bağlantılıdır. Tüm GLUT proteinleri % 14–63 oranında özdeş ve % 30–79 oranında konservatiftir (Mueckler, 1994; Joost ve Thorens 2001; Thorens ve Mueckler, 2010).

1.5.1. GLUT2

Glut2; glukoz için eşsiz oranda yüksek bir K_m 'ye sahip olup (~ 17 mM), bağırsak ve böbrek epitel hücre bazolateral membranları içinde ve pankreatik β -hücrelerinde son derece yüksek oranlarda ifade edilmektedir (Thorens B, 1992). Bu durum, tüm fizyolojik veya diyabetle ilişkili glisemik seviyelerde hücre sitosölü ile ekstraselüler alan arasında hızlı bir dengelenme sağlamaktadır. Bu hücrelerde glukoz metabolizmasının hızı, glukoz fosforilasyon basamağında kontrol edilmektedir. Böylece; β -hücrelerinde diyabetik koşullarda olabildiği gibi, heksokinazlara glukozun girişini sınırlamaya yetecek oranda glukoz miktarının indirgenmiş olması dışında, Glut2 yüzey ekspresyonunun modülasyonu genellikle metabolizmayı regüle etmemektedir (Thorens vd., 1990).

Bağırsakta ise Glut2; glukoz absorpsiyonunu artırmak için yüksek oranda lümen glukoz konsantrasyonu bulunduğunda, apikal yüzeye kadar ulaşmaktadır (Kellett vd., 2008).

Kan glukoz konsantrasyonunun yükselmesi; pankreatik β -hücrelerinde insülin sekresyonunu tetikler ve hepatositlerde glukoz, glikolitik ve lipogenik genlerin ekspresyonunu uyarır. Glut2 eksikliği, β -hücrelerince glukoz uyarımlı insülin sekresyonunu ve hepatositlerde glukoz hassas gen ekspresyonunun düzenlenmesini önlemektedir. Transgenik farelerle yapılan çalışmalar; Glut2'nin karaciğer kapı toplardamar bölgesinde mevcut olan glukoz sensörlerinin ve merkezi sinir sisteminin sensörlerinin fonksiyonları için gerekli olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sensörlerin glukagon sekresyonunu, beslenme davranışını, insülin sekresyonunu ve periferik doku glukoz alımını kontrol ettiği düşünülmektedir (Marty vd., 2007).

Leturque ve ekibinin yaptıkları bir çalışma (2009); Glut2'nin farklı hücre fonksiyonları kontrol eden bir glukoz reseptörü olduğunu ileri sürmektedir. Bu iddia; transgenik fareler üzerinde yapılan gözleme dayalı olarak, saptanan bir füzyon proteinde, yeşil floresan proteinlerle işaretlenmiş Glut2 sitoplazmik orta ilmeklerinin nükleusta bulunması ve karaciğer, β -hücre ve renal fonksiyonları etkilediğinin belirlenmesiyle ortaya konmuştur. Bununla birlikte plazma membranındaki sabit Glut2 fonksiyonunu bu modelin nasıl etkilediğini tahmin etmek oldukça güçtür (Thorens ve Mueckler, 2010).

Ayrıca; Glut2'nin beyin ve periferik sistemde glukoz hassas hücrelerle ilişkili gibi görünmesinden ötürü, Glut2'yi eksprese eden bu hücrelerle çalışmak, glukozun düzenleyici bir sinyal olması rolünün daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunabilir. Bu

bağlamda insanlarla yapılan yakın zamanlı bir çalışma; Glut2'deki bir mutasyon ile şeker içerikli besin önceliği arasında bir ilişki olduğunu da ortaya koymaktadır (Thorens ve Mueckler, 2010).

Glut 2 ekspresyonu, başlıca böbrekte ve bağırsağın bazolateral membranındaki emici epitel hücrelerinde gerçekleşmekte ve burada absorbe veya reabsorbe edilen glukozun serbest bırakılmasında rol oynamaktadır. Glut2 ayrıca; karaciğer, pankreas ve beyinde de eksprese edilmektedir. Hepatositlerde, glukoneogenez yoluyla sentezlenen glukozun kana serbest bırakılması için bu taşıyıcı proteine gerek duyulmaktadır. İnsan, fare ve ratlar arasındaki Glut2 amino asit dizilerinin % 81 oranında özdeşlik gösterdiği bildirilmektedir (Mueckler, 1994; Thorens ve Mueckler, 2010).

1.5.2. GLUT4

Ayrı bir glukoz taşıyıcı izoformu olduğunun James ve çalışma arkadaşları (1988) tarafından keşfedildiği 1980 sonlarından beri Glut4; herhangi bir tekil membran taşıyıcı proteininden daha fazla deneysel ilgi görmektedir. Glut4 anahtar kelimesi kullanmak suretiyle, 2012 yılı sonu itibari ile yapılan literatür taramalarında bu konuyla ilgili 3000'den fazla yayın yapıldığı ortaya çıkmaktadır. Bu düzeyde yüksek bir ilgi; muhtemelen bu proteinin tüm vücut glukoz homeostazisindeki öneminden, kompleks yapısı ve insülince regülasyonunun anlaşılması zor mekanizmasından oluşmaktadır. Ayrıca obeziteyle, tip 2 diyabet hastalığı gibi; regülasyonun, çeşitli yaygın insülin direnci durumlarında bozulmasından kaynaklanmaktadır (Thorens ve Mueckler, 2010).

İskelet kası ve adipositlerde, intraselüler membran kompartımanlarından hücre yüzeyine insülin uyarımlı Glut4 translokasyonunun mümkün olduğu bilgisi 1980'lerin başında yapılan çeşitli öncü çalışmalarla ortaya konmuştur (Cushman ve Wardzala 1980; Suzuki ve Kono, 1980; Wardzala ve Jenrenaud, 1981). Bu regülasyon ile ilgili olarak; Glut4 depolayıcı veziküllerin (GSVs) keşfi ve dahası gibi detaylarla ilgili çok miktarda bilgiye ise aradan geçen otuz yılda erişilmiştir (Larance vd., 2008).

Bununla birlikte Glut4'ün temel yapısal özellikleri, onun eşsiz biçimde düzenlenmiş olan protein trafiği için gereklidir. Obezite ve Tip 2 diyabette periferik insülin direncine neden olan primer hücresel bozulmaların oluşum mekanizması bilinmemektedir. Glut4'ün insülin direncindeki kesin rolünü deşifre etmek için, bu molekülün yapısı ortaya çıkarılmalı, hücreler arası davranışının kontrolünü sağlamak için taşıyıcı ile hangi

spesifiklikte hücrel bileşenlerin etkileşimde bulunduğu tanımlanmalı ve özellikle sinyalizasyon basamaklarında; insülinde diğer araçlara kadar Glut4 ve bu düzenleyici komponentler arasındaki etkileşimleri direkt olarak değiştiren bileşenlerin ortaya çıkarılmaları gerekmektedir. Glut4'ün çizgili kas dokusundaki akut ve kronik regülasyonu ile ilgili (Karnieli ve Armoni, 2008) insülin uyarımlı vücut glukozunun bertarafına dair olan mevcut bilgi birikimi, daha fazla çalışmaya ihtiyaç duymaktadır (Thorens ve Mueckler, 2010).

Glut4, membran glukoz taşıyıcı protein ailesinin insüline karşı duyarlı üyesi olarak ve diyabetteki rolünden dolayı bilim insanlarınca sık çalışılmaktadır. Yağ doku, iskelet ve kalp kaslarını içeren insüline hassas dokulardaki Glut4 protein ekspresyonunun çok yüksek olduğu bilinmektedir. Glut4 proteini; rat ve farelerde yaklaşık olarak 55 kDa ağırlığında ve 509-510 amino asitten oluşan bir protein molekülü olup, bu türlerde %91-96 dizi özdeşliğiyle de oldukça korunumlu bir yapı sergilemektedir (Mueckler, 1994; Furtado vd., 2002; Sahin vd., 2010; Thorens ve Mueckler, 2010).

1.6. Amaç

Diyabetin oluşturduğu doku hasarı ve bu hasarda serbest oksijen radikallerinin rolü ve etkinliği son yılların önemli araştırma konularından birisidir. Visfatin ve SIRT1 aracılı NAD biyosentez mekanizmalarının açığa kavuşturulmasının diyabet hastalığında önemli terapötik potansiyellerinin olduğu bildirilmektedir (Imai vd., 2009). Diyabetin tedavisinde oral antidiyabetiklerin kullanımının yanında özellikle uzun vadedeki komplikasyonların azaltılması ve yaşam kalitesinin artırılarak kan şekeri seviyesinin düzenlenebilmesi amacıyla diyetel manipölasyonlar düşünülebilmektedir. Resveratrol, antioksidan özelliği ile öne çıkan biyoaktif bir bileşiktir. Bunun yanında resveratrolün antikanserojen, kardiyoprotektif ve terapötik etkileri de vardır.

Bu bilgilerin ışığı altında bu araştırmanın amacı, diyabetik ratlarda resveratrolün;

1. *In vivo* deney modelinde canlı ağırlık ve kan glukoz değerlerinin değişimi üzerine etkilerini,
2. Lipit peroksidasyonu (MDA) üzerine etkilerini,
3. Pankreas ve kas dokularında PBEF/NAMPT/Visfatin, SIRT1, glukoz taşıyıcıları (GLUT2, GLUT4) ve insülin proteinlerinin ekspresyonları üzerine etkilerini araştırmaktır.

2. MATERYAL ve METOD

2.1. Hayvan Materyali ve Araştırma Grupları

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı alındıktan sonra (Tarih: 20.01.2011, Toplantı: 2011/01, Karar No:22), etik kurallara uygun bir şekilde hayvan refahı ve hayvan haklarına riayet edilerek yürütüldü.

Deneylerde kullanılan ratlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edildi. Bu çalışmada 40 adet 180 ± 20 g canlı ağırlığında 8 haftalık yaşta erkek Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlara günlük 12 saat aydınlık; 12 saat karanlık olacak şekilde bir aydınlatma periyodu uygulandı. Ratlar, 22 ± 2 °C sıcaklıkta, $\%55 \pm 5$ nispi nem bulunan havalandırma sistemine sahip bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi.

Deney hayvanları, uygulamadan önce 10 gün süre ile standart şartlara adapte edildi. Hayvanlar rastgele 4 gruba ayrıldı; standart diyetle beslenen ve serum fizyolojik (1ml/kg rat/gün) verilen ratlar, Kontrol Grubunu; resveratrol (20 mg/kg/gün, i.p.) ve serum fizyolojik uygulaması yapılan ratlar; Resveratrol Grubunu; streptozotosin (STZ, 55 mg/kg, i.p. tek doz) ve serum fizyolojik uygulanan grup STZ grubunu; STZ ve Resveratrol uygulanan grup STZ+Resveratrol grubunu oluşturdu (Tablo 1). Çalışma süresince ratlara standart pelet yem ve su *ad libitum* olarak verildi. Hayvanlara verilen standart yemin bileşimi Tablo-2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Araştırma Grupları.

GRUPLAR	Grup adı	Uygulama	Süre
Grup 1 (n=10)	Kontrol	Standart Diyet	8 hafta
Grup 2 (n=10)	Resveratrol	20 mg/kg Resveratrol, i.p	8 hafta
Grup 3 (n=10)	STZ	55 mg/kg STZ, i.p.	Tek doz
Grup 4 (n=10)	STZ+Resveratrol	55 mg/kg STZ, i.p. + Resveratrol 20 mg/kg i.p	STZ tek doz; Resveratrol 8 hafta

Streptozotosin (Sigma, St. Louis, MO) 55 mg/kg olacak şekilde, pH'ı 4,5 olan sodyum sitrat tamponu içinde çözülerek intraperitoneal enjeksiyonla her hayvana tek doz olarak uygulandı (Bishnoi vd., 2011).

STZ uygulamasından önce ratların kan glukoz düzeyleri ölçülüp kontroller ile karşılaştırıldı. STZ uygulamasından 2 gün sonra açlık kan şekerleri 140 mg/dl seviyesinden yüksek olan ratlar diyabetik olarak sınıflandırıldı. Çalışmanın başlangıcında, 2. 28. ve 56. Günlerinde hayvanların kuyruk veninden kan şekeri düzeyleri belirlendi. Kandaki glukoz konsantrasyonu ACCU-Chek Active (RocheDiagnostics), glukometre cihazı kullanılarak ölçüldü.

Tablo 2. Deney Hayvanlarına Verilen Standart Yemin Bileşimi.

Diyet Bileşimi (gr/kg)	
İçerikler	Diyet (%)
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
Et Kemik unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deney hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D3, E, K, B1, B2, B6, B12 vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır.

**Mineral karması: Mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum ve kalsiyumdan oluşmuştur.

Resveratrol (Trans resveratrol % 90, Resvida, DSM, İsviçre), 20 mg/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla verildi (Schmatz ve ark., 2009).

Deneyssel uygulamalar 8 hafta boyunca sürdürüldü. Hayvanların deneyssel uygulamanın başlangıcında ve bitişindeki canlı ağırlık değişimleri kaydedildi. Deneyssel

uygulamanın bittiği gün, hayvanlar anestezi altında servikal dislokasyon yolu ile dekapite edilerek pankreas, kas ve kan örnekleri alındı. Kan örnekleri alındıktan hemen sonra + 4 ° C sıcaklık 5000 RPM devirde 10 dk süreyle santrifüj edilerek (Hettich Lab Tech.,Germany), serum örnekleri elde edildi. Doku ve serum örnekleri analiz edilinceye kadar -80° C’de, derin dondurucuda (Hettich Lab Tech., Germany), muhafaza edildi.

2.2. Laboratuvar Analizleri

2.2.1. Malondialdehit (MDA) Analizi

Serum örneklerinde, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri, Karatepe (2004) tarafından bildirilen metoda göre belirlendi.

- Serum örneklerinden, 1.5 ml hacimli mikrosantrifüj tüplerine 400 µl alındı. Örneklerin üzerine 300 µl 0.5 M HClO₄ eklenerek vorteksle karıştırıldıktan sonra santrifüj edildi.
- Süpernatant dikkatlice viallere alınarak serumların ekstraksiyon işlemi tamamlandı.
- Kalibrasyon grafiği oluşturulmak ve hesaplamalarda kullanılmak üzere MDA (1,1,3,3-tetraethoksi-propan, Sigma-Aldrich, Almanya) standardı hazırlandı.
- MDA standardı için tetraethoksi-propandan 10 µl hacimde alınarak 10 ml’lik kapaklı bir cam tüpe alındı.
- Hacim 0.1 M hidroklorik asit (HCl, %37, Merck, Almanya) ile 10 ml hacme tamamlandı.
- Benmaride (Memmert, Almanya) 100 °C’de 5 dk kapak kapalı şekilde muamele edildikten sonra soğutuldu ve ultra saf su ile 100 ml hacme tamamlandı.
- Analizler ultraviyole (UV) dedektör (SPD-20A), pompa (LC-20AD), otosampler (SIL-20A) ve kolon fırını (CTO-10ASVP) ünitelerine sahip olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid chromatography, HPLC) cihazında (Shimadzu, Japonya) LC Solution (LabSolution LCsolution Release 1.21) paket programı kullanılarak yapıldı.
- MDA analizlerinde kolon olarak C₁₈ (ODS-3, 5 µm, 4.6 x 250 mm, Inertsil, GL Sciences, Japonya), hareketli faz olarak ise pH: 3.6 olarak ayarlanan 30 mM

potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 , Merck, Almanya) – metanol (CH_4O , Sigma-Aldrich, Almanya) karışımı (% 82.5–17.5; v/v) kullanıldı.

- Analiz şartları; kolon fırını sıcaklığı 30 °C, hareketli faz akış hızı 1 ml/dk, enjeksiyon hacmi 30 µl, dalga boyu 250 nm ve analiz süresi 10 dk olacak şekilde ayarlandı.
- Örneklerde MDA için alıkonma süreleri yaklaşık 5 dakika olarak belirlendi. Serum örneklerinin MDA düzeyleri µmol/L olarak verildi.

