



**TİP 2 DİYABETLİ RATLARDA DOĞAL VE YAPAY
TATLANDIRICILARIN GLUKOZ İNTOLERANSI, KARACİĞER
ENZİMLERİ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

Merve PEHLİVAN ZENGİN

**DOKTORA TEZİ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2019

Merve PEHLİVAN ZENGİN tarafından hazırlanan “TİP 2 DİYABETLİ RATLARDA DOĞAL VE YAPAY TATLANDIRICILARIN GLUKOZ İNTOLERANSI, KARACİĞER ENZİMLERİ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

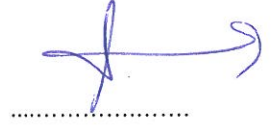
Danışman: Prof. Dr. Eda KÖKSAL

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Başkan: Prof. Dr. Mendane SAKA

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi

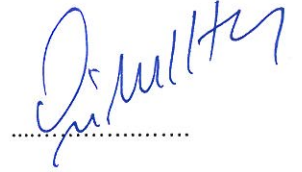
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Prof. Dr. Gül KIZILTAN

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Prof. Dr. Gamze AKBULUT

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Doç. Dr. Hilal YILDIRAN

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Doç. Dr. Yasemin AKDEVELİOĞLU

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 06/12/2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Merve PEHLİVAN ZENGİN

06/12/2019

TİP 2 DİYABETLİ RATLARDA DOĞAL VE YAPAY TATLANDIRICILARIN GLUKOZ İNTOLERANSI, KARACİĞER ENZİMLERİ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ

(Doktora Tezi)

Merve PEHLİVAN ZENGİN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2019

ÖZET

Tip 2 diyabetli ratlarda doğal ve yapay tatlandırıcıların glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yürütülen bu çalışmada kullanılan 60 adet yetişkin erkek wistar rat her grupta 30 rat olacak şekilde öncelikle randomize olarak 2 gruba ayrılmıştır. Bir gruba 65 mg/kg streptozosin (STZ) intraperitoneal yol ile uygulanmış ve 30 adet ratın kan glukoz düzeylerinin 200 mg/dL'nin üstünde olması beklenerek diyabetik olmaları sağlanmıştır. Diyabetik rat grubu kesinleştirildikten sonra ise yukarıda belirtilen 2 grup kendi içerisinde 3 farklı gruba daha ayrılmıştır ve 5 hafta boyunca izlenmişlerdir. Böylece çalışma boyunca verilen aspartam (250 mg/kg/gün) ve stevia rebaudiana ekstraktının (250 mg/kg/gün) etkilerini karşılaştırmak için 60 adet yetişkin erkek wistar rattan sağlıklı kontrol (n=10), kontrol aspartam (n=10), kontrol stevia (n=10), diyabetik kontrol (n=6), diyabetik aspartam (n=12) ve diyabetik stevia (n=12) olarak 6 grup oluşturulmuş ve 5 hafta süre ile izlenmişlerdir. Diyabetik kontrol grubunun yem tüketim ortalaması, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla; $34,6 \pm 0,4$ g/gün, $21,1 \pm 2,1$ g/gün) ($p<0,05$). Diyabetik grubun su tüketim ortalama değerleri de sağlıklı guba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Toplam enerji alımı ortalama değerleri ile 4. ve 5. hafta vücut ağırlığı ortalamasında gruplara göre farklılık saptanmıştır ($p<0,05$). Diyabetik stevia grubunun alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), kan glukoz düzeyi ve hemoglobin A1c (HbA1c) değerleri, diyabetik aspartam grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik aspartam grubunun tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa) değeri kontrol stevia grubuna göre, kontrol aspartam grubunun interlökin 1 (IL-1) değeri sağlıklı kontrol grubuna göre, diyabetik aspartam grubunun interlökin-6 (IL-6) değeri ise sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). Diyabetik ve sağlıklı kontrol ve stevia gruplarının toplam antioksidan kapasitesi (TAS), diyabetik ve kontrol aspartam grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). Diyabetik ve kontrol aspartam gruplarının toplam oksidan kapasitesi (TOS) ise kontrol stevia grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p\leq 0,001$). Sonuç olarak diyabetik ratların yem, su tüketimi ve enerji alımları çalışma boyunca sağlıklı ratlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Fakat aspartam ve stevia tüketiminin net olarak yem, su ve enerji alımı üzerinde anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. Ayrıca aspartam tüketen ratlarda stevia tüketen ratlara göre ALT, AST, kan glukozu, HbA1c, TNF-alfa, IL-1, IL-6 ve TOS değerleri anlamlı derecede yüksek bulunurken, TAS değerleri anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Bilim Kodu : 1007
Anahtar Kelimeler : Tatlandırıcılar, glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri, oksidatif stres
Sayfa Adedi : 107
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Eda KÖKSAL

THE EFFECT OF NATURAL AND ARTIFICIAL SWEETENER ON GLUCOSE
INTOLERANCE, LIVER ENZYMES AND OXIDATIVE STRESS IN TYPE 2
DIABETIC RATS

(Ph. D. Thesis)

Merve PEHLİVAN ZENGİN

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

December 2019

ABSTRACT

In this study conducted with the aim of evaluating the effect of natural and artificial sweeteners on glucose intolerance, liver enzymes and oxidative stress in type 2 diabetic rats, 60 adult male wistar rats were first randomly divided in two groups of 30 rats each. One group received 65 mg/kg streptozotocin (STZ) intraperitoneally and 30 rats were induced to be diabetic by waiting to have blood glucose levels above 200 mg/dl. After the diabetic rat group was ascertained, the two groups specified above were divided into 3 different groups in themselves and followed up for 5 weeks. Thus, 6 groups were created from 60 adult male wistar rat as healthy controls (n=10), control aspartame (n=10), control stevia (n=10), diabetic control (n=6), diabetic aspartame (n=12) and diabetic stevia (n=12) in order to compare the effects of aspartame (250 mg/kg/day) and stevia rebaudiana extract (250 mg/kg/day) given throughout the 5 week study period. The mean feed consumption of the diabetic control group was significantly higher than that of the healthy control group (34.6 ± 0.4 g/gün, 21.1 ± 2.1 g/gün, respectively) ($p<0.05$). The mean water consumption of the diabetic group was also significantly higher than that of the healthy control group ($p<0.001$). There was a difference in the mean values of total energy intake and mean values of body weight at weeks 4 and 5 according to the groups ($p<0.05$). The mean alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood glucose and hemoglobin A1c (HbA1c) values of the diabetic stevia group were significantly lower than that of the diabetic aspartame group ($p<0.001$). Moreover, the mean tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) value of the diabetic aspartame group was significantly higher than that of the control stevia group, the mean f interleukin 1 (IL-1) value of the control aspartame group was significantly higher than that of the healthy control group, and the mean interleukin-6 (IL-6) value of the diabetic aspartame group was significantly higher than that of the healthy control group ($p<0.001$). The mean total antioxidant capacity (TAS) values of the diabetic and healthy control and stevia groups were significantly higher than that of the diabetic and control aspartame groups ($p<0.001$). The mean total oxidant capacity (TOS) values of the diabetic and control aspartame groups were significantly higher than that of the control stevia group ($p\leq 0.001$). In conclusion, the feed, water consumption and energy intake of the diabetic rats were significantly higher than that of the healthy rats throughout the study. However, it was found that aspartame and stevia consumption did not clearly have a significant effect on feed, water and energy intake. In addition, the ALT, AST, blood glucose, HbA1c, TNF-alpha, IL-1, IL-6 and TOS values were significantly higher, while the TAS values were significantly lower in the rats consuming aspartame compared to the rats consuming stevia.