2.2.2. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

SDS-PAGE elektroforez jel sisteminde akrilamid monomerlerinden yararlanılır. Amonyum persülfat (APS) gibi bir serbest radikal ile TEMED gibi stabilizatörü sağlayıcı ortamda akrilamid monomerleri uzun zincirler oluşturacak şekilde polimerleşmekte ve daha sonra oluşan bu uzun zincirler arasında yanıl bağlantılar oluşarak jel meydana gelmektedir. SDS-PAGE analizinde; jelin yapısında yer alan sodyum dodesil sülfat (SDS), deterjanının bulunması ile proteinler kendilerini oluşturan monomer alt birimlerine ayrılmaktadır. Böylece protein agregasyonu önlenmektedir. SDS moleküllerine bağlanan denatüre polipeptidler negatif yük kazanırlar. SDS bağlantılı polipeptid kompleksleri, molekül ağırlıklarına bağlı olarak jel içerisinde hareket ederler. Hareket eden moleküllerin ağırlıkları; aynı jel üzerinde bulunan bir standartla karşılaştırılarak tespit edilir. Mutasyon geçirmiş veya çeşitli olumsuz çevre faktörleri sonucunda canlı organizmanın bir kısım proteinlerinden normale göre parça kopması veya parça ilavesi ya da bazı proteinlerin yeterince sentezlenmemesi gibi özellikler bu jel sisteminde tespit edilmeye çalışılır (Tuzcu, 2004).

Protein moleküllerinin hareketi güç kaynağından gelen elektrik akımına göre negatif (-) kutuptan pozitif (+) kutuba doğru olur. İncelenecek protein molekülleri şayet 0–43 kDa aralığına tekabül ediyorsa akrilamidin konsantrasyonu %15, 40 kDa’dan yukarı ise akrilamidin konsantrasyonu %10 veya daha aşağı düşürülür. Diğer bir ifade ile molekülün ağırlığı arttıkça akrilamidin konsantrasyonu düşürülür. Akrilamid konsantrasyonunun artışı jel içerisindeki ara boşlukların daha sık olmasına sebep olmaktadır. Dolayısıyla protein moleküllerinin hareket hızı da azalmaktadır (Laemmli, 1970).

Kullanılan çözeltiler

- 1.5 M Tris-HCl (pH 8.8)
- 0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)
- % 10 Sodyum dodesilsülfat çözeltisi (SDS)
- %30 Akrilamid/Bisakrilamid çözeltisi
- %10 Amonyum persülfat çözeltisi (APS)
- N, N, N', N', -tetrametil-etilendiamin (TEMED)
- Gliserin
- 2-β- Mercaptoethanol
- %0,05 Bromofenol blue çözeltisi
- Boyama çözeltisi (Stain solusyon/100 ml):

%0.1 Coomassie blue R-250

%45 Metanol

%10 Glasiyal asetik asit

%45 Distile su

- Boya çıkarma çözeltisi (Destain solusyon/100ml):

%45 Metanol

%10 Glasiyal asetik asit

%45 Distile su

- Tank solusyonu (Running buffer, pH 8.3):

Tris base 9.0 gr

Glisin 43.0 gr

Distile su 600 ml

Tablo 3. SDS-PAGE İçin Jellerin Hazırlanması

Separating (ayırma) jelinin hazırlanması (%12)	Miktar
Distile su	3.35 ml
1,5 M Tris-HCl (pH 8.8)	2.5 ml
% 10 SDS	100 µl
Akrilamid /Bis (%30)	4.0 ml
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	5 µl
Toplam	10.0 ml
Stacking jelin hazırlanması (%4)	Miktar
Distile su	6.1 ml
0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)	2.5 ml
SDS (%10)	100 µl
Akrilamid-Bis (%30)	1.3 ml
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	10 µl
Toplam	10.0 ml

2.2.2.1. Total Protein Miktarının Spektrofotometrik Analizi

Kas ve pankreas örneklerine ait homojenatların içerdiği toplam protein miktarı Lowry yöntemine göre belirlenmiştir (Lowry vd.,1951).

Kullanılan Çözeltiler:

- **Na₂CO₃ (Sodyum Bikarbonat; %2):** 2 g Na₂CO₃ üzeri 100 ml'ye 0.1 N NaOH ile tamamlanır.
- **Na-K Tartarat (Sodyum Potasyum Tartarat; %1):** 1 g Na-K Tartarat üzeri 100 ml'ye dH₂O ile tamamlanır.
- **CuSO₄ (Bakır Sülfat, % 0.5) :** 0.5 g CuSO₄ üzeri 100 ml'ye dH₂O ile tamamlanır.

- **Alkali Bakır:** 48ml % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisine 1 ml % 1'lik Na-K Tartarat çözeltisi ve 1 ml % 0.5'lik CuSO_4 çözeltisi ilave edilir.
- **Folin:** 1:1 oranında dH₂O ile seyreltilir.
- **Bovin Serum Albumin (BSA):** 1 mg/ mL olacak şekilde dH₂O ile çözülür.

Alkali ortamda bakır iyonu (Cu^{+2}) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturur ve Cu^{+1} e indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan Tyr, Trp ve Cys aminoasitleri Folin reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden olur. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 600 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir.

Bu amaçla; her bir tüpe 0, 20, 40, 60, 80, 100 μl BSA, 2 ml alkali bakır eklendi ve 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra, her tüpe 0.2 ml folin reaktifi eklendi ve vortex edildi. Oda sıcaklığında 30 dk. inkübe edildi. 600 nm dalga boyunda her numunenin absorbansı belirlenerek standart olarak kullanılan bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

Standartlar ve örneklerin spektrofotometrik analizleri hata payını minimuma indirmek için iki tekrarlı gerçekleştirildi.

Spektrofotometrik analiz için her bir homojenattan 75 μl alındı, üzerine 975 μl dH₂O eklenip seyreltilerek üzerlerine alkali bakır çözeltisi ilave edildi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyonu takiben her bir örneğe folin belirteci eklenerek 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Spectronic Unicam Helios α , UK) değerler okundu. Spektrofotometre sonuçları regresyon yöntemi aracılığıyla değerlendirilerek, her bir homojenatın toplam protein miktarı hesaplandı.

2.2.2.2. SDS-PAGE Analizleri

Serbest ve serbest olmayan protein örnekleri Laemmli (1970) tarafından bildirilmiş şekilde hazırlanan SDS-PAGE ile incelendi.

Jel oluşturmak için uygun bir pozisyonda tutturulan iki cam arasına yerleştirilmek üzere 10 ml' lik ayırma jel solusyonu hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla belirli kısımlardan sıkıştırılarak kaset haline getirilen iki cam levha arasına aktarıldı. İki cam levha arasına jel ilave edilirken üst kısımda tarak dişlerinin yüksekliği kadar ($\approx 1\text{cm}$) bir boşluk bırakıldı. Hazırlanan kaset

şeklindeki bu iki cam levha arasındaki jel yaklaşık olarak 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek aralarındaki akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlandı. Daha sonra iki cam levhanın üst kısmına örnek sayısına uygun sayıda dişe sahip tarak yerleştirildi.

Tarak dişlerinin ara dolgu maddesi olarak ifade edilen yükleme jeli 10 ml kadar hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla, jel kasetine yerleştirilmiş olan tarak dişleri arasındaki boşluklar dolduruldu. Bu dolgu iki camın en üst seviyesine kadar tamamlandı. Yükleme jeli çok çabuk polimerize olduğundan işlemlerin kısa sürede yapılmasına dikkat edildi. 25–30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek polimerleşme sağlandı. Tarak, polimerleşmesi tamamlanan jelden çıkarıldı. Bu işlem sırasında jel de meydana gelen ve örneklerin bırakılacağı yuvaların bozulmamasına dikkat edildi. Cam levhalardan oluşan kaset elektroforez tankına yerleştirildi. Protein çözücü solusyonu; 0,125 M Tris (pH 6.8), %2’lik SDS, %0.002 oranında Bromofenol mavisi, %20’lik gliserol, %10’luk merkaptotanol şeklinde hazırlandı. Yaklaşık olarak 150 l olarak alınan her bir protein örneğine eşit oranda çözücü solusyondan ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Tarak dişinin genişliğine bağlı olarak, hazırladığımız karışımdan 10–20 l kadar transfer edildi. Tank içerisine yeterli miktarda tank solusyonu ilave edildi.

Güç kaynağından önce düşük bir voltajla (150 V) akım elektroforeze verildi. 5–10 dakika sonra voltaj değeri yükseltildi (180–200 V). Çıplak gözle izlenilebilen mavi boya bandı jelin alt kısmına gelince elektroforez cihazı kapatıldı.

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra kaseti oluşturan iki cam birbirinden ayrılarak aradaki jel çıkarıldı.

2.2.2.3. Western Blot Analizleri

Western blot işlemi Tuzcu’ya (2004) göre yapıldı. Western blot prosedürü; elektroforez işlemiyle poliakrilamid jelde göç ettirilen proteinlerin, nitroselüloz membrana transferi ve membrandaki proteinlerin immünolojik metotlarla gösterilmesidir. Blotlama yapılmadan önce çalışılan örneklerdeki proteinler elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilmektedir. Proteinlerin elektroforezleri SDS-PAGE’de gerçekleştirilmektedir. Western blot tekniği, elektroforez işlemi takip eden 4 aşamada gerçekleştirilir. Bunlar; jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama), spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein

bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama), özgül antikorlarla tepkime ve en son aşamada ise proteinlerin görüntülenme aşamalarıdır. Nitroselüloz membrana transfer sırasında jel ile nitroselüloz membran karşı karşıya getirilmekte ve bunlar filtre kağıtları arasına yerleştirilmektedir. Jelin büyüklüğü ile orantılı olarak belirli bir süre elektrik akımı uygulanıp proteinlerin transferi sağlanmaktadır. Nitroselüloz membranın özgül olmayan proteinlerle bloklanmasında albumin tercih edilmektedir. Spesifik antikorlar olarak monoklonal ya da poliklonal antikorlar kullanılabilir. Monoklonal antikorların kullanımı, yalnızca tek bir epitopa özgül olmaları ve çok güçlü immünokimyasal köprüler oluşturmalarından dolayı avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle, monoklonal antikorlar antijene spesifik bir bağlanma gösterir. Ancak, çalışılan proteinler arasında benzer epitop bölgeleri bulunmakta ise çapraz reaksiyonlar sonucunda yalancı pozitiflikler ortaya çıkabilmektedir. Poliklonal antikorların kullanılması durumunda aynı nedenden dolayı şekillenen yalancı pozitiflik ihtimalinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Western blotta monoklonal antikorların kullanımının en önemli dezavantajı, SDS-PAGE ve blotlama esnasında polipeptid yapılarıdaki epitopların ortadan kaldırılmasıdır. Belirlenmeye çalışılan epitopun ortadan kaldırılması durumunda ise monoklonal antikor-epitop bağlanması şekillenemez. Bu nedenden dolayı monoklonal antikor kullanıldığında, poliklonal antikorla çalışılmasına kıyasla, yalancı negatiflik ihtimali artmaktadır. Özgül antikorlarda raportör madde olarak genellikle radyoaktif izotoplar veya enzimler kullanılmaktadır. Enzim olarak alkalen fosfataz ve peroksidaz enzimleri tercih edilmektedir. Bu enzimlerin substratları ve kromojen maddeleri birbirinden farklıdır. Son yıllarda enzimle işaretlemede, testin duyarlılığını arttırmak amacıyla peroksidazla işaretleme avidin biyotin sisteminin kullanımı yaygınlaşmıştır. Kullanılan kromojenlerin en önemli özelliği çözünmeyen renkli ürünler oluşturmalarıdır. Kas ve Pankreas dokusu homojenatlarının Western blot analizi Baydaş ve Tuzcu (2003; 2005) tarafından bildirilen metotta modifikasyonla yapıldı.

Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana (Schleicher and Schuell, Inc., USA), aktarımı (blotlama) için, SDS-PAGE tamamlandıktan sonra poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Nitroselüloz membrana transferin gerçekleştirilmesi için poliakrilamid jel ile nitroselüloz membran yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak biçimde karşı karşıya getirildi ve bunlar filtre kâğıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine yerleştirilerek tampon solusyonuyla doyuruldu. Soğutulmuş tampon solusyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzenek için 60 dakika boyunca, 150 mA elektrik akımı uygulandı. Bu şekilde proteinlerin

transferi sağlanmış oldu. Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama) için, blotlama işlemi bittikten sonra petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solüsyonla [$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.025 M), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.075 M), NaCl (1.45 M)], çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika olacak şekilde yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM NaCl, 20 mM Na_2HPO_4 , 20 mM NaH_2PO_4 (pH: 7.2) tamponunda % 1'lik, taze sıgır serum albumini (BSA) ile 37 °C'de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı. Özgül Antikorlarla Tepkime işleminde primer antikorlar olarak, Glucose Transporter GLUT2 antikor (Abcam Inc., USA), Glucose Transporter GLUT4 antikor (Abcam Inc., USA), PBEF antikor (Abcam Inc., USA), SIRT1 antikor (Abcam Inc., USA), İnsülin A peptid hormonu (Santa Cruz Biotech. Inc., USA).kullanıldı. Primer antikorlar % 0.05 oranında Tween-20 bulan tamponda 1:1000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar; GLUT2, GLUT4, PBEF, SIRT1 ve İnsülin A antikorları ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonraki safhada, nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar % 0.05 oranında Tween-20 bulan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-rabbit immünoglobulinle 37 °C'de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03–0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solüsyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5–10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) yazılım programı kullanılarak analiz edildi.

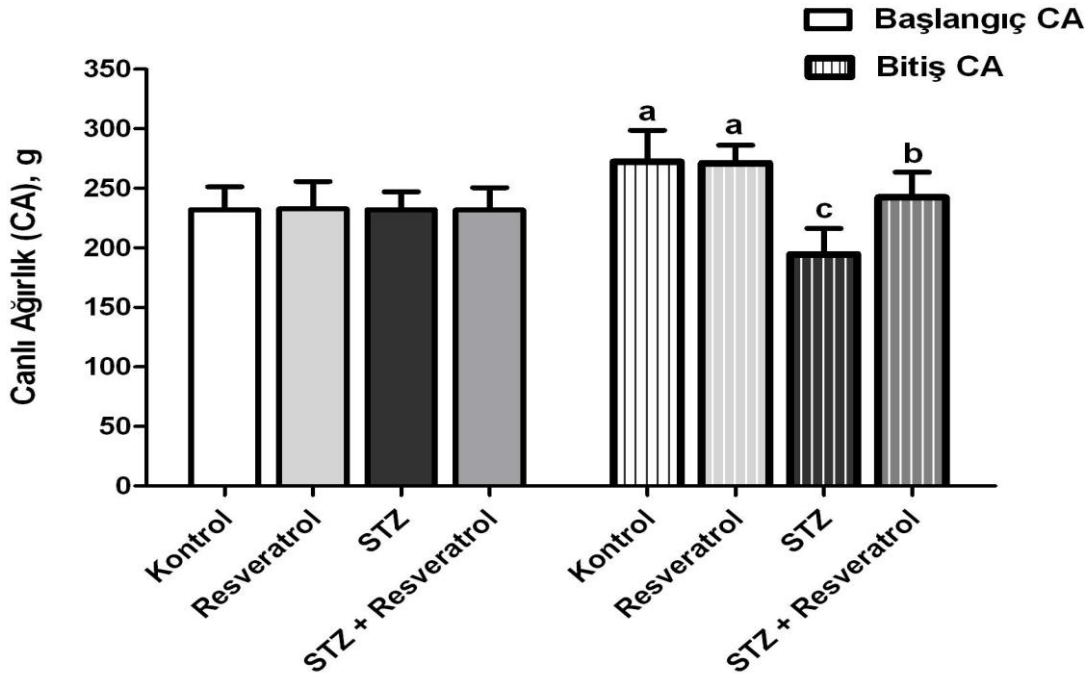
2.3. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler GraphPad Prism yazılımı kullanılarak yapıldı (PRISM 4, GraphPad Software Inc, LaJolla, CA). Veriler; ortalamanın standart hatası belirlenerek ($\pm$ SEM) sunuldu. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak gruplar karşılaştırıldı. Post hoc analizi olarak Tukey testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi için P değeri < 0.05 olarak belirlendi.

3.BULGULAR

3.1. Canlı Ağırlık Değişimleri

Hayvanların canlı ağırlıklarında meydana gelen değişimler, Şekil 8’de sunulmuştur. Çalışma başlangıcında canlı ağırlık ortalaması $232,2 \pm 2,9$ g olarak belirlenmiştir ($P > 0,05$). Deneme sonunda gruplarda canlı ağırlık ortalamaları arasında farklılık belirlenmiştir ($P < 0,001$). Bununla birlikte çalışma sonunda, kontrol grubu ($272,3 \pm 8,4$ g) ile resveratrol grubu ($271,1 \pm 4,8$ g) arasında fark bulunmazken ($P > 0,05$), STZ ($194,6 \pm 6,9$ g) ve STZ + Resveratrol ($242,4 \pm 6,7$ g) grupları hem kendi aralarında ($P < 0,001$) hem de kontrol grupları ile farklı bulunmuştur ($P < 0,05$). STZ uygulanan grupta hayvanların ortalama canlı ağırlıklarında %29 oranında bir azalma gözlenmiştir ($P < 0,001$). STZ uygulanan hayvanlarda resveratrol katkısı ile canlı ağırlık bakımından %25 düzeyinde STZ’li gruba göre bir artış ($P < 0,001$) meydana gelmesine karşın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ+Resveratrol grubu için canlı ağırlıktaki azalma %11 olarak belirlenmiştir ($P < 0,05$).



Şekil 8. Ortalama Ağırlık Değişimleri.

(a-c) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P < 0,001$).

3.2. Glukoz Düzeyleri

Çalışma gruplarına ait kan glukoz düzeylerinin başlangıç, STZ enjeksiyonu sonrası (2. gün), çalışma ortası (28. gün) ve çalışma sonundaki (56. gün) değerleri Tablo 4' de verilmiştir. Çalışma başlangıcında, gruplar arası kan glukoz değerleri arasında bir fark belirlenmezken ($P>0,05$), ortalama kan glukoz değeri $96,6\pm1,2$ mg/dL olarak tespit edilmiştir. STZ uygulamasını takiben 2. günde kan glukoz düzeyleri arasında farklılıklar görülmüştür ($P<0,0001$). Kontrol grubu ($99,0\pm2,5$ mg/dL) ve Resveratrol grubu ($94,8\pm2,7$ mg/dL) arasında fark bulunmazken ($P>0,05$), bu gruplarla STZ grubu ($342,1\pm8,0$ mg/dL) ve STZ+Resveratrol grupları ($359,2\pm5,0$ mg/dL) arasında belirgin bir fark saptanmıştır (Tablo 4; $P<0,0001$).

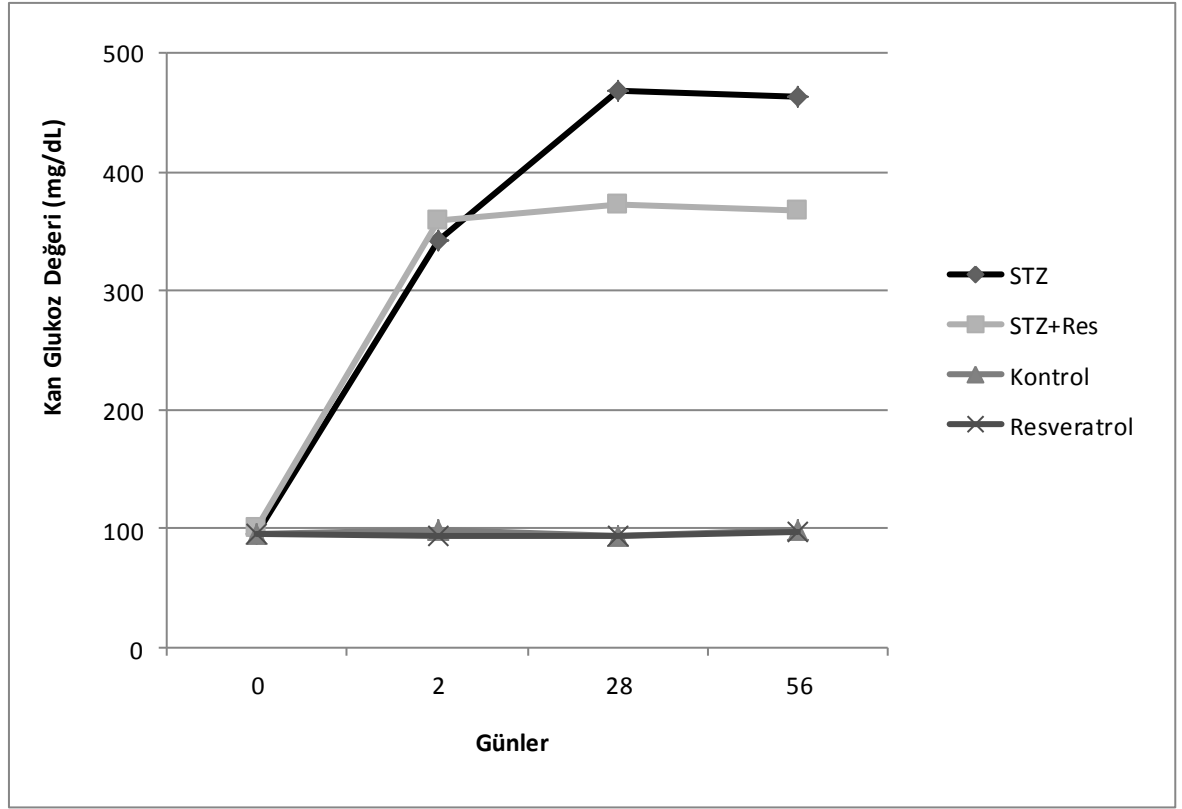
Çalışmanın 28. gününde, STZ ve STZ+Resveratrol gruplarında sırasıyla 469,3 mg/dL ve 373,1 mg/dL olarak ölçülmüştür. Kontrol ve Resveratrol grupları arasında çalışmanın 28. gününde de fark oluşmazken diyabetik gruplar hem kendi aralarında hem de kontrol ve resveratrol grupları ile farklılık göstermiştir ($P<0,0001$). Çalışmanın 28. gününde, STZ grubunun kan glukoz düzeyi kontrole göre %397 daha yüksek bulunurken, resveratrol katkısı yapılan STZ grubunda STZ'li gruba oranla %21 düzeyinde bir azalma göstermiştir.

Çalışma sonunda, kan glukoz düzeyleri kontrol ve resveratrol gruplarında değişmezken, STZ grubunda ortalama 463 mg/dL düzeylerinde ölçülürken ve STZ + Resveratrol grubunda ise 369 mg/dL değeri ile istatistiki olarak önemli bir düşüş göstermiştir ($P<0,0001$).

Tablo 4. Ortalama Kan Glukozu Değişimleri (mg/dL)

Zaman**	Gruplar*				--P--
	Kontrol	Resveratrol	STZ	STZ Resveratrol	
0.gün	96,10±2,35	94,90±2,77	±2,34 ^C	100,2±2,30 ^B	>0,05
2.gün	99,00±2,49 ^b	94,80±2,66 ^b	100±8,03 ^{Ba}	359,200±4,98 ^{Aa}	<0,0001
28.gün	94,50±2,21 ^c	94,70±2,63 ^c	30±26,54 ^{Aa}	373,10±23,92 ^{Ab}	<0,0001
56.gün	99,40±3,00 ^c	97,90±2,25 ^c	90±22,74 ^{Aa}	368,60±12,68 ^{Ab}	<0,0001
--P--	>0,05	>0,05	,0001	,0001	
Veriler Ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur.					
* a-b: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark anlamlıdır (P<0.05).					
** A-C: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark anlamlıdır (P<0.05).					

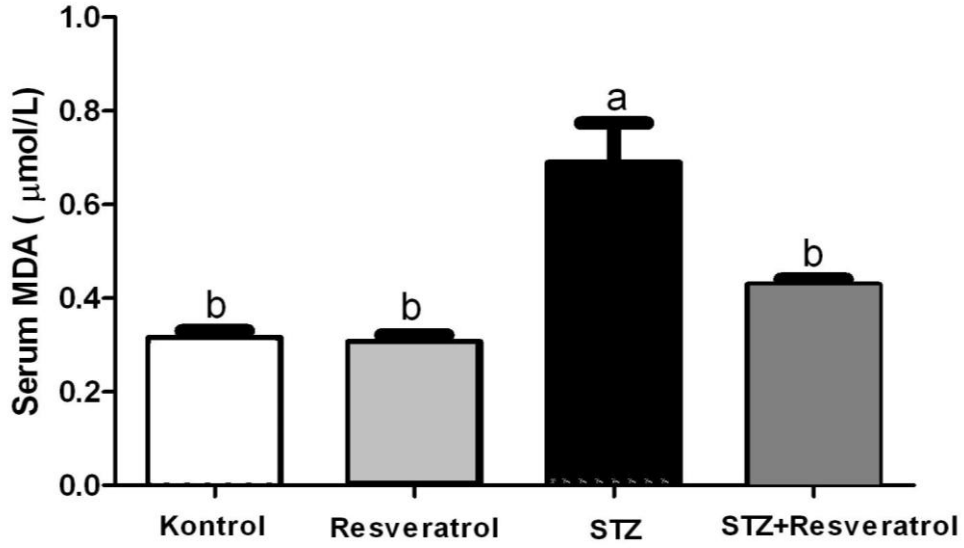
Kan glukoz düzeyleri; zamanla, kontrol ve resveratrol gruplarında değişmezken, (P>0,05) STZ grubunda çalışma ortası ve sonunda, 2. güne kıyasla istatistiki bir artış göstermesine rağmen bu artış, STZ+Resveratrol grubunda istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 9). Çalışma sonunda; STZ grubunda, kan glukoz düzeyi, ortalama 463 mg/dL olarak tespit edilirken, bu değer resveratrol katkısı ile %20 oranında bir azalma göstermiş ve STZ+resveratrol grubunda ortalama 369 mg/dL olarak tespit edilmiştir (Tablo 4).



Şekil 9. Kan Glukoz Değerleri.

3.3. MDA Düzeyleri

Resveratrol uygulamasının, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan serum malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine olan etkisi, Şekil 10'da verilmiştir. Serum MDA düzeyleri; Kontrol ve Resveratrol Gruplarında sırasıyla 0,315 ve 0,307 $\mu\text{mol/L}$ olarak tespit edilirken, STZ grubunda kontrol grubuna göre %119 oranında bir artışla 0,689 $\mu\text{mol/L}$, STZ+Resveratrol grubunda kontrol grubuna göre %36 oranında bir artışla 0,429 $\mu\text{mol/L}$ düzeyinde belirlenmiştir. STZ+Resveratrol grubunda serum MDA düzeyi STZ grubuna kıyasla %38 düzeyinde bir azalma göstermiştir ($P<0,01$). Serum MDA düzeyi en yüksek STZ grubunda belirlenirken, bu grup diğer gruplara göre istatistiki olarak farklı bulunmuş ($P<0,001$), kontrol ve tedavi grupları arasında istatistiki bir fark belirlenmemiştir ($P>0,05$).



Şekil 10. MDA Düzeyleri Değişimi.

(a-b) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P < 0,05$).

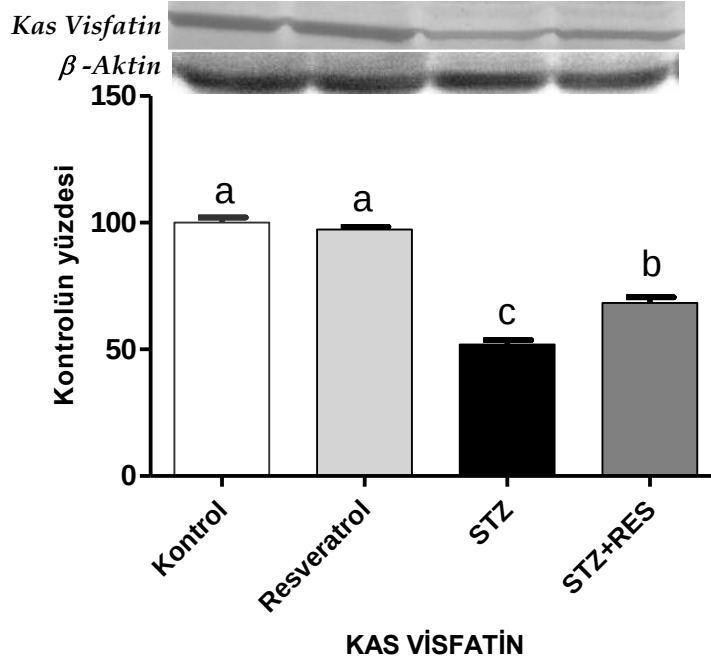
3.4. Western Blot Analizleri

Ratlarda resveratrol takviyesinin kas ve pankreas dokularındaki, NAMPT / PBEF / Visfatin, SIRT1, Glut2, Glut4 ve İnsülin protein ekspresyonlarını nasıl etkilediği tespit edilmiştir. Bu amaçla hazırlanan kas ve pankreas örneklerine ait homojenatlarda resveratrolün etkisi Şekil 11-20’de gösterilmiştir .

3.4.1. PBEF/NAMPT/Visfatin

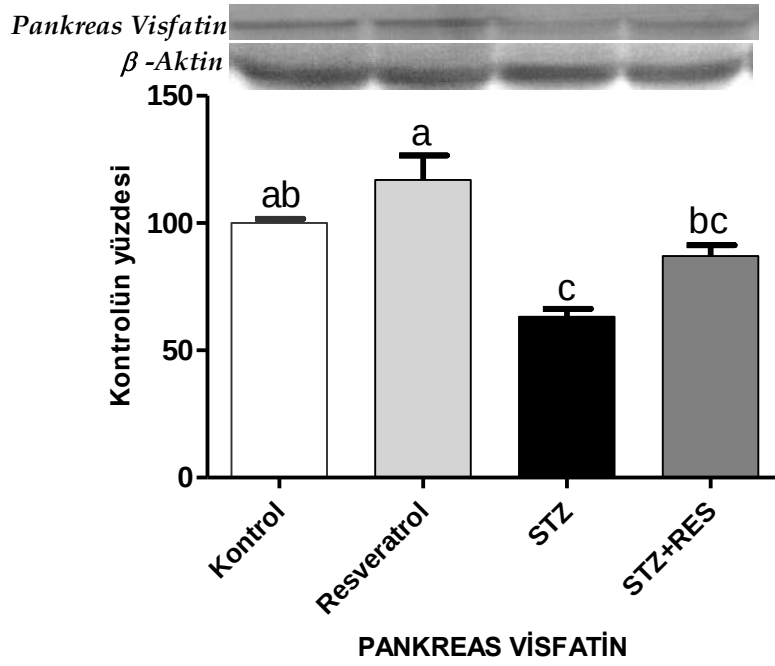
Diyabet oluşturulan ratlarda; resveratrol katkısının kas ve pankreas dokularındaki PBEF-Visfatin protein ekspresyonlarını olumlu yönde etkilediği gözlenmiştir ($P < 0,001$). Kas Visfatin protein ekspresyon düzeyleri, Kontrol ve Resveratrol Grupları arasında farklılık göstermezken, STZ ve STZ resveratrol gruplarına göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur ($P < 0,001$). Kas dokusunda Visfatin protein ekspresyon düzeyleri STZ ve STZ+Resveratrol gruplarında kontrol grubuna göre sırasıyla %48 ve %32 düzeyinde bir azalma göstermiştir (Şekil 11). STZ ve STZ+Resveratrol grupları arasında visfatin düzeyleri bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($P < 0,001$). STZ+Resveratrol grubunda Visfatin protein ekspresyon düzeyi STZ grubu ile

karşılaştırıldığında %31 düzeyinde bir artış göstermiş ve kontrol gruplarına yaklaşmasına karşın kontrol ve resveratrol grupları ile de aralarında istatistiki bir fark bulunmuştur.