Science Code : 1007
Key Words : Sweeteners, glucose intolerance, liver enzymes, oxidative stress
Page Number : 107
Supervisor : Prof. Dr. Eda KÖKSAL

TEŞEKKÜR

Öncelikle eğitimim süresince ve tez dönemimim her anında değerli fikirlerini benimle paylaştığı, yardımlarını ve sonsuz desteğini hiçbir zaman esirgemediği, beni anladığı ve kendimi ifade etmemi sağladığı, her zaman yanımda olduğunu hissettirdiği için çok değerli danışmanım Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Eda KÖKSAL'a, Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle kendimi geliştirmeme yardımcı olan ve her zaman yeni bakış açıları kazanmamı sağlayan Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümündeki kıymetli hocalarıma,

Tez dönemimde tez konum hakkında değerli katkılarını ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman destek veren tez izleme komitesi üyelerim Prof. Dr. Mendane SAKA ve Doç.Dr. Hilal YILDIRAN'a,

Hayvan deneylerini yaptığım Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM)'nde desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve katkı sağlayan Vet. Hek. Dr. Şeyda DİKER, Vet. Hek. Dr. Elif ERGÜVEN KAYA, kardeşim Esra PEHLİVAN ve tüm laboratuvar çalışanlarına,

Hayatım boyunca ve eğitimim sürecimin her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman bana destek veren ve arkamda duran haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim en değerlilerim, sevgili babam Orhan PEHLİVAN, annem Sebile PEHLİVAN, ablam Reyhan PEHLİVAN ve kardeşim Esra PEHLİVAN'a,

Tez sürecimde yanımda olan ve destek veren eşime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje Kodu: 47/2019-05).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diyabet	3
2.2. Diyabet Patofizyolojisi.....	5
2.2.1. Tip 1 diyabet patogenezi.....	5
2.2.2. Tip 2 diyabet patogenezi.....	6
2.3. Diyabetin Komplikasyonları	6
2.4. Tatlandırıcılar	7
2.4.1. Yapay tatlandırıcılar	9
2.4.2. Doğal tatlandırıcılar	21
2.5. Oksidatif Stres ve Oksidatif Stres Kaynakları	30
2.6. Oksidatif Stres Oluşumu Mekanizması.....	30
2.7. Tip 2 Diyabette Oksidatif Stres.....	31
2.8. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	31
2.9. Toplam Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres	33
2.10. Toplam Oksidan Kapasite ve Oksidatif Stres	33

	Sayfa
2.11. Serbest Radikaller	34
2.11.1. Serbest radikallerin lipitler üzerindeki zararları	34
2.11.2. Serbest radikallerin proteinler üzerindeki zararları	34
2.11.3. Serbest radikallerin DNA üzerindeki zararları	35
2.11.4. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerindeki zararları	35
2.12. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	36
2.12.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet}$)	36
2.12.2. Hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$), fenton ve haber – weiss tepkimesi.....	36
2.12.3. Hidrojen peroksit radikali (H_2O_2).....	37
2.12.4. Hidroperoksil radikali ($HO_2^{\bullet}$)	37
2.12.5. Singlet oksijen (1O_2).....	37
2.13. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)	37
2.14. Sitokinler	38
3. MATERYAL VE METOD	43
3.1. Örneklem ve Etik Kurul	43
3.2. Deney Hayvanları.....	43
3.3. Deney Protokolü.....	43
3.4. Streptozosinle (STZ) Ratlarda Diyabet Oluşturulması	44
3.5. Deney Grubu	44
3.6. Ratlara Aspartam ve Stevia'nın Günlük Verilme Dozunun İnsanlara Verilen Aspartam Dozuna Göre Ayarlanması.....	48
3.7. Ağırlık ve Kan Glukoz Düzeyi Ölçümleri	48
3.8. İnsülin Çözeltisinin Hazırlanması	48
3.9. Yem ve Su Tüketimi Takibi	49
3.10. Ratların Diseksiyonu	49
3.11. Ratların Kan Örneklerinin Alınması	49

	Sayfa
3.12. Doku Örneklerinin Alınması.....	50
3.13. Gereçler	50
3.13.1. Deneyde kullanılan cihazlar	50
3.13.2. Deney kimyasalları	51
3.14. Deney Prosedürü	51
3.15. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi	52
3.16. Antioksidan ve Oksidan Parametrelerin Ölçüm Yöntemleri.....	53
3.16.1. Toplam antioksidan kapasite (TAS) ölçümü	53
3.16.2. Toplam oksidan kapasite (TOS) ölçümü	53
3.16.3. Oksidatif stres indeksi (OSI).....	53
3.17. İstatistiksel Analiz	53
3.18. Çalışma Sınırlılıkları	53
4. BULGULAR	55
4.1. Ratların Yem (g), Su (mL) Tüketimlerinin ve Enerji (kkal) Alımlarının Değerlendirilmesi	55
4.2. Ratların Haftalara Göre Ortalama Vücut Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi..	60
4.3. Ratların Haftalara Göre Kan Glukoz Düzeyi (mg/dL) Değerlendirilmesi	61
4.4. Ratların Çalışma Sonu Kan Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi	64
4.5. Ratların Çalışma Sonu Toplam Antioksidan (TAS) ve Oksidan Kapasiteleri (TOS) ile Birlikte Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Değerinin Değerlendirilmesi .	68
4.6. Ratların Çalışma Sonu Organ Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi	69
5. TARTIŞMA	71
5.1. Ratların Haftalara Göre Yem (g), Su Tüketimi (mL) ve Enerji (kkal) Alımlarının Değerlendirilmesi	71
5.2. Ratların Haftalara Göre Ortalama Vücut Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi..	73
5.3. Ratların Haftalara Göre Kan Glukoz Düzeyi (mg/dL) Değerlendirilmesi	75
5.4. Ratların Çalışma Sonu Kan Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi	76

	Sayfa
5.5. Ratların Çalışma Sonu Toplam Antioksidan (TAS) ve Oksidan Kapasiteleri (TOS) ile Birlikte Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Değerinin Değerlendirilmesi..	81
5.6. Ratların Çalışma Sonu Organ Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi	83
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	91
EKLER.....	101
EK-1. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu katılım sertifikası.....	102
EK-2. Etik Kurul Onayı	103
EK-3. Rat yemi temel besin maddeleri	105
ÖZGEÇMİŞ	106

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Prediyabet tanı kriterleri	4
Çizelge 2.2. Diyabet tanı kriterleri.....	4
Çizelge 2.3. Diyabet tanı algoritması.....	5
Çizelge 2.4. Yapay tatlandırıcıların tatlılık dereceleri, özellikleri ve kullanım alanları.	10
Çizelge 2.5. Aspartamın genel özellikleri.....	13
Çizelge 2.6. Aspartamın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar	16
Çizelge 2.7. Doğal tatlandırıcıların tatlılık dereceleri, özellikleri ve kullanım alanları .	21
Çizelge 2.8. Stevia'nın genel özellikleri	25
Çizelge 2.9. Stevia'nın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar	27
Çizelge 2.10. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların sınıflandırılması ve genel özellikleri	32
Çizelge 2.11. Serbest radikallerin sınıflandırılması ve oluşum mekanizması	35
Çizelge 2.12. Sitokin türleri ve genel özellikleri	40
Çizelge 4.1. Ratların haftalara göre yem (g/gün) ve su (mL/gün) tüketim ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (SS) değerleri	57
Çizelge 4.2. Ratların haftalara göre enerji (kcal/gün) alımları ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (SS) değerleri	59
Çizelge 4.3. Ratların haftalara göre vücut ağırlığı (g) ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (SS) değerleri.....	61
Çizelge 4.4. Ratların haftalara göre kan glukoz düzeyi (mg/dL) ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (SS) değerleri	64
Çizelge 4.5. Ratların çalışma sonu kan biyokimyasal parametreleri	67
Çizelge 4.6. Ratların çalışma sonu toplam antioksidan (TAS) ve oksidan kapasiteleri (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI).....	69
Çizelge 4.7. Ratların çalışma sonu organ ağırlıkları (g)	70

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Enerji verme şekillerine göre tatlandırıcıların sınıflandırılması.....	8
Şekil 2.2. Aspartamın kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2.3. (A) Steviosit ve (B) rebaudiozit A'nın kimyasal yapıları	23
Şekil 3.1. Deney protokolü	47
Şekil 4.1. Ratların haftalara göre yem tüketimi (g/gün)	58
Şekil 4.2. Ratların haftalara göre su tüketimi (mL/gün)	58
Şekil 4.3. Ratların haftalara göre enerji alımı (kkal/gün)	60
Şekil 4.4. Ratların haftalara göre vücut ağırlığı (g) ortalama değerleri	61
Şekil 4.5. Ratların haftalara göre kan glukoz düzeyi (mg/dL) ortalama değerleri	64

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Ratlara verilen aspartam (a) ve stevia (b) dozunun ayarlanma şekli	46
Resim 3.2. Ratların kalplerinin atrium kısmından kan alınması (a) ve tüplere konulması (b-c).....	50
Resim 3.3. Ratlardan doku örneklerinin alınma şekli (a) ve alınan doku örnekleri (b)..	50



SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

%	Yüzde
$^1\text{O}_2^-$	Singlet Oksijen
g	Gram
H_2O_2	Hidrojen Peroksit Radikali
HO_2^-	Hidroperoksil Radikali
mg	Miligram
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Süperoksit Radikali
$\text{OH}^\bullet$	Hidroksil Radikali

Kısaltmalar

Açıklamalar

ACP	Acid Phosphatase (Asit Fosfataz)
ADI	Acceptable Daily Intake (Günlük Kabul Edilebilir Alım Miktarı)
AGE	Advanced Glycation End-Product (İlerlemiş Glikasyon Son Ürünü)
ALP	Alkaline Phosphatase (Alkalen Fosfataz)
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
cAMP	Cyclic Adenosine Monophosphate (Siklik Adenozin Monofosfat)
CAT	Catalaz (Katalaz)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Besin Güvenliği Otoritesi)
eNOS	Endotel Nitrik Oksit Sentaz
FAO	Food Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Besin Tarım Örgütü)

Kısaltmalar**Açıklamalar**

FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Besin ve İlaç İdaresi)
GLP-1	Glukagon Like Peptid-1 (Glukagon Benzeri Peptid-1)
GPCR	G Protein Coupled Receptors (G-proteini Kenetli Reseptör)
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S Transferaz
GÜDAM	Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi
HOCL	Hypochlorous Acid (Hipoklorus Asit)
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
JECFA	FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Besin Katkı Maddeleri Uzmanlar Komitesi)
K⁺ ATP	K ⁺ Adenozin Tri Phosphate (K ⁺ Adenozin Tri Fosfat)
LDH	Laktat Dehidrojenaz
LPS	Lipopolisakkarit
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat)
NF-κB	Nukleer Faktör kappa B
NO	Nikrik oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
Nrf2	Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (Nükleer Faktör Eritroid 2 İle İlişkili Faktör 2)
MAPK	Mitojenle Aktifleşen Protein Kinaz
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
OSI	Oksidatif Stres İndeksi
PKC	Protein Kinaz C
PKU	Phenylketonuria (Fenilketonüri)
RA	Rebaudiozit A
RCS	Reactive Chlorine Species (Reaktif Klor Türleri)
RNS	Reactive Nitrogen Species (Reaktif Nitrojen Türleri)

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ROM	Reaktif Oksijen Metabolitleri
ROS	Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
SG	Steviol Glikozitler
SGLT	Sodium Glucose Transporter (Sodyum Glukoz Transporter)
SOA	Serum Oksidasyon Aktivitesi
SOD	Süperoksit Dismutaz
ST	Steviosit
STZ	Streptozosin
TAS	Total Antioksidan Status (Toplam Antioksidan Kapasitesi)
TNF-alfa	Tümör Nekrosiz Faktör-alfa
TOS	Total Oksidan Status (Toplam Oksidan Kapasitesi)
TP	Toplam Peroksit
TRPM5	Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 5 (Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı Alt Ailesi Üyesi 5)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

1. GİRİŞ

Sömürgecilik öncesi dönemlerde şeker aromaları doğal, daha az rafine ve genellikle de yerli kaynaklardan elde edilmiştir. Bal dünyanın en eski tatlandırıcısı olup milattan önce 2100 yıllarında Eski Mısırlılarca kullanılmıştır. On yedinci yüzyılda akçaağaç (*Acer saccharum* Marsh.) özünün kaynatılmasıyla elde edilen akçaağaç şurubu, Amerika da en sık kullanılan tatlandırıcıyken, Akdeniz Bölgesi'nde ise aynı amaç için keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) kullanılmıştır. On sekizinci yüzyılda teknolojik gelişmelerle, şeker kamışı (*Saccharum officinarum* L.) ve şeker pancarından (*Beta vulgaris* L.) elde edilen sükröz daha yaygın ve ucuz hale gelerek, kısa süre içerisinde temel tatlandırıcı haline gelmiştir. On dokuzuncu yüzyıldan itibaren ise şeker üretimi tüm dünyada artmış ve 1950'lerde rafine şekerler dünya çapında geniş bir alanda kullanılır hale gelmiştir. Böylelikle farklı şeker türleri insan beslenmesinin bir parçası olarak görülmüştür [1].

Son yıllarda ise tüm dünyadaki şeker tüketimi, özellikle de yiyecek ve içeceklerde bulunan eklenmiş şekerle birlikte artmıştır. Sonuç olarak bu eklenmiş şeker, toplam enerji alımı ile yiyecek ve içeceklerin glisemik indeksi üzerinde ciddi bir etki sahibi olmuştur. Bu bilgiler doğrultusunda yüksek enerjili ve yüksek glisemik indeksli besinlerin aşırı tüketimi glukoz seviyesinde artışa sebep olarak metabolik ve hormonal değişikliklere ve artmış vücut yağı birikimine yol açmıştır [2]. Bu nedenle günümüzde tatlandırıcılar şekerlerden gelen enerjiyi azaltma ve/veya ağırlığı korumada bir yöntem olarak kabul edilip tüketilmektedir [3]. Düşük enerjili ya da enerji vermeyen tatlandırıcılar enerjiden veya glisemik etkilerden arındırılmış bir tat sundukları için şekerlerin sağlıklı alternatifleri olarak düşünülmektedir [4] ve 19. yüzyıldan bu yana kullanılmaktadır [5]. Günümüzde ise bu tatlandırıcıların besin ürünlerinin içerisindeki yaygınlığı ve bunun sonucu olarak da tüketiciler tarafından tüketimi ciddi oranda artmıştır [6].

Yakın zamana kadar, yapay tatlandırıcıların yüksek enerji veya glisemik etki olmaksızın hoş bir tat sunarak sağlıklı beslenmeyi destekleyebileceği savunulmaktaydı. Ancak, hayvan modellerinde yapılan beslenme çalışmalarından [7, 8] elde edilen son veriler, bu görüşün aksine yapay tatlandırıcıların kullanımının enerji dengesini düzensizleştirerek bir takım sağlık problemlerinin oluşmasına neden olduğunu öne sürmektedir [5]. Bu bilgiler doğrultusunda yapay tatlandırılmış içeceklerin düzenli tüketiminin abdominal obezite,

insülin direnci ve/veya bozulmuş glukoz toleransı dahil olmak üzere birçok metabolik sendrom risk faktörüyle ilişkilendirilmesi söz konusu olmaktadır [9].

Yapay tatlandırıcılar içerisinde çeşitli besin ürünlerinde en yaygın olarak kullanılan tatlandırıcı ise aspartamdır [10]. Sıklıkla kullanılan yapay bir tatlandırıcı olan aspartamın da glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine olumsuz etkilerini gösteren çalışmalar ile birlikte net sonuç alınamayan çalışmalarda bulunmaktadır [7-15].

Doğal tatlandırıcılardan biri olan ve Paraguay'ın tatlı yaprağı olarak bilinen Stevia Rebaudiana (Bertoni)'nın yaprakları yaklaşık %4-15 oranında yoğun tatlı bileşikler (şekerden 150-300 kat daha tatlı) içermektedir [16]. Son zamanlarda sıklıkla kullanılan ve doğal bir tatlandırıcı olan stevia ile yapılmış olan deneysel çalışmalarda ise, stevia'nın insülin duyarlılığını artırdığı, kan glukoz düzeyini düşürdüğü, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres parametrelerini azaltığına dair çalışmalar bulunurken, bu parametrelere etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [11, 16-22].

Bu nedenle günümüzde kullanımı bu kadar sık olan ve metabolik olarak etkileri tam olarak netleştirilemeyen tatlandırıcılar hakkında daha fazla deneysel çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tezin amacı ise doğal ve yapay tatlandırıcıların glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabet

Diyabet, insülin salınımı, insülin etkisi ya da hem insülin salınımı hem de etkisinde bozukluk sonucu oluşan hiperglisemi ile ilişkili kronik metabolik bir hastalıktır [23].

Diyabetin etkisi, yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarında yaşanan geçiş, nüfusun yaşlanması ve kentleşme gibi faktörler yüzünden genetik olarak yatkın bir çevrenin oluşması nedeniyle çok büyüktür. Diyabetli kişi sayısının son otuz yılda iki katına çıkması bu hastalığı küresel bir sorun haline getirmektedir. Diyabet hastalarının sayısının, 2013 yılında 382 milyondan 2035 yılına kadar %55'lik bir net artış göstererek 592 milyona çıkması beklenmektedir [24]. 2040 yılında ise dünya genelinde 640 milyondan fazla diyabet hastası olacağı öngörülmektedir [25].