Şekil 11. Kas Visfatin Protein Ekspresyon Düzeyleri.

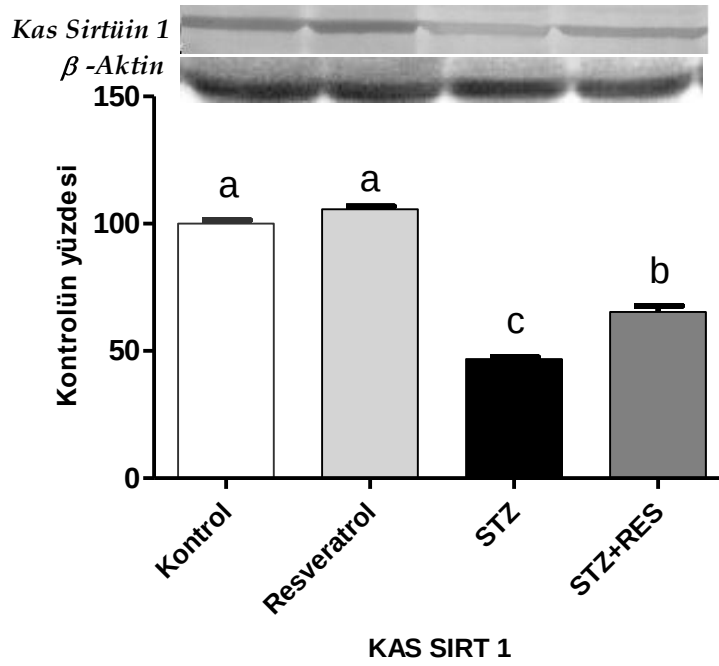
Pankreas dokularındaki Visfatin protein ekspresyon düzeyleri Şekil 12’ de sunulmuştur. Pankreas Visfatin düzeyleri Kontrol ve Resveratrol grupları arasında farklılık göstermezken, STZ grubuna göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur ($P<0,01$ ve $P<0,001$). Pankreas dokusunda Visfatin protein ekspresyon düzeyleri STZ ve STZ+Resveratrol gruplarında kontrol grubuna göre sırasıyla %37 ve %13 düzeyinde bir azalma göstermesine karşın Kontrol ile STZ+Resveratrol grubu arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Resveratrol grubunda visfatin düzeyi kontrol grubuyla benzer bulunurken STZ grubu ve STZ+Resveratrol grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (sırasıyla $P<0,001$ ve $P<0,05$). STZ+Resveratrol grubunda pankreas Visfatin protein ekspresyon düzeyi STZ grubu ile karşılaştırıldığında %38 düzeyinde bir artış göstermesine karşın Visfatin düzeyleri bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($P>0,05$).



Şekil 12. Pankreas Visfatin Protein Ekspresyon Düzeyleri.

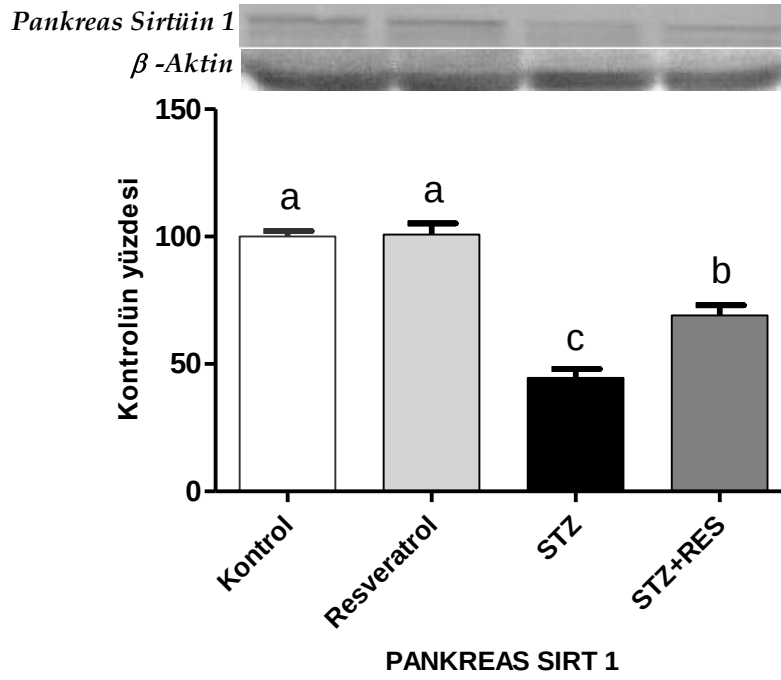
3.4.2. SIRT1

Çalışmada kullanılan diğer ratlarda ve resveratrol katkısı verilen ratlarda, kas dokularındaki Sirtuin 1 (SIRT1) protein ekspresyonları üzerine etkileri Şekil 13’de verilmiştir. Kas SIRT1 protein ekspresyon düzeyleri Kontrol ve Resveratrol Grupları arasında farklılık göstermezken ($P>0,05$), STZ ve STZ resveratrol gruplarına göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur ($P<0,001$). Kas dokusunda SIRT1 protein ekspresyon düzeyleri STZ ve STZ+Resveratrol gruplarında kontrol grubuna göre sırasıyla %53 ve %35 oranında bir azalma göstermiştir. STZ ve STZ+Resveratrol grupları arasında kas SIRT1 düzeyleri bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($P<0,001$). STZ+Resveratrol grubunda SIRT1 protein ekspresyon düzeyi STZ grubu ile karşılaştırıldığında %40 düzeyinde bir artış göstermiştir. STZ+Resveratrol grubu, kontrol ve resveratrol gruplarına göre kas dokusunda daha düşük SIRT1 protein ekspresyon düzeyine sahip bulunmuştur ($P<0,001$).



Şekil 13. Kas SIRT1 Protein Ekspresyon Düzeyleri.

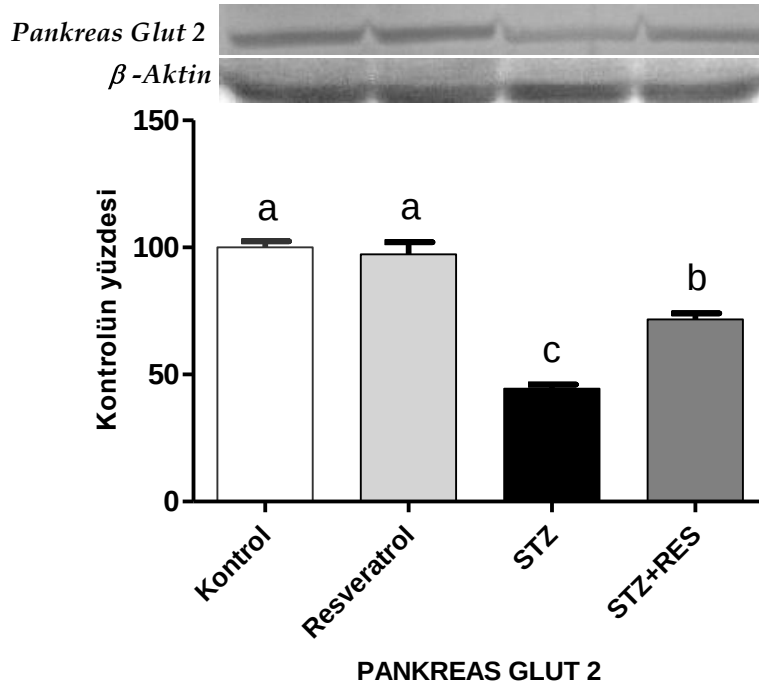
Pankreas dokularındaki SIRT1 protein ekspresyon düzeyleri kas dokusuna benzerlik göstermiştir (Şekil 14). Pankreas SIRT1 protein ekspresyon düzeyleri bakımından kontrol ve Resveratrol grupları arasında farklılık bulunmamıştır ($P>0,05$). STZ grubunda pankreas SIRT1 protein ekspresyonu en düşük değer ile diğer gruplarla farklılık göstermiştir ($P<0,01$). STZ+Resveratrol grubunda pankreas SIRT1 protein ekspresyonu kontrol grubuna göre azalmış ve tüm gruplarla farklılık göstermiştir ($P<0,001$). STZ ve STZ+Resveratrol gruplarında pankreas SIRT1 protein ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre sırasıyla %55 ve %31 oranında bir azalma göstermiştir. STZ+Resveratrol grubunda pankreas SIRT1 protein ekspresyon düzeyi STZ grubu ile karşılaştırıldığında %55 düzeyinde bir artış göstermiş ve bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,01$). STZ+Resveratrol grubunun, kontrol ve resveratrol gruplarına göre pankreas dokusunda daha düşük düzeyde SIRT1 protein ekspresyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir ($P<0,01$).



Şekil 14. Pankreas SIRT1 Protein Ekspresyon Düzeyleri.

3.4.3. GLUT 2

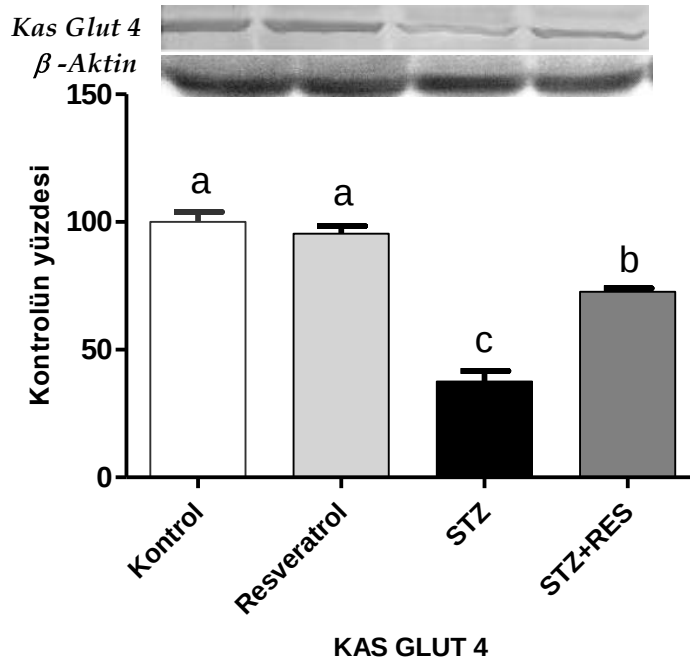
Pankreas dokularındaki GLUT2 ekspresyon düzeyleri, Şekil 15' de sunulmuştur. Pankreas dokularındaki GLUT2 ekspresyon düzeyleri, kas dokusundakine paralellik göstermiştir. Pankreas GLUT2 ekspresyon düzeyleri bakımından kontrol ve Resveratrol grupları arasında farklılık bulunmazken ($P>0,05$), STZ grubunda pankreas GLUT2 ekspresyonu kontrol grubuna göre %56 oranında daha düşük düzeyde bulunmuş ve diğer gruplarla da farklılık göstermiştir ($P<0,001$). STZ+Resveratrol grubunda pankreas GLUT2 ekspresyonu kontrol grubuna göre %28 oranında azalmış ve tüm gruplarla farklılık göstermiştir ($P<0,001$). STZ+Resveratrol grubunda pankreas GLUT2 ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre %28 oranında bir azalma göstermiştir ($P<0,001$). STZ+Resveratrol grubunda pankreas GLUT2 ekspresyon düzeyi STZ grubu ile karşılaştırıldığında %61 düzeyinde bir artış belirlenmiştir ($P<0,01$). STZ+Resveratrol grubunun, kontrol ve resveratrol gruplarına göre pankreas dokusunda daha düşük düzeyde GLUT2 ekspresyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir ($P<0,001$ ve $P<0,01$).



Şekil 15. Pankreas GLUT2 Ekspresyon Düzeyleri.

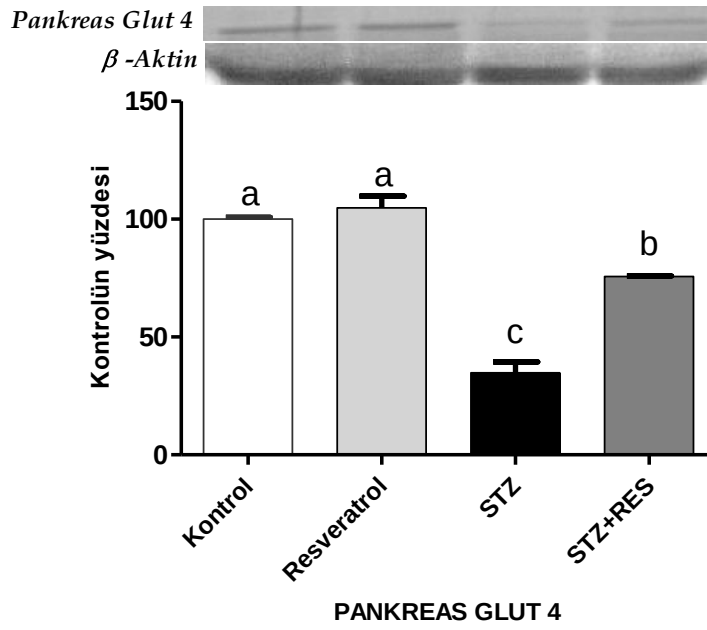
3.4.4. GLUT 4

Kontrol, Resveratrol, Diyabetik ve Resveratrol+Diyabetik ratlardaki resveratrol katkısının, kas dokularındaki Glukoz taşıyıcı protein 4 (GLUT4) ekspresyonları üzerine etkileri Şekil 16'da verilmiştir. Kas dokusundaki GLUT4 ekspresyon düzeyleri kontrol ve Resveratrol grupları arasında farklılık göstermezken ($P>0,05$), STZ ve STZ+Resveratrol grupları hem kendi aralarında ($P<0,001$) hem de kontrol ve Resveratrol grupları ile farklılık göstermiştir ($P<0,01$). Kas dokusunda GLUT4 ekspresyon düzeyleri STZ ve STZ+Resveratrol gruplarında kontrol grubuna göre sırasıyla %62 ve %27 oranında bir azalma göstermiştir ($P<0,001$ ve $P<0,01$). STZ ve STZ+Resveratrol grupları arasında kas GLUT4 düzeyleri bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($P<0,001$). STZ+Resveratrol grubu STZ grubu ile karşılaştırıldığında kas GLUT4 ekspresyon düzeyinde %93 oranında bir artış tespit edilmiştir ($P<0,001$). Bu artış ile STZ+Resveratrol grubunun kas GLUT4 ekspresyon düzeyi kontrol gruplarına yaklaşmasına karşın, kontrol ve Resveratrol grubu ile farklı bulunmuştur ($P<0,01$).



Şekil 16. Kas GLUT4 Ekspresyon Düzeyleri.