Diyabet farklı şekillerde sınıflandırılabilir ancak uygulanan sınıflandırma sistemlerinden biri aşağıdaki gibidir [26]:

1. Tip 1 diyabet (insüline bağımlı), immün aracılı beta hücrelerinin yıkımına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır ve insülin eksikliğine yol açmaktadır. Bağımsızlık aracılı ve idiyopatik diyabet tip 1 diyabetin alt başlıklarını oluşturmaktadır.
2. Tip 2 diyabet (insüline bağımlı olmayan), insülin salgılama bozukluğu ve insülin direnci nedeniyle oluşmaktadır.
3. Diğer özel diyabet tipleri, beta hücrenin genetik hataları, insülin aktivasyonundaki genetik hasarlar, ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, ilaç veya kimyasal kaynaklı diyabet hastalıkları, enfeksiyonlar, bağımsızlık aracılı diyabetin yaygın olmayan formları ve diyabetle ilişkili diğer genetik sendromlardan meydana gelmektedir.
4. Gestasyonel diyabet, başlangıçta veya ilk hamileliğin tanınmasıyla birlikte görülen glukoz intoleransının herhangi bir formu olarak bilinmektedir [26, 27].

Bununla birlikte diyabet çoğunlukla tip 1 diyabet ve tip 2 diyabet olmak üzere iki ana tipte sınıflandırılmaktadır [26, 27]. Bu hastalığın baskın tipi ise, tüm diyabet vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturan tip 2 diyabetir [24]. Tip 2 diyabet dünya çapında 400 milyondan fazla

insanı etkileyen bir hastalıktır [25]. Komplikasyonları yüksek morbidite ve mortalite oranları ile dünya çapında önemli bir halk sağlığı problemidir [28].

Aşağıda Çizelge 2.1’de prediyabet tanı kriterleri, Çizelge 2.2’de ise diyabet tanı kriterleri ve Çizelge 2.3’te diyabet tanı algoritması verilmiştir.

Çizelge 2.1. Prediyabet tanı kriterleri [29]

Plazma Glukozu		
Riskli Grup	Açlık (mg/dL)	Tokluk
		Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)’nde 2. saat plazma glukozu
Bozulmuş açlık glukozu	100-125	
Bozulmuş glukoz toleransı		140-199
Hemoglobin A1c (%)		%5.7-6.4

Çizelge 2.2. Diyabet tanı kriterleri [29]

Açlık kan glukoz düzeyi	≥ 126 mg/dL
Raslantısal plazma glukozu+ diyabet semptomları	≥ 200 mg/dL
Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)’nde 2. saat plazma glukozu	≥ 200 mg/dL
Hemoglobin A1c (%)	$\geq$ %6.5

Yukarıdaki kriterlerden birinin olması diyabet tanısı için yeterlidir.

Çizelge 2.3. Diyabet tanı algoritması [29]

Glukoz testi	Aralık	Teshiş
Açlık kan glukoz düzeyi(mg/dL) (8 saatlik açlık sınırında)	≥ 126	Diyabet
	100-125	Bozulmuş açlık glukozu
	<100	Normal
75 g glukoz yüklemesinin 2 saatlik oral glukoz tolerans testi(mg/dL)	140-199	Bozulmuş glukoz intoleransı
	<140	Normal
Hemoglobin A1c (%)	≥ 6.5	Diyabet
	5.7-6.4	Prediyabet/Yüksek risk
	≤ 5.7	Normal

2.2. Diyabet Patofizyolojisi

Açlık koşullarında, kandaki glukoz insüline bağımlı olmayan bir şekilde karaciğer tarafından salgılanmaktadır ve beyin tarafından kullanılmaktadır. Kişi yemek yediğinde ise; kaslarda ve yağ dokularında transportasyon, biyotransformasyon ve depolanma artışıyla sonuçlanan insülin sekresyonunu uyaran kan glukoz düzeylerinde yükselme olmaktadır. Glukozun depolanmasının yanı sıra, insülin glukagon sekresyonunu da inhibe etmektedir ve serum yağ asitlerinin konsantrasyonunu azaltarak karaciğer glukoz üretiminde düşüşe neden olmaktadır. Yetersiz insülin veya vücutta insüline direnç, hücre içi hipoglisemi ve hücre dışı hiperglisemi ile sonuçlanan doku glukoz alımının azalmasına neden olmaktadır. Hücre içi hipoglisemi, yağ parçalanmasına yol açan, (diyabetik ketoasidoza neden olan) protein sentezini ve gama globülinleri azaltan (kaşeksi, polifaji ve bozulmuş yara iyileşmesine neden olan) glukoneogeneze neden olmaktadır. Hücre dışı hiperglisemi ise hiperglisemik koma ve ozmotik diürece neden olmaktadır [27].

2.2.1. Tip 1 diyabet patogenezi

İnsüline bağımlı tip 1 diyabetin patogenezinde, pankreas beta hücrelerinin otoimmün yıkımı nedeniyle, tip 1 diyabet ile ilişkili metabolik bozukluklara yol açan insülin sekresyonu eksikliği bulunmaktadır. Beta hücre yıkımının son aşaması ise, tip 1 diyabete yol açan klinik hastalığın başlangıcını göstermektedir.

Ayrıca infiltratif monositler, lenfositler ve bazı hücrelerin somatostatin, glikojen ve pankreatik polipeptit salgıladığı psödoatrofik adacık karışımları immünojenik süreç içerisinde tip 1 diyabeti indüklemektedir [27].

2.2.2. Tip 2 diyabet patogenezi

İnsüline bağımlı olmayan tip 2 diyabet, düzensiz hipergliseminin bir sonucu olarak insülin direnci ve pankreas beta hücre disfonksiyonu ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Besin alımı fazlalığına bağlı gelişen insülin direnci ve beta hücre disfonksiyonu sonucunda vücudun genel yakıt dengesi değişmektedir. İnsülin direncine yanıt olarak beta hücre hiperplazisi ve hiperinsülinemi hastalığın prelinik döneminde ortaya çıkmaktadır [24].

Tip 2 diyabet patogenezi ve ilerlemesi dört mekanizmaya bağlanmaktadır. Bunlar;

- 1- Artan ilerlemiş glikasyon son ürünü (AGE) oluşumu,
- 2- Hızlanan poliol yolak akışı,
- 3- Protein kinaz C (PKC) izoformlarının aktivasyonu,
- 4- Hızlanmış heksozamin yolak akışı [24]

2.3. Diyabetin Komplikasyonları

Diyabet, hastaların her zaman komplikasyon riski altında oldukları bir hastalıktır. Komplikasyonlar makrovasküler (koroner kalp hastalığı, periferik vasküler hastalık ve felç), mikrovasküler (nöropati, retinopati ve diyabetik nefropati) ve hem mikro hem de makrovasküler (diyabetik ayak) olabilmektedir. Diyabetin mortalitesi ve morbiditesi, yaşlılarda mikrovasküler komplikasyon risklerine kıyasla daha çok makrovasküler dejenerasyon ile ilişkilendirilmektedir. Genel olarak, diyabet komplikasyonları iki grupta incelenmektedir [27].

- a. Metabolik akut komplikasyonlar: Bunlar, kısa süreli olup hipoglisemi, ketoasidoz ve hiperosmolar ketotik olmayan komayı içermektedir.
- b. Sistemik geç komplikasyonlar: Bunlar, diyabetik nefropati, mikroanjyopati, diyabetik nöropati ve retinopati, ateroskleroz ve enfeksiyonları içeren uzun süreli kronik komplikasyonlardır [27].

2.4. Tatlandırıcılar

Besinlerin tadını iyileştirmek ve şeker tadı sağlamak amacıyla kullanılan bir grup besin katkı maddesine tatlandırıcı adı verilmektedir [30]. Tatlandırıcılar, üretim şekillerine ve enerji verme özelliklerine göre farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Üretim şekillerine göre doğal ve yapay (sentetik) olarak sınıflandırılan tatlandırıcılar, enerji verme özelliklerine göre ise besleyici (yüksek enerjili) ve besleyici olmayan (düşük enerjili) tatlandırıcılar şeklinde iki farklı biçimde sınıflandırılmaktadır [31-33].

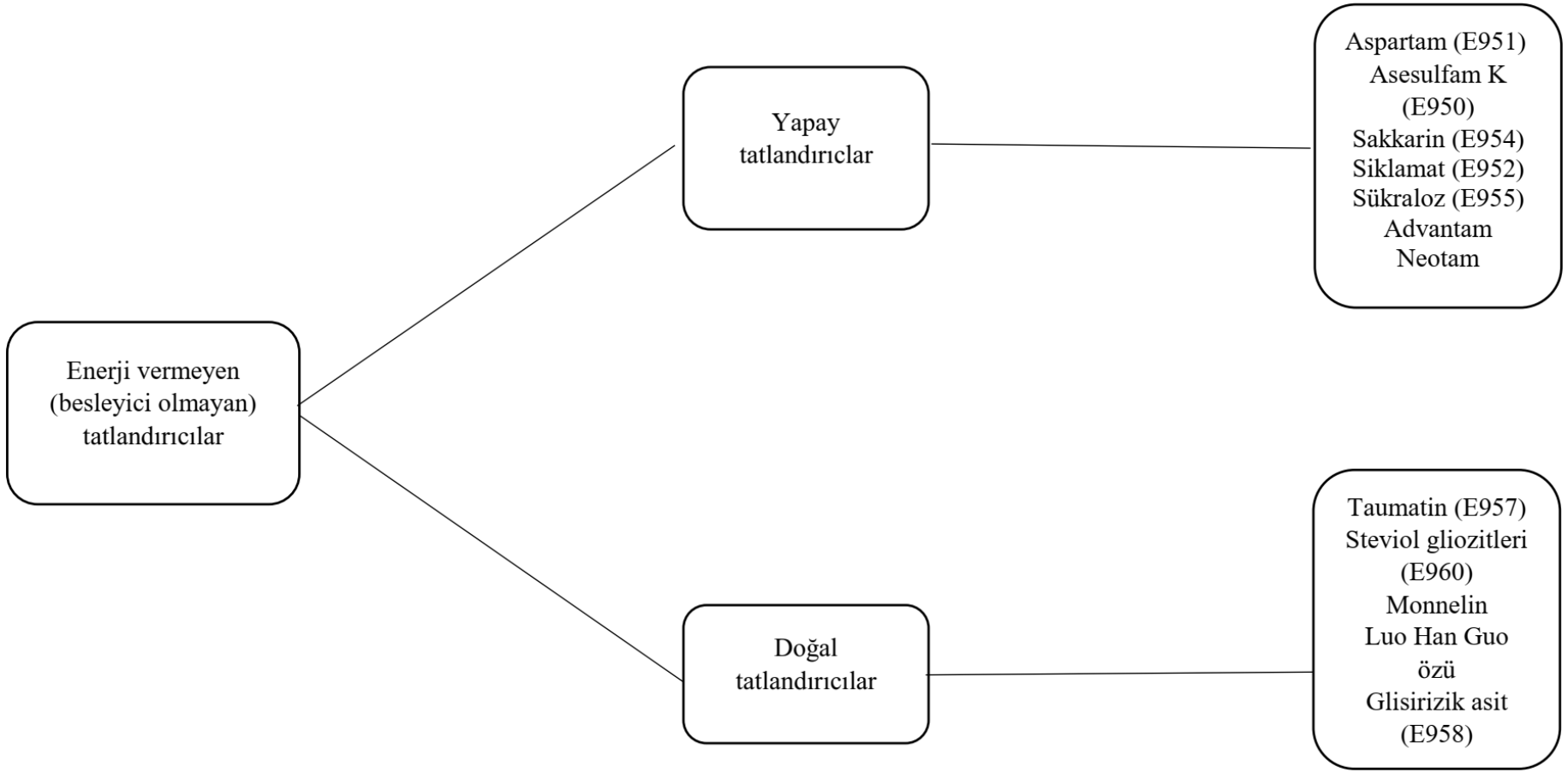
Günümüzde, altı yapay düşük enerjili ya da enerjisiz tatlandırıcı (sakkarin, aspartam, asesülfam potasyum, sukraloz, neotamin ve advantam) besinlerde tatlandırıcı olarak kullanılmak üzere Amerikan Besin ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır. İki doğal düşük enerjili ya da enerjisiz tatlandırıcı (steviol glukozitler ve Luo han guo özü) ise genel olarak güvenli olarak kabul edilip, FDA tarafından besinlerde kullanılmalarına izin verilmiştir [34].

Doğal tatlandırıcılar bitkilerin kök, kabuk, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilmektedir. Ayrıca şeker olarak bilinen mono ve disakkaritlerde doğal tatlandırıcı sınıfına girmektedir. Yapay tatlandırıcılar ise, sentez yolu ile üretilmektedir [33] ve çok düşük miktarlarda kullanılarak neredeyse hiç enerji vermemektedir [3].

Enerji veren tatlandırıcılar ‘besleyici tatlandırıcılar’ olarak tanımlanırken, enerji vermeyenler ise ‘besleyici olmayan tatlandırıcılar’ olarak adlandırılmaktadır [1]. Besleyici olmayan tatlandırıcılar, yüksek yoğunluklu tatlandırıcı, yapay tatlandırıcı veya düşük enerjili tatlandırıcı olarak da bilinmektedir [3].

Geçtiğimiz yüzyıl boyunca bilim insanları yukarıda belirtilen enerji vermeyen tatlandırıcı gelişimi üzerinde durmuş, son yirmi yıldır ise tip 2 diyabet ve obezite görülme sıklığındaki artış nedeniyle yaygınlık ve kullanımları hakkındaki endişeler çoğalmıştır [1]. Hakkında bu kadar endişe olmasına rağmen günümüzde enerji vermeyen tatlandırıcılar unlu mamuller, kahvaltılık gevrekler, tatlılar, içecekler, dondurma, sakız, çikolata, reçeller/marmelatlar, yoğurt ve salata sosları gibi hemen hemen her besin ürününde bulunabilmektedir [3, 35].

Tatlandırıcılar ile ilgili ayrıntılı sınıflandırma aşağıda Şekil 2.1’de verilmektedir.



Şekil 2.1. Enerji içeriklerine göre tatlandırıcıların sınıflandırılması [32, 36]

2.4.1. Yapay tatlandırıcılar

Yapay tatlandırıcılar, tarım krizi nedeniyle şeker üretiminin düştüğü 1. ve 2. Dünya Savaşı sırasında popüler olmuştur [37]. Bu yapay tatlandırıcıların rolü, şeker ikamelerinden sağlık ikamelerine dönüşmüştür. Bu ürünlerin aşırı tatlılığı nedeniyle, (şekerden gelen) ilave enerji olmadan tatlandırmayı sağlamak için asgari miktarda kullanılması yeterlidir. Bu nedenle, bu maddeler kitlelere, özellikle de diyabetik popülasyona şekere sağlıklı bir alternatif olarak pazarlanmaktadır [37]. Aşağıda Çizelge 2.4’de yapay tatlandırıcıların tatlılık dereceleri, özellikleri ve kullanım alanları verilmiştir.



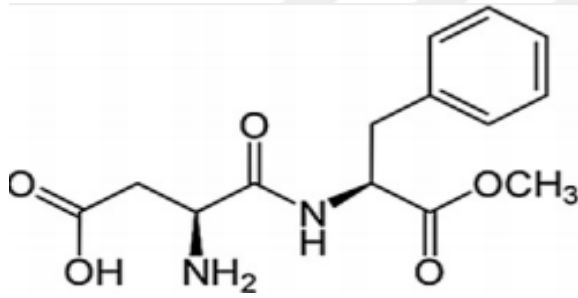
Çizelge 2.4. Yapay tatlandırıcıların tatlılık dereceleri, özellikleri ve kullanım alanları [36, 38-46]