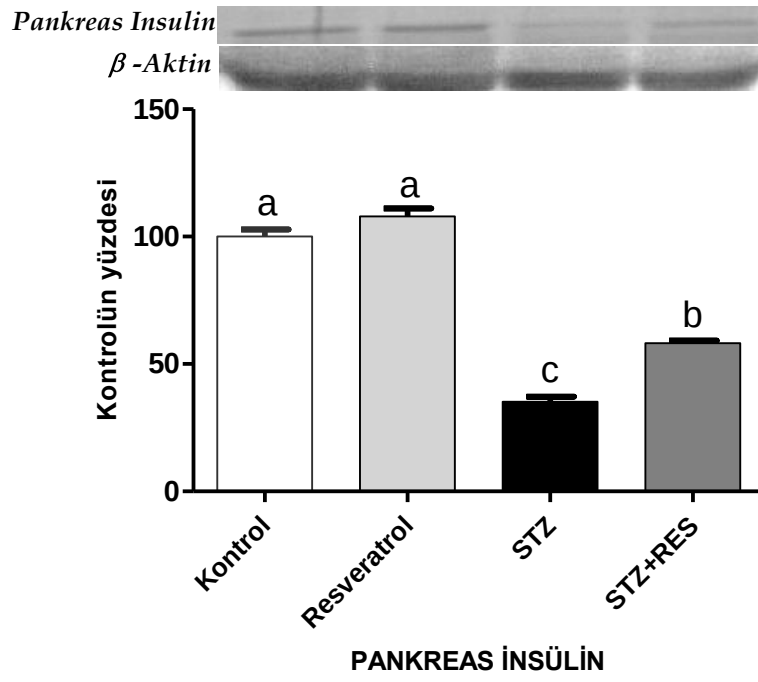
Çalışmada kullanılan ratlarda resveratrol suplemanının, pankreas dokularındaki GLUT4 ekspresyonlarını farklı düzeylerde etkilediği gözlenmiştir (Şekil 17; $P<0,001$). Pankreas Glut4 ekspresyon düzeyi Kontrol ve Resveratrol grupları arasında farklılık gözlenmezken ($P<0,001$), en yüksek değer %105 ile Resveratrol grubunda en düşük değer ise %35 ile STZ grubunda tespit edilmiştir. Pankreas dokularındaki GLUT4 ekspresyonları bakımından STZ ve STZ resveratrol grupları hem kendi aralarında ($P<0,05$) hem de kontrol ve Resveratrol grupları ile farklılık göstermiştir ($P<0,001$). Pankreas dokusunda GLUT4 ekspresyon düzeyleri STZ ve STZ+Resveratrol gruplarında kontrol grubuna göre sırasıyla %65 ve %24 oranında bir azalma göstermiştir ($P<0,001$ ve $P<0,01$).



Şekil 17. Pankreas GLUT4 Ekspresyon Düzeyleri

3.4.5. İNSÜLİN

Pankreas dokularındaki insulin protein ekspresyon düzeyleri Şekil 18’ de sunulmuştur. Pankreas insulin protein ekspresyon düzeyleri bakımından kontrol ve Resveratrol grupları arasında farklılık bulunmazken ($P>0,05$), STZ grubunda pankreas insulin protein ekspresyonu kontrol grubuna göre %65 oranında daha düşük düzeyde bulunmuş ve diğer gruplarla da farklılık göstermiştir ($P<0,001$). STZ+Resveratrol grubunda pankreas insulin protein ekspresyonu kontrol grubuna göre % 42 oranında azalmış ve tüm gruplarla farklılık göstermiştir ($P<0,001$). STZ+Resveratrol grubunda pankreas insulin protein ekspresyon düzeyi STZ grubu ile karşılaştırıldığında %65 düzeyinde bir artış belirlenmiştir ($P<0,001$). STZ+Resveratrol grubunun, kontrol ve resveratrol gruplarına göre pankreas dokusunda daha düşük düzeyde insulin protein ekspresyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir ($P<0,001$ ve $P<0,01$).



Şekil 18. Pankreas İnsulin Ekspresyon Düzeyleri.

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında; deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda sekiz haftalık resveratrol uygulamasının canlı ağırlık değişimine, kan glukoz düzeylerine, serum lipit peroksidasyon düzeyleri ile kas ve pankreas dokularındaki PBEF/NAMPT/Visfatin, SIRT1, glukoz taşıyıcıları (GLUT2, GLUT4) ve insülin proteinlerinin ekspresyonları üzerine etkileri ortaya konmuştur. STZ+Resveratrol uygulamasının; STZ grubuna göre, özellikle diyabette teröpatik potansiyeli olduğu bildirilen PBEF/NAMPT/Visfatin ve dolayısı ile SIRT 1 yolağı üzerinde ve glukoz taşıyıcı proteinler 2 ve 4 ekspresyonlarında artış ile birlikte, pankreas insülin ekspresyonlarında da, anlamlı ölçüde etkili olduğu saptanmıştır.

Diyabet hastalığı, gerek tip 1 ve gerekse tip 2 olmak üzere, küresel çapta obezitede artışın olmayacağı varsayılsa bile, bir salgın gibi büyümeyi sürdürmektedir. Çoğu tip 2 diyabet hastası, pankreaslarında insülin salgılayan Langerhans adacıklarının zaman içerisinde tükenmesi nedeniyle insüline bağımlı olan tip 1 diyabet hastasına dönüşecektir (Wild vd., 2004; Su vd.,2006).

Beslenmenin; kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok kronik hastalıkla ilişkili olduğu ve özellikle diyabet hastalığında önemli rol oynadığı, diyetin kontrolü ile diyetle alınan mikrobelerin de faydalı etkilerinin olduğu çok sayıda bildirimle ortaya konulmaktadır (Friedman, 1980; Aksakal, 1997; Opara, 2002; Bonnefont-Rousselot, 2004; Selcuk vd., 2012).

Resveratrolün (3,4,5'-trihidroksi stilben); streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda hipoglisemik ve hipolipidemik etkilerinin olduğu ve bu etkisini muhtemelen pankreatik beta hücrelerin apoptozunu inhibe ederek gerçekleştirdiği bildirilmektedir (Su vd.,2006; Palsamy ve Subramanian, 2008; Ku vd., 2012)

Bu çalışmada ratların canlı ağırlıkları kontrol ve resveratrol gruplarında herhangi bir değişim göstermezken; STZ grubunda, haftalar içinde kan glukoz değerlerinin artışıyla birlikte düşüş göstermiştir. Bu düşüş; STZ+Resveratrol grubunda, STZ grubuna oranla anlamlı biçimde daha az olmuştur. Sonuçlarımıza paralel olarak; yapılan pek çok çalışmada, STZ verilen ratlarda canlı ağırlık kaybı olduğu ancak bitkisel kökenli birçok polifenolik bileşiğin yanında, mangiferin ve hesperidin gibi fitokimyasalların uygulanmasıyla da bu kayıpların önüne geçilebildiği bildirilmektedir (Sellamuthu, vd., 2008; Akiyama, vd., 2010). Aldığımız sonuçlara benzer bir etki olarak; Su ve ekibi

tarafından (2006) ratlarla yapılan 2 haftalık bir çalışmada, diyabetli grupta ağırlık kaybı, resveratrol verilen gruba oranla belirgin şekilde fazlayken, STZ+0,5 mg/kg resveratrol verilen ratlarda ağırlık kaybının çok daha az olduğu, hatta kontrol grubuna yaklaştığı görülmüştür. Yine sonuçlarımıza paralel bir etki olarak; STZ ve nikotinamid ile diyabet oluşturulan ratlarda, kan glukoz homeostazisinin resveratrol sayesinde tersine çevrilerek, olumlu yönde düzenlendiği, böylece karbohidrat metabolizması düzene girdiği için yapısal protein kaybı önlenerek ağırlık kaybının önüne geçilebildiği bildirilmektedir (Palsamy ve Subramanian, 2008).

Bu çalışmada uygulamaların sonunda ratların kan glukoz düzeyleri kontrol ve resveratrol gruplarında değişmezken, STZ grubunda ortalama 463 mg/dL düzeylerinde ölçülmüş ve STZ + Resveratrol grubunda ise 369 mg/dL değeri ile istatistiki olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir. Şahin ve ekibi tarafından (2007; 2010; 2012) STZ uygulanan ratlara, çeşitli antioksidan organik krom formlarının verilerek glukoz konsantrasyonlarının belirgin biçimde düşürülebildiği çalışmaların bulgularıyla bu çalışmanın glukoz değişim sonuçları paralellik arz etmektedir. Bununla birlikte; mangiferin, hesperidin, likopen gibi fitokimyasalların uygulanmasıyla da serum glukoz düzeylerinin artışının önüne geçilebildiği bildirilmektedir (Sellamuthu, vd., 2008; Akiyama, vd., 2010; Bayramoglu, vd., 2013). Ayrıca; STZ verilen ve resveratrol ile deneme düzeni oluşturulan çeşitli çalışmalarda (Su vd.,2006; Revollo vd., 2007; Deng, 2008; Palsamy ve Subramanian, 2008; Yar vd., 2011; Ku vd., 2012), kemirgenlerde, glüklazid gibi oral antidiyabetik ilaçlarla kıyaslanabilecek başarıyla kan şekerinin düşmesini sağlayan etkileri olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte; insanlarda yapılan pilot bir çalışmada (Crandall vd., 2012); glukoz intoleransında olumlu etkileri olduğu belirlenmiş olmasına karşın, bu etkinliğin; insülin miktarlarını direkt artırma yoluyla değil, dolaylı bir mekanizma ile meydana geldiği düşünülmektedir (Su vd.,2006; Akar vd., 2012).

Bu çalışmada ratlarda oluşan oksidatif stres belirteci olarak ölçülen lipid peroksidasyon son ürün göstergesi MDA düzeyleri; STZ+Resveratrol verilen grupta, STZ verilen gruba oranla belirgin biçimde düşerek, kontrol ve resveratrol grupları ile aynı seviyelerde belirlenmiştir. Bu durum resveratrolün etkili bir polifenoik antioksidan olduğunu göstermektedir. Literatürde bu bulguya benzer olarak elde edilmiş çok sayıda sonuç (Sharma ve Gupta 2002; Ates vd., 2007; Silan, 2008; Roghani ve Baluchnejadmojarad, 2010) olmasına rağmen yakın zamanlı bir çalışmada resveratrolün diyabetik ratların dalağında proinflamatuvar etki gösterebildiğini bildirilmektedir (Chang,

vd., 2012). Bu durum; bu tarz çalışmalarda doz ve süre belirlenirken hassas davranılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Yağ dokudan üretilip salgılandığı bilinen bir adipokin olan PBEF/NAMPT/Visfatin düzeylerinin özellikle diyabetle yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir (Adeghate, 2008). Bu çalışmada ratların kas dokusunda PBEF/NAMPT/Visfatin protein ekspresyonlarında STZ verilen gruba kıyasla STZ+Resveratrol grubunda belirgin bir farklılık saptanırken, pankreas dokusu ekspresyonlarında STZ+Resveratrol grubundaki artış; STZ grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı çıkmasa da yüzde oranı bakımından dikkate değer bulunmuştur. Revollo ve ekibi (2007) tarafından yapılan bir çalışmada NAMPT'nin intrasellüler ve ekstrasellüler olarak çalışan bir NAD biyosentetik enzimi olduğu ve pankreatik β hücrelerinde glukoz uyarımlı insülin sekresyonunda (GSIS), önemli rol oynadığı, ancak bu etkinliğini *in vitro* veya *in vivo* olarak insüline benzer biçimde göstermediği ortaya konmuştur. NAMPT'nin plazma düzeyleri yerine doku düzeylerine bakmanın daha anlamlı olabileceğine bir örnek olarak; yapılan bir çalışmada farelerin kan plazmalarında nikotinamid mononükleotide (NMN) rastlanmamıştır (Hara, vd., 2011).

Mitokondriyal biyogenezi sağlayarak metabolik gerilemeyi önlediği bildirilen resveratrolün bu etkisini SIRT1 ve AMP aracılı protein kinaz (AMPK) aracılığıyla gerçekleştirdiği bildirilmektedir (Price, vd., 2012). Bu çalışmada SIRT1 ekspresyon düzeyleri; kas ve pankreas dokularında; STZ+Resveratrol verilen grupta, STZ verilen gruba oranla kendi aralarında belirgin bir biçimde artış göstermiştir. Beslenme kaynaklı metabolik bozukluklarda resveratrolün insülin direncini SIRT1 bağımlı mekanizmaların aktivasyonunu sağlamak suretiyle muhtemelen iyileştirebildiği bildirilmektedir (Baur vd., 2006, Lagouge vd., 2006). Ayrıca SIRT1 mRNA düzeylerinin; diyabet oluşturulan ratların kalp kasında, kontrol gruplarına kıyasla düşerken, STZ+Resveratrol verilen grupta, diyabet grubuna oranla artış gösterdiği ve bu bulguyla, diyabetik kalp kasında resveratrol ile SIRT1 uyarımının gerçekleştiği bildirilmiştir (Yar vd., 2011).

Hiperglisemi nedeniyle, fare endotel dokusunda SIRT1 ekspresyon düzeylerinin gerilediği ve resveratrol uygulaması ile; AMP aracılı protein kinaz ve hiperglisemide aktivitesi artan AKT olarak da bilinen protein kinaz B'nin, FOXO transkripsiyon faktörü üzerinden SIRT1' i pozitif yönde regüle etmesiyle bu düzeylerde iyileşme sağlandığı belirlenmiştir (Orimo vd., 2009). Resveratrolün insülin sinyalizasyon mekanizmalarından ziyade, beta hücrelerinin kaybını engellediği ve olası farklı (NAMPT→AMPK-AKT→FOXO→SIRT1) yollar üzerinden kan şekerinde artışı engelleyici etki gösterdiği

düşünülmektedir. NAMPT aracılı NAD sentezinin pankreas β hücre fonksiyonu için gerekli olduğu belirtilmektedir (Tanaka ve Nabeshima, 2007). Resveratrolün hayvan modellerindeki endotel reaktivitede oluşan bir iyileşme ile saptanan vasküler koruyucu etkisi; artan eNOS veya SIRT1 ve azalan NADPH oksidaz değişimine atfedilmektedir (Mattagajasingh vd., 2007; Akar vd; 2011; 2012). Ayrıca, yüksek yağlı diyetle beslenerek insüline karşı direnç geliştirilen farelerde resveratrolün muhtemelen SIRT1 bağımlı bir biçimde insülin direncinde iyileşme sağladığı ortaya konmuştur (Baur vd., 2006; Lagouge vd., 2006).

GLUT2; hücre membranları arasında pasif olarak glukoz taşınımını sağlayan bir transmembran proteini olup, kandan glukozun alınımı ve karaciğere aktarımını ve buradan salınımını sağlar (Marty vd., 2007). Bu çalışmada GLUT2 ekspresyon düzeyleri; pankreas dokularında; STZ+Resveratrol verilen grupta, STZ uygulaması yapılan gruba oranla, kendi aralarında anlamlı ölçüde artış göstermiştir. STZ ile diyabet oluşturulan ratların pelet yemlerine % 1 oranında, Japonya’da medikal amaçlı kullanılan ve sekiz farklı bitkiden elde edilen bir karışım olan hachimi-jio-gan eksrakı uygulanmış ve dört haftalık tedavi sonrası insülin salınımı düzenlenirken, başlangıçta baskılanan GLUT2 ekspresyonları, daha sonra düzelmiştir (Hirotani, vd., 2007). Yapılan bir başka çalışmada, insülin salgılayan INS-1E hücreleri ve insan Langerhans adacıkları, 25 μ m resveratrol uygulanarak 24 saat boyunca kültür ortamına alınmış ve glukoz ile stimüle olan insülin sekresyonunun anlamlı şekilde güçlendiği, ayrıca hem GLUT2 ekspresyon düzeyinin hem de glikolizi başlatan enzim olan glukokinazın ekspresyonlarının belirgin biçimde arttığı tespit edilmiştir (Vetterli vd., 2011).

Vücutta özellikle insüline yanıt veren majör dokulardan olan adipositler ve kas doku arasında, insülin reseptör uyarımlı glukoz transportunda görev alan GLUT4 düzeyi değişimleri, diyabette önem arz etmektedir (Cushman ve Wardzala 1980; Suzuki ve Kono,1980; Stenbit, vd., 1997). Bu çalışmada GLUT4 ekspresyon düzeyleri; kas ve pankreas dokularında; STZ+Resveratrol verilen grupta, yalnızca STZ verilen gruba oranla, kendi aralarında belirgin bir biçimde artış göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada; ratlar yüksek kolesterolü ve fruktoz içeren bir diyetle beslenerek, uzun süreli (15 hafta) resveratrol terapisine tabi tutulmuş ve GLUT4 aktivasyonu aracılığıyla insülin reseptör fosforilasyonunda artış sağlanarak hipertrigliseridemi ve insülin direncinde düzeltilmeler sağlanmıştır (Deng vd.,2008). STZ uygulanarak dişi ratlarda diyabet oluşturulan bir başka

çalışmada, piyoglitazon uygulanarak insülin hassasiyetinde gelişme sağlanmış ve kas dokusu GLUT4 seviyelerinde artış kaydedilmiştir (Ding, vd., 2005).