Tatlandırıcı	Sükroz ile Karşılaştırıldığında Tatlılık Yoğunluğu	Özellikleri	Kullanım alanları	Kabul Edilebilir Günlük Alım Düzeyi (ADI) (mg/kg) (JECFA)
Asesülfam K	100-200 x	-Su içerisinde iyi çözünür. -Katı formlarda oldukça stabildir ve karışımlarda tatlı bir sinerjik etki yarattığından daha iyi bir tat elde edilmesini sağlar. -Yüksek konsantrasyonda acı ve metalik bir tat verir. -Sindirilebilir parçalanmaz ve vücuttan %95'i idrarla sindirilmeden atılır.	-Gazlı ve gazsız içecekler, şekerleme ve pasta ürünleri, unlu mamuller, meyve aromalı süt ve süt ürünleri, şarküteri ürünlerinde kullanılır. -Fırında pişirilme sıcaklıklarında stabildir.	15 mg/kg/gün
Advantam	20,000-40,000 x	-Katı haldeyken stabildir -Kötü tat bırakmayan yavaş gelişen ve uzun süren net bir tatlılık hissi verir.	Yapay aroma olarak besinlerde kullanılır.	5 mg/kg/gün
Aspartam	100-200 x	-Kristal formundayken stabildir. -Net bir tatlılık hissi verir. -Nötr pH değerinde ve yüksek sıcaklıklarda kararsızdır. -Katı formda stabildir.	Gazlı ve gazsız içecekler, yoğurt, şekerleme, pasta ürünleri ile birlikte pastörize ve sterilize edilmiş aromalı sütlerde kullanılır.	40 mg/kg/gün
Siklamat	~30 x	-Hafif acı ve tuzlu tat profili vardır fakat ciddi bir istenmeyen tada yol açmaz. -Hemen tatlılık vermesine karşın kalıcılığı yoktur, turuncu-gil aromalarını artırır. - 1950 ve 1960'larda ilk yüksek kaliteli azaltılmış ve enerjisiz yiyecek ve içeceklerin üretimine imkân sağlamıştır.	Tatlandırıcı karışımları, yiyecek (örneğin unlu mamuller, şekerleme ve pasta ürünleri) ve içeceklerde kullanılmaktadır.	11 mg/kg/gün
Neotam	7,000-13,000 x	-Katı haldeyken stabildir. -Kötü tat bırakmayan net bir tatlılık hissi ve kalıcı tatlılık vermektedir.	Tatlandırıcı karışımları, yiyecek ve içecekler, et ve kümes hayvanları dışında genel kullanımı kabul edilmiştir. Besin işlemede çok az kullanılır.	2 mg/kg/gün
Sakkarin	300 x	-Solüsyonda ve katı haldeyken stabildir. - Hemen tatlılık vermesine karşın kayda değer kalıcılığı yoktur.	Tatlandırıcı karışımları, yiyecek (örneğin; pişirme) ve içeceklerde kullanılır.	5 mg/kg/gün
Sukraloz	~600 x	-Suda serbestçe çözünür. -Solüsyonda stabil, yüksek sıcaklıklarda kararsızdır. -Ağızda acı bir tat bırakmaz, başlangıçta tatlılık vermede az bir gecikme sağlar ve tatlılık orta düzeyde kalıcıdır.	Tatlandırıcı karışımlarında, yiyecek (örneğin yemek pişirme ve fırında pişirme), içeceklerde ve yapay aroma olarak kullanılır. Genel kullanıma uygundur, ocakta ve fırında pişirmede stabildir.	15 mg/kg/gün

Yukarıda belirtilen yapay tatlandırıcılar içerisinde ise çeşitli besin ürünlerinde en yaygın olarak kullanılan tatlandırıcı aspartamdır [10]. Bu nedenle sıklıkla kullanılan yapay bir tatlandırıcı olan aspartamının özellikleri hakkında aşağıda daha ayrıntılı bilgi verilmiştir.

Aspartam, kimyasal yapısı ve özellikleri

Aspartam, dünya genelinde yiyecek ve içeceklerde kullanılan bir dipeptit türevidir (L-aspartil L-fenilalanin metil ester) [47]. Aspartam, iki amino asit olan aspartik asit ve fenilalaninden oluşan bir dipeptidin sentetik bir metil esteridir [3]. Beyazdır, kokusuzdur ve güçlü tatlı bir tada sahiptir [40]. Fenilalanin ve aspartik asidin birleşiminden oluşan aspartam sükroza göre yaklaşık olarak 180-200 kat daha tatlıdır ve bir gamı dört kkal enerji vermektedir [48, 49]. Bu nedenle çok küçük miktarlar kullanılır ve alınan enerjiye etkisi neredeyse ihmal edilebilir seviyelerdedir [3]. Aspartamın kimyasal yapısı aşağıda Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.2. Aspartamın kimyasal yapısı[50]

Aspartamın metabolizması

Aspartam oral alımından sonra, bağırsak lümeninden emilmektedir ve katekolamin ailesinin iki nörotransmitteri için öncü olan fenilalanin (%50); bir uyarıcı amino asit olan aspartik asit (%40); ve sitotoksik formaldehit ve formik aside oksitlenen metanol (%10) açığa çıkararak hidrolize edilmektedir [47]. Üç bileşen de dolaşıma girmektedir ve bunların hiçbiri alt gastrointestinal mikrobiyomunda mevcut bulunmamaktadır [3].

Aspartamın kullanımı için yasal izinler ve besin sanayindeki yeri

Aspartamın FDA tarafından 1974 yılında bazı kuru besinlerde tatlandırıcı ve lezzet arttırıcı olarak kullanılmasına izin verilmiştir. Fakat aspartamı oluşturan temel aminoasitlerin

hayvanlar üzerindeki toksik etkilerinden kaynaklanan güvenlik kaygılarına dayanarak bu uygulamaya resmi itirazlar olmuştur ve bunun sonucunda güvenlik sorularını araştırmak için bir Kamu Soruşturma Kurulu kurulmuştur. Bu süreçte aspartam üzerinde seçilen toksikolojik çalışmaların özgünlüğünün kapsamlı bir denetimi yapılırken FDA tarafından aspartam satışı durdurulmuştur [49].

Amerikan Besin ve İlaç İdaresi (FDA) 1981 yılında belirli koşullar altında tatlandırıcı olarak, sakız, kahvaltılık gevrekleri ve belirli besinler için kuru bazlarda (içecekler, hazır kahve ve çay, jellatınler, pudingler ve süt ürünleri) aspartam kullanımına tekrar izin vermiştir. Ayrıca aspartam 1983 yılında karbonatlı içecekler ve karbonatlı içecek şurubu bazlarında, 1996 yılında ise genel amaçlı tatlandırıcı olarak FDA tarafından onaylanmıştır [34].

Avrupa Besin Güvenliği Otoritesi (EFSA) ise 2002 yılından bu yana, aspartamın güvenliğini düzenli olarak gözden geçirmiştir ve bilimsel panellerde bu tatlandırıcı ile ilgili çalışmalar hakkında çeşitli görüşler yayınlamıştır [51].

Günümüzde aspartam, kuru içecek karışımları, çiğnenebilir multi vitaminler, kahvaltılık gevrekleri, şekerli sakız, nane şekeri, pudingler ve dolgular, karbonatlı içecekler, soğutulmuş ve soğutulmamış hazır içecekler, yoğurt türü ürünleri içeren sayısız besin ürününde ve ilaçlarda tatlandırıcı olarak milyonlarca insan tarafından tüketilmektedir [7, 52].

Aspartamın günlük alım düzeyi

Avrupa Besin Güvenliği Otoritesi (EFSA) önerilerine göre insanlarda aspartamın kabul edilebilir günlük alım miktarı (ADI) 40 mg/kg/gün olarak bildirilmektedir. Fakat, fenilketonüri (PKU) hastalarında düşük fenilalanin içeren diyet uygulaması zorunlu olduğu için EFSA'nın vermiş olduğu bu ADI değeri fenilketonüri hastalarında geçerli değildir [51].

Besin ve Tarım Örgütü (FAO) / WHO Besin Katkı Maddeleri Uzmanlar Komitesi (JECFA) tarafından da aspartam için ADI değeri aynı EFSA gibi 40 mg/kg/gün olarak belirlenmiştir [53].

Aspartam toksisitesi

Aspartam uzun süreli ısıtıldığında stabilitesini korumamaktadır. Pişirme ve fırınlama işlemlerinde kullanılması uygun değildir [52]. Ayrıca aspartamın %10'u metanolden oluşmaktadır. Metanol sistemik toksisiteye neden olan toksik bir maddedir [3]. Metanol vücutta formaldehit ve formik aside parçalanmaktadır [15] ve daha sonra formata doğrudan okside olmaktadır [3]. Formik asit, hücrelerin çok asidik olmasına neden olarak metabolik asidoz oluşturmaktadır. Asidoz, enzimlerin çalışmasını durdurarak hücre sağlığına zarar vermektedir [15]. Ayrıca aspartamın bileşenlerinden biri fenilalanin olduğundan, aspartam fenilketonürisi olanlar için bir uyarı etiketi taşımaktadır [3].

Aspartamın genel özellikleri aşağıda Çizelge 2.5'te verilmiştir.

Çizelge 2.5. Aspartamın genel özellikleri

Tatlandırıcı	Aspartam
^[40] Kimyasal Ad	N-(L- α -Aspartyl)-L-fenilalanine, 1-metil ester
^[40] Kimyasal Formülü	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅
^[40] Molekül Ağırlığı	294.31 g/mol
^[40] Cas Numarası	22839-47-0
^[40] Erime Noktası	246-247 °C
^[34] Düzenleyici Durum	Genellikle besinlerde tatlandırıcı ve lezzet artırıcı olarak onaylanmıştır
^[34] Sükroz ile Karşılaştırıldığında Tatlılık Yoğunluğu	200 x
^[1] Glisemik İndeks	0
^[1] Enerji (kkal/g)	4
^[51] Kabul Edilebilir Günlük Alım Düzeyi (ADI) (mg/kg)	EFSA → 40 JECFA → 40

Aspartamın sağlık üzerine etkileri

Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalarda aspartamın sağlık üzerindeki etkileri araştırılmaktadır. Şu an literatürde aspartamın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine olumsuz etkilerini gösteren çalışmalar ile birlikte net sonuç alınamayan çalışmalar da bulunmaktadır [7-14].