STZ ve nikotinamid ile diyabet oluşturulan ratlarda resveratrolün doza bağlı olarak; antihiperglisemik etkisinin yanında, çizgili kas dokusu GLUT4 ekspresyonlarında artış sağladığı bildirilmiştir (Chi, vd., 2007). Resveratrolün; STZ ile oluşturulan diyabetik miyokardiyumda, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve AKT gibi bazı hücre içi sinyal bileşenlerini, AMPK yolağı üzerinden tetiklediği ve SIRT1 aktivasyonunu sağlayarak GLUT4 translokasyonunda önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Turan vd., 2012).

İnsülin; pankreasın beta hücreleri tarafından oluşturulur ve özellikle karaciğer, kas ve adipoz dokuda glukozun kandan geçişini sağlayan peptid yapılı bir hormon olup, diyabet hastalığında büyük öneme sahiptir (Melloul, vd., 2002). Bu çalışmada; pankreas doku insülin ekspresyonlarında STZ+Resveratrol grubundaki artış; STZ grubuna oranla anlamlı bulunmuştur. Yakın zamanlı olarak yapılan bir çalışma; ratlarda streptozotosin ile oluşturulan diyabette, resveratrolün prevantif olarak uygulandığı zaman, pankreasın beta hücrelerinde; programlı hücre ölümü olan apoptozda görev alan PARP (poli-ADP riboz-polimeraz) aktivasyonunu engelleyip, belirgin olarak koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu sayede beta hücreleri apoptoza gitmemekte ve doğal olarak insülin salgılama yeteneklerini sürdürebilmektedir (Ku vd., 2012).

Chi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2007), resveratrol takviyesi diyabetik ratlarda insülin salınımında artış sağlamıştır. Akar ve arkadaşları (2011) tarafından yapılan bir çalışmada resveratrolün endotel fonksiyonda koruma sağladığı ve diyabet kaynaklı vasküler tahribata karşı koruduğu, başka bir çalışmalarında (2012) yüksek oranda fruktoz içeren mısır şurubu tüketimine bağlı vaskülopatide koruyucu bir potansiyel içerdiği belirlenmiştir. Farklı bir araştırmada ise fruktoz verilen ratlarda, resveratrolün insülin hassasiyetini artırmada, oral bir anti-diyabetik olan metforminden daha etkili olduğu ve metabolik sendrom ile hepatik oksidatif stresi hafifletici etkilerinin olduğu ortaya konmuştur (Bagul vd., 2012).

Resveratrolün insülinomimetik etkinliğinin insülin ile ilişkili olup olmadığı tam olarak anlaşılamamıştır (Su vd., 2006). Tip 1 diyabetli tavşanlarda resveratrolün; artan trigliserit seviyelerinde düzelme sağlayamamasının muhtemelen yetersiz kalan insülin etkisi nedeniyle olabileceği bildirilmiştir (Akar vd., 2011).

Resveratrolün hayvan modellerinde insülin duyarlılığı ve glukoz toleransı üzerindeki umut verici etkilerine rağmen, insanlarla yapılmış çok yönlü çalışma eksikliği

göze çarpmaktadır. Bu konuda yapılan yakın zamanlı pilot bir çalışmada (Crandall vd., 2012); dört haftalık resveratrol uygulamasının yaşa bağlı glukoz intoleransı olan erişkinlerde; öğün sonrası plazma glukozunda ve insülin duyarlılığında düzelme sağladığı ortaya konmuştur. Bununla birlikte Yoshino ve arkadaşları tarafından (2012), obez olmayan post menapozal ve normal glukoz toleransına sahip kadınlarla 12 hafta boyunca yürütülen bir çalışmada; resveratrolün plazmada yükseldiği saptanmış ve resveratrolün; vücut kompozisyonu, plazma lipitleri ve yangı markörlerini etkilemediği ayrıca karaciğer, iskelet kas dokusu veya yağ dokuda insülin hassasiyetini de etkilemediği gösterilmiştir (Yoshino vd., 2012).

Hayvan deneylerinde elde edilen olumlu sonuçların insanlı çalışmalara ışık tuttuğu düşünüldüğünde; resveratrol ve benzeri antioksidanların diyabet veya farklı sistemik hastalıklardaki faydalı etkilerinin araştırılmasının, bu hastalıklara yakalanmış olan çok sayıda insanın yaşam kalitesini artırmaya katkıda bulunacağı ve alanla ilgili çok sayıda çalışma yapılmasının gerekliliğinin, beşeri, ekonomik, sağlık ve bilimsel anlamda çok kıymetli olduğu ortadadır.

Sonuç itibariyle bu tez çalışmasında; STZ uygulaması ile diyabet oluşturulan ratlarda polifenolik bir antioksidan olan resveratrolün uygulamasının, lipit peroksidasyonunu azalttığı, PBEF/NAMPT/Visfatin ve dolayısı ile SIRT 1 yolağı üzerinde olumlu etki sağlayarak insülin rezervlerini koruduğu ve glukoz taşıyıcı proteinleri 2 ve 4 ekspresyonlarında olumlu etki gösterdiği, insülin ekspresyonunu kısmen artırdığı ve böylece diyabet tedavisinde destekleyici ve MDA düzeylerindeki indirgeyici etkinliğinden ötürü de, sekonder komplikasyonlara karşı koruyucu etki gösterebildiği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Abdelmohsen, K., Pullmann, R.Jr., Lal, A., Kim, H.H., Galban, S., Yang, X., Blethrow, J.D., Walker, M., Shubert, J., Gillespie, D.A., Furneaux, H. and Gorospe, M.,** 2007. Phosphorylation of HuR by Chk2 regulates SIRT1 expression, *Mol Cel.*, **25**, 543-557.
- Abou-Seif, M.A. and Youssef, A.A.,** 2004. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients, *Clin Chim Acta.*, **346**, 161-170.
- ADA (American Diabetes Association),** 2012. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care.*, **35**, 64-71.
- Adeghate, E.,** 2008. Visfatin: structure, function and relation to diabetes mellitus and other dysfunctions. *Curr Med Chem.*, **15**, 1851-1862.
- Aggarwal, B.B., Bhardwaj, A., Aggarwal, R.S., Seeram, N.P., Shishodia, S., Takada, Y.,** 2004. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.*, **24**, 2783-2840.
- Akar, F., Pektas, M.B., Tufan, C., Soylemez, S., Sepici, A., Ulus, A.T., Gokalp, B., Ozturk, K., Surucu, H.S.,** 2011. Resveratrol shows vasoprotective effect reducing oxidative stress without affecting metabolic disturbances in insulin-dependent diabetes of rabbits. *Cardiovasc Drugs Ther.*, **25**, 119-131.
- Akar, F., Uludag, O., Aydın, A., Aytakin, Y.A., Elbeg, S., Tuzcu, M. and Sahin, K.,** 2012. High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol. *Food Chem Toxicol.*, **50**, 2135-2141.
- Akiyama, Satoko., Katsumata, Shin-ichi., Suzuki, Kazuharu., Ishimi, Yoshiko., Wu, Jian., Uehara, Mariko.,** 2010. Dietary Hesperidin Exerts Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects in Streptozotocin-Induced Marginal Type 1 Diabetic Rats. *J Clin Biochem Nutr.*, **46**, 87-92.
- Aksakal, N.,** 1997. Tip II Diabetes Mellitus'ta Diyet Tedavisi, *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Diabetes Mellitus Sempozyumu*, İstanbul 18-19 Aralık s. 87-91.
- Alberti, K.G., Zimmet, P.Z.,** 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* **15**, :539-553.

- Ates, O., Cayli, S.R., Yucel, N., Altinoz, E., Kocak, A., Durak, M.A., Turkoz, Y., Yologlu, S.,** 2007. Central nervous system protection by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Clin Neurosci.* **14**, 256-260.
- Attele, A.S., Zhou, Y.P., Xie, J.T., Wu, J.A., Zhang, L., Dey, L., Pugh, W., Rue, P.A., Polonsky, K.S. and Yuan, C.S.,** 2002. Antidiabetic effects of panax ginseng berry extract and the identification of effective component, *Diabetes*, **51**, 1851-1858.
- Bagul, P.K., Middela, H., Matapally, S., Padiya, R., Bastia, T., Madhusudana, K., Reddy, B.R., Chakravarty, S. and Banerjee, S.K.** 2012. Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats, *Pharmacol Res.*, **66**, 260-268.
- Barth, S., Klein, P., Horbach, T., Dötsch, J., Rauh, M., Rascher, W. and Knerr, I.** 2010. Expression of neuropeptide Y, omentin and visfatin in visceral and subcutaneous adipose tissues in humans: relation to endocrine and clinical parameters, *Obes Facts.*, **3**, 245-251.
- Bate, K.L. and Jerums, G.,** 2003. Preventing complications of diabetes, *Med J Aust.*, **179**, 498-503.
- Baur, J.A., Pearson, K.J., Price, N.L., Jamieson, H.A., Lerin, C., Kalra, A., Prabhu, V.V., Allard, J.S., Lopez-Lluch, G., Lewis, K., Pistell, P.J., Poosala, S., Becker, K.G., Boss, O., Gwinn, D., Wang, M., Ramaswamy, S., Fishbein, K.W., Spencer, R.G., Lakatta, E.G., Le Couteur, D., Shaw, R.J., Navas, P., Puigserver, P., Ingram, D.K., de Cabo, R. and Sinclair, D.A.,** 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a highcalorie diet, *Nature*, **444**, 337-342.
- Baydas, G., Reiter, R.J., Nedzvetskii, V.S., Yasar, A., Tuzcu, M., Ozveren, F. and Canatan, H.,** 2003. Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis, *Toxicol Lett.*, **137**, 169-174.
- Baydas, G., Tuzcu, M.,** 2005. Protective effects of melatonin against ethanol-induced reactive gliosis in hippocampus and cortex of young and aged rats. *Experimental Neurology*, **194**, 175- 181.
- Baynes, J.W. and Thorpe, S.R.,** 1999. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm, *Diabetes*, **48**, 1-9.

- Bayramoglu, A., Bayramoglu, G., Senturk, H.,** 2013. Lycopene partially reverses symptoms of diabetes in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Med Food.*, **16**, 128-132.
- Bernardi, S., Severini, G.M., Zauli, G. and Secchiero, P.,** 2012. Cell-based therapies for diabetic complications, *Exp Diabetes Res.*, **2012**, 872504.
- Bishnoi, M., Bosgraaf, C.A., Abooj, M., Zhong, L., Premkumar, L.S.,** 2011. Streptozotocin-induced early thermal hyperalgesia is independent of glycemic state of rats: role of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and inflammatory mediators. *Mol Pain.*, **7**, 52.
- Bordone, L., Motta, M.C., Picard, F., Robinson, A., Jhala, U.S., Apfeld, J., McDonagh, T., Lemieux, M., McBurney, M., Szilvasi, A., Easlon, E.J., Lin, S.J. and Guarente, L.,** 2006. Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells, *PLoS Biol.*, **4**:e31
- Burns, J., Yokota, T., Ashihara, H., Lean, M.E. and Crozier, A.,** 2002. Plant foods and herbal sources of resveratrol, *J Agric Food Chem.*, **50**, 3337-3340.
- Calcutt, N.A., Cooper, M.E., Kern, T.S. and Schmidt. A.M.,** 2009. Therapies for hyperglycaemia-induced diabetic complications: from animal models to clinical trials, *Nat Rev Drug Discov.*, **8**, 417-429.
- Chang, C.C., Chang, C.Y., Huang, J.P., Hung, L.M.,** 2012. Effect of resveratrol on oxidative and inflammatory stress in liver and spleen of streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Chin J Physiol.*, **55**, 192-201
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F.,** 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* **49**, 481-493.
- Chen, C.Y., Jang J.H., Li, M.H. and Surh, Y.J.,** 2005. Resveratrol upregulates heme oxygenase-1 expression via activation of NF-E2-related factor 2 in PC12 cells, *Biochem Biophys Res Commun.*, **331**, 993-1000.
- Chi, T.C., Chen, W.P., Chi, T.L., Kuo, T.F., Lee, S.S., Cheng, J.T., Su, M.J.,** 2007. Phosphatidylinositol-3-kinase is involved in the antihyperglycemic effect induced by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci.*, **80**, 1713-1720.
- Clark, N.G., Fox, K.M., Grandy, S. and SHIELD Study Group,** 2007. Symptoms of diabetes and their association with the risk and presence of diabetes: findings

- from the Study to Help Improve Early evaluation and management of risk factors Leading to Diabetes (SHIELD), *Diabetes Care.*, **30**, 2868-2873.
- Cohen, H.Y., Miller, C., Bitterman, K.J., Wall, N.R., Hekking, B., Kessler, B., Howitz, K.T., Gorospe, M., de Cabo, R. and Sinclair, D.A.**, 2004. Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase, *Science*, **305**, 390-392.
- Crandall, J.P., Oram, V., Trandafirescu, G., Reid, M., Kishore, P., Hawkins, M., Cohen, H.W., Barzilai, N.**, 2012. Pilot study of resveratrol in older adults with impaired glucose tolerance. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, **12**,1307-1312.
- Cushman, S.W. and Wardzala, L.J.**, 1980. Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. Apparent translocation of intracellular transport systems to the plasma membrane, *J Biol Chem.*, **255**, 4758-4762.
- De la Lastra, C.A. and Villegas, I.**, 2007. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications, *Biochem. Soc. Trans.*, **35**, 1156-1160.
- Delmas, D., Lançon, A., Colin, D., Jannin, B. and Latruffe, N.**, 2006. Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer, *Curr Drug Targets.*, **7**, 423-442.
- Deng, J.Y., Hsieh, P.S., Huang, J.P., Lu, L.S. and Hung, L.M.**, 2008. Activation of estrogen receptor is crucial for resveratrol-stimulating muscular glucose uptake via both insulin-dependent and -independent pathways, *Diabetes.*, **57**, 1814-1823.
- Ding, S.Y., Shen, Z.F., Chen, Y.T., Sun, S.J., Liu, Q., Xie, M.Z.**, 2005. Pioglitazone can ameliorate insulin resistance in low-dose streptozotocin and high sucrose-fat diet induced obese rats. *Acta Pharmacol Sin.*, **26**, 575-580.
- Elmali, N., Baysal, O., Harma, A., Esenkaya, I., Mizrak, B.**, 2007. Effects of resveratrol in inflammatory arthritis. *Inflammation.* **30**, 1-6.
- Fridowich, I.**, 1978. The Biology of Oxygen Radicals. *Science.* **201**, 875-877
- Friedman, G.F.**, 1980. Diet in the treatment of diabetes mellitus. in *Modern Nutrition in Health and disease.* (Eds. Goodhart RS, Shils E.) Lea and Febiger, Philadelphia, USA.

- Frye, R.A.**, 2000. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **273**, 793-798.
- Fukuhara, A., Matsuda, M., Nishizawa, M., Segawa, K., Tanaka, M., Kishimoto, K., Matsuki, Y., Murakami, M., Ichisaka, T., Murakami, H., Watanabe, E., Takagi, T., Akiyoshi, M., Ohtsubo, T., Kihara, S., Yamashita, S., Makishima, M., Funahashi, T., Yamanaka, S., Hiramatsu, R., Matsuzawa, Y. and Shimomura, I.**, 2005. Visfatin: A protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin, *Science*, **307**, 426-430.
- Furtado, L.M., Somwar, R., Sweeney, G., Niu, W. and Klip, A.**, 2002. Activation of the glucose transporter GLUT4 by insulin, *Biochem Cell Biol.*, **80**, 569-578.
- Ganong, W.F.**, 1995. Bölüm 19, Tıbbi Fizyoloji. 16. baskı. Editör : Doğan. A. Barış Kitabevi, İstanbul, s365-386.
- Genuth, S., Alberti, K.G., Bennett, P., Buse, J., Defronzo, R., Kahn, R., Kitzmiller, J., Knowler, W.C., Lebovitz, H., Lernmark, A., Nathan, D., Palmer, J., Rizza, R., Saudek, C., Shaw, J., Steffes, M., Stern, M., Tuomilehto, J. and Zimmet, P.**, 2003. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus2, the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus, *Diabetes Care*, **26**, 3160-3167.
- Gispen, W.H. and Biessels, G.J.**, 2000. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus, *Trends Neurosci.*, **23**, 542-549.
- Hain, R., Bieseler, B., Kindl, H., Schröder, G. and Stöcker, R.**, 1990. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol, *Plant Mol Biol.*, **15**, 325-335.
- Hao, C.M. and Haase, V.H.**, 2010. Sirtuins and their relevance to the kidney, *J Am Soc Nephrol.*, **21**, 1620-1627.
- Hara, N., Yamada, K., Shibata, T., Osago, H., Tsuchiya, M.**, 2011. Nicotinamide phosphoribosyltransferase/visfatin does not catalyze nicotinamide mononucleotide formation in blood plasma. *PLoS One.*, **6**, e22781.
- Hasselbaink, D.M., Glatz, J.F.C., Luiken, J.J.F.P., Roemen, T.H.M. and Vusse G.V.**, 2003. Ketone bodies disturb fatty acid handling in isolated cardiomyocytes derived from control and diabetic rats, *Biochem J.*, **371**, 753-760.

- Hirotsani, Y., Ikeda, T., Yamamoto, K., Kurokawa, N.,** 2007. Effects of Hachimi-jio-gan (Ba-Wei-Di-Huang-Wan) on hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull.*, **30**, 1015-1020.
- Imai, S. and Kiess, W.,** 2009. Therapeutic potential of SIRT1 and NAMPT-mediated NAD biosynthesis in type 2 diabetes, *Front Biosci.*, **14**, 2983-2995.
- Imai, S.,** 2009. The NAD World: A new systemic regulatory network for metabolism and aging— Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance, *Cell Biochem Biophys.*, **53**, 65-74.
- James, D.E., Brown, R., Navarro, J. and Pilch, P.F.,** 1988. Insulin-regulatable tissues express a unique insulin sensitive glucose transport protein, *Nature*, **333**, 183-185.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O., Slowing, K.V., Thomas, C.F., Beecher, C.W., Fong, H.H., Farnsworth, N.R., Kinghorn, A.D., Mehta, R.G., Moon, R.C. and Pezzuto, J.M.,** 1997. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes, *Science*, **275**, 218-220.
- Joost, H. and Thorens, B.,** 2001. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review), *Mol Membr Biol.*, **18**, 247-256.
- Kakkar, R., Kalra, J., Mantha, S. and Prasad, K.,** 1995. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats, *Mol. Cell. Biochem.*, **151**, 113-119.
- Karatepe, M.,** 2004. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC–UV, *LCGC North America*, **22**, 362-365.
- Karnieli, E. and Armoni, M.,** 2008. Transcriptional regulation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 gene: from physiology to pathology, *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, **295**, 38-45.
- Kellett, G.L., Brot-Laroche, E., Mace, O.J. and Leturque, A.,** 2008. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2, *Annu Rev Nutr.*, **28**, 35-54.
- Kim, E.J., Kho, J.H., Kang, M.R. and Um, S.J.,** 2007. Active regulator of SIRT1 cooperates with SIRT1 and facilitates suppression of p53 activity, *Mol Cell.*, **28**, 277-290.
- Kim, J.E., Chen, J. and Lou, Z.,** 2008. DBC1 is a negative regulator of SIRT1, *Nature*, **451**, 583-586.

- King, H., Aubert, R.E., and Herman, W.H.,** 1998. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections, *Diabetes Care*, **21**, 1414-1431.
- Kopp, P.,** 1998. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'?, *Eur J Endocrinol.*, **138**, 619-620.
- Ku, C.R., Lee, H.J., Kim, S.K., Lee, E.Y., Lee, M.K. and Lee, E.J.,** 2012. Resveratrol prevents streptozotocin-induced diabetes by inhibiting the apoptosis of pancreatic β -cell and the cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase, *Endocr J.*, **59**, 103-109.
- Laemmli, U.K.,** 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, **227**, 680-685.
- Lagouge, M., Argmann, C., Gerhart-Hines, Z., Meziane, H., Lerin, C., Daussin, F., Messadeq, N., Milne, J., Lambert, P., Elliott, P., Geny, B., Laakso, M., Puigserver, P. and Auwerx, J.,** 2006. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α , *Cell*. **127**, 1109-1122.
- Langcake, P. and Pryce, R.J.,** 1976. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol Plant Pathol.*, **9**, 77-86.
- Larance, M., Ramm, G., and James, D.E.,** 2008. The GLUT4 code. *Mol Endocrinol*, **22**, 226-233.
- Leturque, A., Brot-Laroche, E. and Le Gall, M.,** 2009. GLUT2 mutations, translocation, and receptor function in diet sugar managing. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, **296**, 985-992.
- Lewis, E.J. and Husicker, L.G.,** 1993, The effects of ACE inhibition on diabetic nephropathy, *N. Eng. J. Med.*, **329**, 1456-1462.
- Liu, F., Xue, Z., Zhang, N., Wang, W., Chen, C., Li, W.,** 2012. Antagonizing effect of resveratrol on the lipid peroxidative damage induced by lead in mice. *Wei Sheng Yan Jiu.*, **41**, 920-924.
- Lowry, O. H., Rosebrough N. J., Farr, A.L., Randall R. J.,** 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J Biol Chem.*, **193**, 265-275.

- Mang, B., Wolters, M., Schmitt, B., Kelb, K., Lichtinghagen, R., Stichtenoth, D.O. and Hahn A.,** 2006. Effects of cinnamon extract on plasma glucose, HbA1c, and serum lipids in diabetes mellitus type 2, *Eur J Clin Investig.*, **36**, 340-344.
- Martinez, J. and Moreno, J.J.,** 2000. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production, *Biochem. Pharmacol.* **59**, 865-870.
- Marty, N., Dallaporta, M. and Thorens, B.,** 2007. Brain glucose sensing, counterregulation, and energy homeostasis, *Physiology (Bethesda)*, **22**, 241-251.
- Mattagajasingh, I., Kim, C.S., Naqvi, A., Yamamori, T., Hoffman, T.A., Jung, S.B., DeRicco, J., Kasuno, K. and Irani, K.,** 2007. SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, 14855-14860.
- McCarty, M.F.,** 2006. cGMP may have trophic effects on beta cell function comparable to those of cAMP, implying a role for high-dose biotin in prevention/treatment of diabetes, *Med Hypotheses*, **66**, 323-328.
- Melloul, D., Marshak, S., Cerasi, E.,** 2002. Regulation of insulin gene transcription. *Diabetologia.*, **45**, 309-326.
- Moniot, S., Weyand, M. and Steegborn, C.,** 2012. Structures, substrates, and regulators of Mammalian sirtuins - opportunities and challenges for drug development, *Front Pharmacol.*, **3**:16.
- Mueckler, M.,** 1994. Facilitative glucose transporters, *Eur J Biochem.*, **219**, 713-725.
- Mulakayala, C., Babajan, B., Madhusudana, P., Anuradha, C.M., Rao, R.M., Nune, R.P., Manna, S.K., Mulakayala, N., Kumar, C.S.,** 2013. Synthesis and evaluation of resveratrol derivatives as new chemical entities for cancer. *J Mol Graph Model.*, **4**, 43-54.
- Noyan, A.,** 1993. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 8.Baskı. Basım, yayım Meteksan A.Ş. Ankara, s 421-426 , 1055-1066.
- Opara, E.C.,** 2002. Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *J R Soc Promot Health.*, **122**, 28-34.
- Orimo, M., Minamino, T., Miyauchi, H., Tateno, K., Okada, S., Moriya, J., Komuro, I.,** 2009. Protective role of SIRT1 in diabetic vascular dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, **29**,889-894.
- Palsamy, P., Subramanian, S.,** 2008. Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes

- hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* **62**, 598-605.
- Parage, C., Tavares, R., Réty, S., Baltenweck-Guyot, R., Poutaraud, A., Renault, L., Heintz, D., Lugan, R., Marais, G.A., Aubourg, S. and Hugueney, P., 2012.** Structural, functional, and evolutionary analysis of the unusually large stilbene synthase gene family in grapevine, *Plant Physiol.*, **160**, 1407-1419.
- Prasad, K., Mantha, S.V., Muir, A.D., Westcott, N.D., 2000.** Protective effect of secoisolariciresinol diglucoside against streptozotocin-induced diabetes and its mechanism, *Mol Cell Biochem.*, **206**, 141-150.
- Price, N.L., Gomes, A.P., Ling, A.J., Duarte, F.V., Martin-Montalvo, A., North, B.J., Agarwal, B., Ye, L., Ramadori, G., Teodoro, J.S., Hubbard, B.P., Varela, A.T., Davis, J.G., Varamini, B., Hafner, A., Moaddel, R., Rolo, A.P., Coppari, R., Palmeira, C.,M., de Cabo, R., Baur, J.A., Sinclair, D.A., 2012.** SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function.*Cell Metab.*, **15**, 675-690.
- Revollo, J.R., Grimm, A.A. and Imai, S., 2004.** The NAD biosynthesis pathway mediated by nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells, *J Biol Chem.*, **279**, 50754-50763.
- Revollo, J.R., Körner, A., Mills, K.F., Satoh, A., Wang, T., Garten, A., Dasgupta, B., Sasaki, Y., Wolberger, C., Townsend, R.R., Milbrandt, J., Kiess, W., Imai, S., 2007.** Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab.*, **6**, 363-375.
- Rodgers, J.T., Lerin, C., Haas, W., Gygi, S.P., Spiegelman, B.M., Puigserver, P., 2005.** Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1, *Nature*, **434**, 113-118.
- Roghani, M., Baluchnejadmojarad, T., 2010.** Mechanisms underlying vascular effect of chronic resveratrol in streptozotocin-diabetic rats. *Phytother Res.* **2**, 148-154.
- Ruhe, R.C. and McDonald, R.B., 2001.** Use of antioxidant nutrients in the prevention and treatment of type 2 diabetes. *J Am Coll Nutr.*, **20**, 363-369 discussion 381-383.
- Ryan, C.M., 1988.** Neurobehavioral complications of type I diabetes, Examination of possible risk factors, *Diabetes Care*, **11**, 86-93.
- Sahin, K., Onderci, M., Tuzcu, M., Ustundag, B., Cikim, G., Ozercan, I.H., Sriramoju, V., Juturu, V. and Komorowski, J.R., 2007.** Effect of chromium

- on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotocin-treated rat, *Metabolism.*, **56**, 1233-1240.
- Sahin, K., Tuzcu, M., Orhan, C., Agca, C.A., Sahin, N., Guvenc, M., Krejpcio, Z., Staniek, H. and Hayirli, A.**, 2010, The Effects of Chromium Complex and Level on Glucose Metabolism and Memory Acquisition in Rats Fed High-Fat Diet, *Biol. Trace Elem. Res.*, **143**, 1018-1030.
- Sahin, K., Tuzcu, M., Orhan, C., Gencoglu, H., Ulas, M., Atalay, M., Sahin, N., Hayirli, A. and Komorowski, J.R.**, 2012. The Effects of Chromium Picolinate and Chromium Histidinate Administration on Nf- κ B and Nrf2/HO-1 Pathway in the Brain of Diabetic Rats, *Biol Trace Elem Res.*, **150**, 291-296.
- Samal, B., Sun, Y., Stearns, G., Xie, C., Suggs, S. and McNiece, I.**, 1994. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor, *Mol Cell Biol.*, **14**, 1431-1437.
- Sasaki, T., Maier, B., Koclega, K.D., Chruszcz, M., Gluba, W., Stukenberg, P.T., Minor, W. and Scrable, H.**, 2008. Phosphorylation regulates SIRT1 function, *PLoS One*, **3**, e4020.
- Sayin, O., Arslan, N. ve Güner, G.**, 2008. Resveratrol ve Kardiyovasküler Sistem, *Türk Biyokimya Dergisi*, **33**, 117-121.
- Schmatz, R., Mazzanti, C.M., Spanevello, R., Stefanello, N., Gutierrez, J., Maldonado, P.A., Corrêa, M., da Rosa, C.S., Becker, L., Bagatini, M., Goncalves, J.F., Jaques, J.D.S., Schetinger, M.R. and Morsch, V.M.**, 2009. Ectonucleotidase and acetylcholinesterase activities in synaptosomes from the cerebral cortex of streptozotocin-induced diabetic rats and treated with resveratrol, *Brain Research Bulletin*, **80**, 371-376.
- Selcuk, M.Y., Aygen, B., Dogukan, A., Tuzcu, Z., Akdemir, F., Komorowski, J.R., Atalay, M. and Sahin, K.**, 2012. Chromium picolinate and chromium histidinate protects against renal dysfunction by modulation of NF- κ B pathway in high-fat diet fed and Streptozotocin-induced diabetic rats, *Nutr Metab (Lond).*, **9**: 30.
- Sen, C.K.**, 2001. Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. *Med Sci Sports Exerc.*, **33**, 368-370.

- Sgambato, A., Ardito, R., Faraglia, B., Boninsegna, A., Wolf, F.I. and Cittadini, A.,** 2001. Resveratrol, a natural phenolic compound, inhibits cell proliferation and prevents oxidative DNA damage, *Mutat Res.*, **496**, 171-180.
- Shankar, S., Singh, G. and Srivastava, R.K.,** 2007. Chemoprevention by resveratrol: molecular mechanisms and therapeutic potential, *Front Biosci.*, **12**, 4839-4354.
- Sharma, M., Gupta, Y.K.,** 2002. Chronic treatment with trans resveratrol prevents intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Life Sci.*, **71**, 2489-2498.
- Sies, H.,** 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.*, **82**, 291-295.
- Silan, C.,** 2008. The effects of chronic resveratrol treatment on vascular responsiveness of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull.*, **31**, 897-902.
- Sommer, G., Garten, A., Petzold, S., Beck-Sickinger, A.G., Blüher, M., Stumvoll, M. and Fasshauer, M.,** 2008. Visfatin/PBEF/Nampt: structure, regulation and potential function of a novel adipokine, *Clin Sci (Lond).*, **115**, 13-23.
- Stenbit, A.E., Tsao, T.S., Li, J., Burcelin, R., Geenen, D.L., Factor, S.M., Houseknecht, K., Katz, E.B., Charron, M.J.,** 1997. GLUT4 heterozygous knockout mice develop muscle insulin resistance and diabetes. *Nat Med.*, **3**, 1096-1101.
- Stewart, R. and Liolitsa, D.,** 1999. Type 2 diabetes mellitus, cognitive impairment and dementia, *Diabetic Medicine*, **16**, 93-112.
- Su, H.C., Hung L.M. and Chen, J.K.,** 2006. Resveratrol, a red wine antioxidant, ossesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats, *Am. J. Physiol. Endocrinol.Metab.*, **290**, 1339-1346.
- Su, D., Cheng, Y., Liu, M., Liu, D., Cui, H., Zhang, B., Zhou, S., Yang, T., Mei, Q.,** 2013. Comparision of piceid and resveratrol in antioxidation and antiproliferation activities in vitro. *PLoS One.*, **8**, e54505.
- Suzuki, I. and Kono, T.,** 1980. Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **77**, 2542-2545.
- Tanaka, T., Nabeshima, Y.,** 2007. Nampt/PBEF/Visfatin: a new player in beta cell physiology and in metabolic diseases? *Cell Metab.*, **6**, 341-343.