Aspartamın tatlı hissi tat reseptörlerinin aktivasyonu ile glukoz intoleransı üzerine etkisi

Tatlı hissi tat reseptör hücreleri, ağız boşluğundaki tat tomurcuklarında yer almaktadır ve burada tatlı, tuzlu, acı, ekşi ve umami tat hissini algılamaktadır. Tatlı hissi reseptörü, iki adet alt birimden (T1R2/T1R3) oluşan heterodimerik G-proteini bağlı reseptörüdür (GPCR). Umami tat reseptörü T1R3 alt birimini paylaşmakla beraber tat reseptör ailesinin bir başka üyesiyle (T1R1) birleşirken, acı tat bileşikleri geniş bir 30 T2R reseptör grubunu aktive etmektedir. Tuzlu ve ekşi tatların sinyalizasyonu GPCR'lerce değil, belirli birtakım iyon kanallarının aktivasyonu yoluyla gerçekleşmektedir. Dilde yer alan tatlı hissi alıcı tat reseptörlerinin aktivasyonu, fosfolipaz C'yi aktive eden gustducin salınımını tetikleyerek inositol fosfat üretmektedir ve hücreler-arası kalsiyum salınımına yol açmaktadır. Ardından, tat hücrelerini depolarize eden sinyalizasyon zinciri TRPM5'i (geçici reseptör potansiyel katyon kanalı alt ailesi üyesi 5) aktive etmektedir. Bu döngü, ağızda nöronal sinyalleri tetikleyerek beyne tatlı hissi yollamaktadır. [50].

Enteroendokrin hücrelerde yer alan tatlı hissi alıcı tat reseptörleri ile yapay tatlandırıcıların etkileşiminin ise, sodyum-bağımlı glukoz taşıyıcı izoform 1 (SGLT1) ekspresyonunu regüle ederek ve GLUT 2'nin bağırsak epitel apikal zarına translokasyonunu arttırarak pasif barsak glukoz emilimi ile aktif barsak emilimini arttırdığı ve yapay tatlandırıcı besin desteğinin insülin direncine sebep olduğu belirtilmektedir. [4].

Bu nedenle yapay tatlandırıcıların metabolik disregülasyon üzerinde büyük bir etkileri bulunmaktadır. Yapay tatlandırıcılar bu etkilerini, glukoz ve enerji dengesini kontrol eden yanıtları değiştirerek ve bağırsak mikrobiyotasını farklılaştırarak göstermektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda da glukoz intoleransına neden olabilecekleri bildirilmektedir [54].

Aspartamın karaciğer enzimleri üzerine etkisi

Serum enzim [alkalen fosfataz (ALP), asit fosfataz (ACP), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrojenaz (LDH) ve γ -glutamil transpeptidaz (γ GT)] ölçümleri, klinik teşhis için herhangi bir doku üzerindeki patolojik hasarın etkisi ve yapısı hakkında bilgi sunan değerli bir araçtır. Bu gösterge enzimlerin doku ve vücut sıvılarındaki faaliyetlerinin ölçümü, kimyasal bileşiğin organ/doku üzerindeki saldırı ve toksisite derecesinin değerlendirilmesinde kullanılabilmektedir [55].

Aspartam ise, karaciğer fonksiyon homeostazını değiştirerek ve protein oksidatif hasarı artırarak bir kimyasal stres etkeni gibi çalışmaktadır ve hepatotoksisite gelişimine yol açan apoptotik hücre ölümünü teşvik etmede önemli bir rol oynamaktadır [56]. Bu nedenle yukarıda bahsedilen serum enzimlerinin aspartam tüketimi ile birlikte seviyelerinde değişiklikler meydana gelebilmektedir.

Aspartam ayrıca karaciğer üzerindeki etkisini, özellikle metabolitleri nedeniyle dolaylı olarak yapmaktadır [57]. Aspartam vücut tarafından emildiğinde aspartik asit, alanin ve oksaloasetata; fenilalanin, tirozin ve biraz daha az olmak üzere fenilpiruvat ve feniletilamine; metanol, formaldehit ve ardından formata dönüşmektedir [56]. Bahsedilen bu metabolitler kanda çoğalmaktadır ve esas olarak karaciğerde metabolize edilmektedir. Bu bozunum maddelerinin türevleri ise kimi zaman maddenin kendisinden daha da zehirli olmaktadır. Örneğin metanol, formaldehit ve formata okside olduğunda karaciğer hücrelerine zarar veren bir maddedir. Metanol oksidasyonu, denatürasyon, protein parçalanması ve enzimatik özelliklerin değişmesine yol açan peroksit oluşumuna sebep olmaktadır [57].

Aspartamın oksidatif stres ve proinflamatuvar sitokinler üzerine etkisi

Uzun süreli aspartam tüketimi, oksidatif stres oluşumundan sorumlu metanol ve metabolitlerinin seviyelerinde artışa neden olmaktadır [57]. Metanol ve metabolitlerinin seviyelerindeki artış oksijen radikallerinin üretiminde artışla sonuçlanan artmış mikrozomal üreme ve mitokondriyal hasar ile ilişkilidir [55]. Metanolün okside olan formatı şeklindeki metabolitlerinin toksik etkileri, solunum zincirinin sonunda mitokondride sitokrom oksidaz kompleksinin engellenmesinden kaynaklanmaktadır [10]. Bu süreçlere ise, lipid peroksidasyonunda yer alabilen süperoksit anyon ile nikotonamit adenin dinükleotit (NADH) seviyesinde yükselme eşlik etmektedir [55].

Ayrıca aspartam türevi metanolün, indirgenmiş glutatyon (GSH) tükenmesi ile bağlantılı olduğu bilinmektedir. Beyinde, karaciğerde ve eritrositlerde GSH tükenmesi, uzun süreli aspartam uygulamasının ortak bir özelliğidir [47] ve oksidatif stresi arttıran bir etmendir.

Aspartamın sağlık üzerine etkileri ile ilgili çalışmaların özeti aşağıda Çizelge 2.6'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Aspartamın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar

Çalışmalar	Aspartam alım miktarı	Verilen Aspartam türü	Aspartam verilme süresi	Denek	Sonuç
^[7] M. Abhibsh ve ark; 2011	1. gup: 500 mg/kg aspartam 2. gup: 1000 mg/kg aspartam 3. gup: kontrol grubu (sadece su)	Aspartam	180 gün	18 adet yetişkin erkek wistar rat (150-175 g)	Sonuç olarak 1. ve 2. grubun deney sonunda ALT, AST, GGT ve ALP seviyeleri yükselmiştir. 2. grubun ALT, AST, GGT ve ALP seviyeleri 1. guba göre 1.5 kat daha fazla artış göstermiştir.
^[12] Mourad ve ark; 2011	1.gup: kontrol (distile su) 2.gup:40 mg/kg aspartam(2 hafta alıyor) 3.gup: 40 mg/kg aspartam(4 hafta alıyor) 4.gup: 40 mg/kg aspartam(6 hafta alıyor)	Aspartam	42 gün	Yetişkin erkek wistar rat (120-180 g)	Sonuç olarak 40 mg/kg/gün verilen aspartamın 2., 4. ve 6. haftalarda oksidatif stres parametrelerini arttırdığı gözlenmiştir.
^[10] Ashok ve ark; 2014	1.gup: kontrol 2. gup: methotrexate (MTX) tedavisi almış kontrol grubu 3. gup: MTX tedavisi almış 75 mg/kg aspartam alan gup	Aspartam	90 gün	18 adet erkek wistar albino rat (200-220 g)	Sonuç olarak 75 mg/kg/gün aspartamın karaciğer antioksidan kapasitesine zarar vereceği gözlenmiştir.