- Thorens, B., Weir, G.C., Leahy, J.L., Lodish, H.F. and Bonner-Weir, S., 1990.** Reduced expression of the liver/beta-cell glucose transporter isoform in glucose-insensitive pancreatic beta cells of diabetic rats, *Proc Natl Acad Sci USA*, **87**, 6492-6406.
- Thorens, B., 1992.** Molecular and cellular physiology of GLUT2, a high-Km facilitated diffusion glucose transporter, *Int Rev Cytol.*, **137**, 209-238.
- Thorens, B. and Mueckler, M., 2010.** Glucose transporters in the 21st Century, *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, **298**, 141-145.
- Tuomilehto, J., Lindstrom, J., Eriksson, J.G., Valle, T.T., Hamalainen, H., Ilanne-Parikka, P., Keinanen-Kiukaanniemi, S., Laakso, M., Louheranta, A., Rastas, M., Salminen, V. and Uusitupa, M., 2001.** Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance, *N Engl J Med.*, **344**, 1343-1350.
- Turan, B., Tuncay, E., Vassort, G., 2012.** Resveratrol and diabetic cardiac function: focus on recent in vitro and in vivo studies. *J Bioenerg Biomembr.*, **44**, 281-296.
- Tuzcu, M., 2004.** Deneysel olarak oluşturulan diyabetik ratlarda hipokampus ve beyin korteksinden n-cam protein ekspresyonu ve buna melatonin ve vitamin E'nin etkisi, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Vetterli, L., Brun, T., Giovannoni, L., Bosco, D., Maechler, P., 2011.** Resveratrol potentiates glucose-stimulated insulin secretion in INS-1E beta-cells and human islets through a SIRT1-dependent mechanism. *J Biol Chem.*, **286**, 6049-6060.
- Wardzala, L.J. and Jeanrenaud, B., 1981.** Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat diaphragm. *J Biol Chem.*, **253**, 4758-4762.
- Wenzel, E., and Somoza, V., 2005.** Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol, *Mol. Nutr. Food Res.*, **49**, 472-481.
- World Health Organization., Expert Committee on Diabetes Mellitus. 1980.** Second Report. Geneva: WHO, Technical Report Series, 646.
- World Health Organization., 1985.** Diabetes Mellitus: Report of a WHO Study Group. Geneva: WHO, Technical Report Series, 727.
- World Health Organization., Consultation Group. 1999.** Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications Report of a WHO

- Consultation Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. WHO/NCD/NCS/99.2., Geneva, 1-59.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and King, H.,** 2004. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030, *Diabetes Care*, **27**, 1047-1053.
- Wu, L., Zhang, Y., Ma, X., Zhang, N., Qin, G.,** 2012. The effect of resveratrol on FoxO1 expression in kidneys of diabetic nephropathy rats. *Mol Biol Rep.*, **39**, 9085-9093.
- Xie, H., Tang, S.Y., Luo, X.H., Huang, J., Cui, R.R., Yuan, L.Q., Zhou, H.D., Wu, X.P. and Liao, E.Y.,** 2007, Insulin-like effects of visfatin on human osteoblasts, *Calcif Tissue Int.*, **80**, 201-210.
- Yamakuchi, M. and Ferlito, M.,** 2008. Lowenstein CJ: miR-34a repression of SIRT1 regulates apoptosis, *Proc Natl Acad Sci USA.*, **105**, 13421-13426.
- Yang, H., Lavu, S. and Sinclair, D.A.,** 2006. Nampt/PBEF/ Visfatin: A regulator of mammalian health and longevity?, *Exp Gerontol.*, **41**, 718-726.
- Yar, A.S., Menevse, S., Alp, E.,** 2011. The effects of resveratrol on cyclooxygenase-1 and -2, nuclear factor kappa beta, matrix metalloproteinase-9, and sirtuin 1 mRNA expression in hearts of streptozotocin-induced diabetic rats. *Genet Mol Res.*, **10**, 2962-2975.
- Yoshino, J., Conte, C., Fontana, L., Mittendorfer, B., Imai, S., Schechtman, K.B., Gu, C., Kunz, I., Rossi, Fanelli, F., Patterson, B.W., Klein, S.,** 2012. Resveratrol supplementation does not improve metabolic function in nonobese women with normal glucose tolerance. *Cell Metab.*, **16**, 658-664.
- Zhang, H.S., Sang, W.W., Wang, Y.O. and Liu, W.,** 2010. Nicotinamide Phosphoribosyltransferase/Sirtuin 1 Pathway Is Involved in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Tat-Mediated Long Terminal Repeat Transactivation, *J Cell Biochem*, **110**, 1464-1470.
- Zhang, J.,** 2007. The direct involvement of SirT1 in insulin-induced insulin receptor substrate-2 tyrosine phosphorylation, *J Biol Chem.*, **282**, 34356-34364.
- Zhang, Q., Wang, S.Y., Fleuriel, C., Leprince, D., Rocheleau, J.V., Piston, D.W. and Goodman, R.H.,** 2007. Metabolic regulation of SIRT1 transcription via a HIC1:CtBP corepressor complex. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **104**, 829-833.

Zhang, T., Berrocal, J.G., Frizzell, K.M., Gamble, M.J., DuMond, M.E., Krishnakumar, R., Yang, T., Sauve, A.A. and Kraus, W.L., 2009. Enzymes in the NAD₊ salvage pathway regulate SIRT1 activity at target gene promoters, *J Biol Chem.*, **284, 20408-20417.**

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Hasan GENÇOĞLU

Doğum Yılı: 19/03/1982

Yazışma Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 23119,

Adresi : Elazığ/Türkiye

Telefon : 424-2370000/3774

Faks : 424-2330062

e-posta : hgencoglu@firat.edu.tr

EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Türkiye	Fırat Üniversitesi	FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ	Moleküler Biyoloji	Yüksek Lisans	2009
Türkiye	Fırat Üniversitesi	FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ	Biyoloji	Lisans	2006

AKADEMİK/MESLEKTE DENEYİM

Kurum/Kuruluş	Ülke	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	Görev Dönemi
Fırat Üniversitesi	Türkiye	Elazığ	Biyoloji	Araştırma Görevlisi	2007-

DİĞER AKADEMİK FAALİYETLER

Yayınlara Alınan Toplam Atıf Sayısı	22
-------------------------------------	----

ÖDÜLLER

Ödülün Adı	Alındığı Kuruluş	Yılı
En iyi Poster bildiri alanında ikincilik ödülü: Ulusal Kümes Hayvanları Kongresi, Ege Üniversitesi, İZMİR.	Bilimsel Tavukçuluk Derneği	2012

YAYINLARI

SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler

Sahin N., Akdemir F., Orhan C., Aslan A., Agca C.A., Gencoglu H., Ulas M., Tuzcu M., Juturu V., Komorowski J. R., Sahin K. A novel nutritional supplement containing chromium picolinate, phosphatidylserine, docosahexaenoic acid, and boron activates the antioxidant pathway Nrf2/HO-1 and protects the brain against oxidative stress in high-fat-fed rats. <i>Nutritional Neuroscience</i>, 15 (5), September 2012 , 42-47.
Agca CA, Tuzcu M, Gencoglu H, Akdemir F, Ali S, Sahin K, Kucuk O. Lycopene counteracts the hepatic response to 7,12-dimethylbenz[a]anthracene by altering the expression of Bax, Bcl-2, caspases, and oxidative stress biomarkers. <i>Pharm Biol.</i> 2012;50(12):1513-8.
Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, Gencoglu H, Ulas M, Atalay M, Sahin N, Hayirli A, Komorowski JR. The Effects of Chromium Picolinate and Chromium Histidinate Administration on Nf- κ β and Nrf2/HO-1 Pathway in the Brain of Diabetic Rats. <i>Biol Trace Elem Res.</i> 2012, 150 (1-3) 291-296.
Ulu R, Dogukan A, Tuzcu M, Gencoglu H, Ulas M, Ilhan N, Muqbil I, Mohammad RM, Kucuk O, Sahin K. Regulation of renal organic anion and cation transporters by thymoquinone in cisplatin induced kidney injury. <i>Food Chem Toxicol.</i> 2012, 50 (5), 1675-1679.
Bal R, Türk G, Tuzcu M, Yilmaz Ö, Kuloglu T, Gundogdu R, Gür S, Agca A, Ulas M, Çambay Z, Tuzcu Z, Gencoglu H, Guvenc M, Ozsahin AD, Kocaman N, Aslan A, Etem E. Assessment of imidacloprid toxicity on reproductive organ system of adult male rats. <i>Journal of Environmental Science and Health-Part B</i>, 2012, 47:434-444.
Dogukan, A., Tuzcu, M., Agca, C.A., Gencoglu, H., Sahin, N., Onderci, M., Ozercan, I.H., Ilhan, N., Kucuk, O., Sahin, K., A Tomato Lycopene Complex Protects the Kidney From Cisplatin-Induced Injury via Affecting Oxidative Stress as Well as Bax, Bcl-2, and HSPs Expression, <i>Nutr Cancer</i>. 2011 Mar 4:1.
Tuzcu M., Sahin N., Dogukan A., Aslan A., Gencoglu H., Ilhan N., Kucuk O., Sahin K., 2010, Protective Role of Zinc Picolinate on Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in

Rats., Journal of renal nutrition, November, 2010, 20 (6), 398-407.

Sahin, K., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Dogukan, A., Timurkan, M., Sahin, N., Aslan, A., Kucuk, O., Epigallocatechin-3-gallate Activates Nrf2/Ho-1 Signaling Pathway In Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats, Life Sciences, August, 2010, 87 (7-8), 240-245.

Diğer dergilerde yayımlanan makaleler

Mehmet Tuzcu, Hasan Gençoğlu, Kazım Şahin, Konneksinlerin Hücreler Arası İletişimdeki Rolü (Derleme) -The Role of Connexins in Intercellular Communication (A Review), e-Journal of New World Sciences Academy, 2010, Volume: 5, Number: 2, Article Number: 1B0018.

Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

Kazım Şahin, Mehmet Tuzcu, Cemal Orhan, Hasan Gençoğlu, Mustafa Ulaş, Mustafa Atalay, Nurhan Şahin, Armağan Hayırlı, James R. Komorowski. Krom Pikolinat ve Krom Histidinatin Diyabetik Ratların Beyinlerinde NF-kB ve Nrf2 Sinyal Yolağı Üzerine Etkisi, V. FHABESAS, 08-11 KASIM, 2012, Side, ANTALYA.

C. Orhan, M. Tuzcu, H. Gencoglu, N. Sahin, K. Sahin. Bildiricilerde Epigallocateşin-3-Gallatin (EGCG) Karaciğer Isı Şok Proteinleri ve AP-1 Sinyal Yolağı Üzerine Etkisi. Ulusal Kümes Hayvanları Kongresi, 3-5 Ekim 2012, Ege Üniversitesi, İZMİR.

Z. Tuzcu, O. Yilmaz, M. Tuzcu, H. Gencoglu, U. Kilic, I. H. Ozercan, E. Kilic, N. İlhan, F. Sahin, K. Sahin. The Effect of Melatonin on NAMPT/SIRT-1 Signaling Pathway on Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Rats. 5th International Congress on Nutrition and Cancer, September 09-11, 2012, Elazig, TURKEY.

Mehmet Güvenç, Ökkeş Yılmaz, Mehmet Tuzcu, Ayşe Dilek Özşahin, Hasan Gençoğlu, Muammer Bahşi. "Bazı Antioksidanlarla Desteklenen Kontrolsüz Diyabetik Ratların Pankreas Dokusunda α-Tokoferol, Kolesterol ve Bazı Yağ Asitlerinin Değişimi". 19. Ulusal Biyoloji Kongresi. 23-27 Haziran, 2008, Trabzon, TÜRKİYE.

Tuzcu, M., Gençoğlu, H., Agca C.A., Komorowski, J.R., Sahin, K., Tip 2 Diyabetik Ratlarda Krom Histidinatin Beyin Isı Şok Proteinleri Üzerine Etkileri, 20. Ulusal Biyoloji

Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 21-25 Haziran 2010, Denizli, TÜRKİYE.
Özşahin, A.D., Yılmaz, Ö., Baydaş, Z., Güvenç, M., Gençoğlu, H., Göver Ç., Tuzcu, M., Fenton Reaktif Verilen Ratların Böbrek Dokusunda Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Kayısı ve Üzüm Ekstraktlarının Etkisi, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 21-25 Haziran 2010, Denizli, TÜRKİYE.
Özşahin, A.D., Tuzcu, M., Yılmaz, Ö., Baydaş, Z., Demir, E., Gençoğlu, H., Ağca, C.A, Hidroksil Radikali ve Fenolik Bileşiklerin Rat Karaciğer Dokusundaki Bazı Biyomoleküller Üzerine Etkileri, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 21-25 Haziran 2010, Denizli, TÜRKİYE.
Özşahin, A.D., Aslan, A., Yılmaz, Ö., Baydaş, Z., Gençoğlu, H., Erden Y., Tuzcu, M., Hidrojen Peroksit Ve Fe^{++} İyonu varlığında Beyin Dokusundaki Bazı Biyomoleküllere Kayısı Ve Üzüm Ekstraktlarının Etkisi, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 21-25 Haziran 2010, Denizli, TÜRKİYE.
Yılmaz, Ö., Gençoğlu, H., Özşahin, A.D., Güvenç, M., Aslan, A., Baydaş, Z., Tuzcu, M., Oksidatif Strese Maruz Kalan ratların Serumundaki Bazı biyokimyasal Parametreler Üzerine Kayısı ve Üzüm Ekstraktlarının Etkisi, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 21-25 Haziran 2010, Denizli, TÜRKİYE.
Şahin, N., Orhan, C., Aslan, A., Ağca, C.A, Gençoğlu, H., Tuzcu, M., Komorowski, J.R., Şahin, K., Krom Pikolinat Fosfatidilserin Ve Dokosaheksaenoik Asit Kombinasyonu Beyin Erk Ve Akt'ı Aktive Etmek Suretiyle Nrf-2 Aracılıklı Hemoksijenaz-1 Ekspresyonunu Artırabilir (Sözlü sunum). 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 21-25 Haziran 2010, Denizli, TÜRKİYE.
Fatih Akdemir, Nurhan Şahin, Cemal Orhan, Hasan Gençoğlu, Mehmet Tuzcu, Kazım Şahin. Rasyona İlave Edilen Krom Histidinat Sıcaklık Stresi Altındaki Japon Bildircinlarının Karaciğerinde NF- κ B ve Isı-Şok Proteinlerini Baskılayarak Yumurta Verimini Artırabilir. Kümes Hayvanları Kongresi, 7-9 Ekim, 2010 ,Kayseri, TÜRKİYE.
Mehmet Tuzcu, Fatih Akdemir, Cemal Orhan, Hasan Gençoğlu, Nurhan Şahin, İbrahim H. Özercan, Ömer Küçük, Kazım Şahin. "Effect Of Genistein On DMBA-induced Soft Tissue Sarcoma In Rats". First International Congress On Nutrition And Cancer. May 19-23, 2008, Kervansaray Lara, Antalya, TURKEY.

Doğukan, A., Tuzcu M., Ağca C.A., Gençoğlu, H., Şahin, N., Önderci, M., Özercan, İ., İlhan, N., Küçük, Ö., Şahin, K. A Tomato Lycopene Complex Protects The Kidney From Cisplatin-Induced Injury Via Affecting Oxidative Stress, Bax, Bcl-2 and Hsps Expression, Second International Congress on Nutrition and Cancer May18-22, 2009 Kervansaray Lara Antalya, TURKEY.

Şahin, K., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Aslan, A., Dogukan, A., Timurkan, M., Şahin, N., Kucuk, Ö., Epigallocatechin-3-gallate Activates Nrf2/Ho-1 Signaling Pathway In Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats, Seventh International Nutrition and Dietetics Congress, 14-18 April, 2010, Hilton Hotel, İstanbul, TURKEY.

Ozgen, M; Koca, SS; Dagli, AF; Karatas, A; Orhan, C ; Gencoglu, H; Sahin, N ;Sahin, K; Isik, A ."Preventive and Therapeutic Effects of Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) on Collagen-Induced Arthritis in Rats". 75th Annual Scientific Meeting of the American-College-of-Rheumatology/46th Annual Scientific Meeting of the Association-of-Rheumatology-Health-Professionals, Oct 2011, Chicago, IL, USA.