Çizelge 2.6. (devam) Aspartamın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar

^[9] Palmnäs ve ark; 2014	Hayvanlar ilk başta 2 hafta boyunca devam edecek iki diyet grubuna ayrılıyorlar. Gup 1: %12 yağlı yiyecek alan Gup 2: %60 yağlı yiyecek alan (yüksek yağlı gup) iki hafta sonunda bu gruplarda ikiye ayrılarak toplam 4 gup oluşturuluyor. Gup 1: %12 yağlı yiyecek ve su alan gup Gup 2: %60 yağlı yiyecek ve su alan gup Gup 3: %12 yağlı yiyecek ve 5-7 mg/kg/gün aspartam alan gup Gup 4: %60 yağlı yiyecek ve 5-7 mg/kg/gün aspartam alan gup	Aspartam	56 gün	44 adet erkek sprague dawley rat	Aspartamın glukoz intoleransına neden olduğu ve insülin duyarlılığını bozduğu gözlenmiştir.
-------------------------------------	--	----------	--------	----------------------------------	---

Çizelge 2.6. (devam) Aspartamın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar

[8]Alkafafy ve ark; 2015	1.gup: 250 mg/kg aspartam 2.gup: 1000 mg/kg aspartam 3.gup: 25 mg/kg sakkarin 4.gup: 100 mg/kg sakkarin	-Aspartam -Sakkarin	56 gün	25 adet 7 haftalık wistar albino rat (100 g)	Sonuç olarak aspartam ve sakkarin alan grubun ALT ve AST düzeyleri yükselmiştir.
[13]Otman ve Jumah; 2019	1.gup: kontrol grubu (n:5) 2. gup: 500 mg/kg aspartam alan gup	Aspartam	7 gün	Yetişkin dişi albino fare (3-4 aylık, 50-60 g)	Sonuç olarak aspartam alan gupta karaciğer dokusunda yıkım, hücrelerin yapısında değişim ve hücrel nekroz gözlenmiştir.
[11]AbdElwahab ve ark; 2017	1.gup: kontrol grubu sabit diyet 2.gup: sağlıklı 200 mg/kg stevia alan gup 3.gup: sağlıklı 250 mg/kg aspartam alan gup 4.gup: 18 saatlik açlık ardından alloxan monohidrate (75 mg/kg) intraperitonel enjeksiyonla 5 gün artarda verilmiş gup 5.gup: 200 mg/kg stevia alan diyabetik gup 6.gup: 250 mg/kg aspartam alan diyabetik gup	-Stevia -Aspartam	42 gün	60 adet yetişkin erkek albino rat (2-3 aylık, 160-200 g)	Stevia alan sağlıklı guptaki ratlarda ALT, AST, ALP değerlerinde kontrol grubuna göre önemli bir fark gözlenmemiştir. Fakat aspartam alan sağlıklı ratlarda kontrol grubuna göre ALT, AST, ALP değerlerinde sırasıyla anlamlı derecede bir artış gözlenmiştir. Diyabetik ratlarda stevia alımı ALT, AST, ALP değerlerini önemli derecede düşürmüştür.

Çizelge 2.6. (devam) Aspartamın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar

					Fakat diyabetik ratlarda aspartam ALT, AST, ALP değerlerine etki etmemiştir. Diyabetik ratlarda serum kan glukoz düzeyi stevia alan gupta %38, aspartam alan gupta ise %50 oranında anlamlı derecede azalmıştır. Ayrıca diyabetik ratlarda besin alımı aspartam ve stevia alan gupta anlamlı derecede düşmüştür.
^[14] Janssens ve ark; 2016	1.gup: su 2.gup: %13 glukoz içeren çözelti 3.gup: %13 fruktoz içeren çözelti 4.gup: %4 aspartam içeren çözelti	-Glukoz -Fruktoz -Aspartam	49 gün	60 adet yetişkin erkek wistar rat (3-4 aylık, 350±2 g)	Açlık kan glukozunda gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Plazma ALT seviyeleri fruktoz alan gupta diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek çıkmıştır.

Çizelge 2.6. (devam) Aspartamın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar

[15]Choudhary ve Devi; 2015	1.gup: tuzlu su alan kontrol grubu 2.gup: folattan fakir diyet alan gup 3.gup: 40 mg/kg aspartam alan gup 4.gup: folattan fakir diyet ile birlikte 40 mg/kg aspartam alan gup 5.gup: kırmızı kan hücresi aşıl原因anan gup 6.gup: kırmızı kan hücresi aşıl原因anan ve folattan fakir diyet alan gup 7.gup: kırmızı kan hücresi aşıl原因anan ve 40 mg/kg aspartam alan gup 8.gup: kırmızı kan hücresi aşıl原因anan, folattan fakir diyet alan ve 40 mg/kg aspartam alan gup	Aspartam	90 gün	48 adet wistar albino rat (200-220 g)	Sonuç olarak folattan fakir diyetle birlikte aspartam alan ratlarda, folattan fakir beslenen ratlara göre IL-2, TNF-alfa düzeylerinde anlamlı derecede bir azalma gözlenmiştir.
-----------------------------	--	----------	--------	---------------------------------------	---

2.4.2. Doğal tatlandırıcılar

Doğal tatlandırıcılar bitkilerin kök, kabuk, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilmektedir. [33]. Aşağıda Çizelge 2.7’de doğal tatlandırıcıların tatlılık dereceleri, özellikleri ve kullanım alanları verilmiştir.

Çizelge 2.7. Doğal tatlandırıcıların tatlılık dereceleri, özellikleri ve kullanım alanları [36, 38, 39, 58, 59]

Tatlandırıcı	Sükroz ile Karşılaştırıldığında Tatlılık Yoğunluğu	Özellikleri	Kullanım Alanları	Kabul Edilebilir Günlük Alım Düzeyi (ADI) (mg/kg) (JECFA)
Glisirizik asit	30-110 x	-Sıcak suda çözünür. -Anti-enflamatuar ve anti-viraldir. -Acıdır ve meyanköküne benzer istenmeyen bir tat bırakır. -Başlangıçta geciken bir tatlılık hissi vermesine karşın ve kalıcı bir tatlılık hissi bırakır.	Tatlandırıcı olarak değil ama doğal aroma verici ve aroma arttırıcı olarak kullanılmaktadır.	Belirlenmemiş
Luo Han Guo özü	150-300 x	-Kontrollü nem koşullarında ve oda sıcaklığında stabildir. -Kuru öksürtük, boğaz ağrısı, susuzluk ve kabızlık tedavisinde kullanılır. -Fark edilebilir düzeyde istenmeyen acı bir tadı vardır.	Kalorisiz tatlandırıcılarla olan tatlandırıcı karışımlarında, içeceklerde (örneğin meyve suyu konsantreleri) ve yiyeceklerde kullanılmaktadır.	Belirlenmemiş
Monelin	2,500-3,000 x	-pH değişimine ve sıcaklığa karşı sınırlı bir kararlılık gösterir ve sınırlı tat özelliklerine sahiptir.	50°C üzerindeki sıcaklıklarda asidik pH ‘da ısıtıldığında tatlılığını kaybeder.	Belirlenmemiş
Stevia	200-400 x	-Isıya karşı kararlıdır.	Enerji içeren ve içermeyen tatlandırıcılarla olan karışımlarda, içecek ve yiyeceklerde (örneğin toplanmış sebzeler, deniz ürünleri), meyveli içeceklerde, sakızlarda ve süt ve süt ürünlerinde tahıllarda ve enerji barlarında kullanılır.	4 mg/kg/gün
Taumatın	1,600-9,800 x	-Isıya ve pH değişimine kararlıdır. -Karyojenik değildir; acı ve meyankökü tadında istenmeyen tatlar verebilir.	Aroma arttırıcı ve doğal aroma verici olarak kullanılır.	Belirlenmemiş

Yukarıda doğal tatlandırıcıların tatlılık dereceleri, özellikleri ve kullanım alanları verilmiştir. Fakat günümüzde bu doğal tatlandırıcılar içerisinde en sık kullanılan tatlandırıcı stevia’dır. Bu nedenle aşağıda stevia özellikleri hakkında daha ayrıntılı bir bilgi verilmiştir.

Stevia, kimyasal yapısı ve özellikleri

Anavatanı Güney Amerika (Paraguay, Brezilya) olan stevia Güney Amerikalı doğa bilimci Antonio Bertoni tarafından 1887 yılında keşfedilmiştir. Çoğu dünya ülkesinde kullanılmakla birlikte özellikle Japonya ve Kore’de otuz yılı aşkın bir süredir besin katkı maddesi ve

tatlandırıcı olarak bireyler tarafından tüketilmektedir [60] ve doğal bir tatlandırıcı olarak kabul edilmektedir [3].

Beyaz veya açık sarı rengindedir, ayrıca hafif bir karakteristik kokuya sahiptir [58]. Dünyada 200'den fazla stevia türü bulunmasına rağmen stevia rebaudiana şu anda tatlandırıcı yeteneğine sahip olan tek türdür [17].

Stevia yaprakları; protein, lifler, karbonhidratlar, fosfor, demir, kalsiyum, potasyum, sodyum, magnezyum, flavonoid, çinko, C vitamini ve A vitamini içermektedir [17]. Antioksidan aktiviteye katkıda bulunan polifenoller, içeriği ile karakterize olan besleyici ve kimyasal bileşimi nedeniyle popülürler [61].

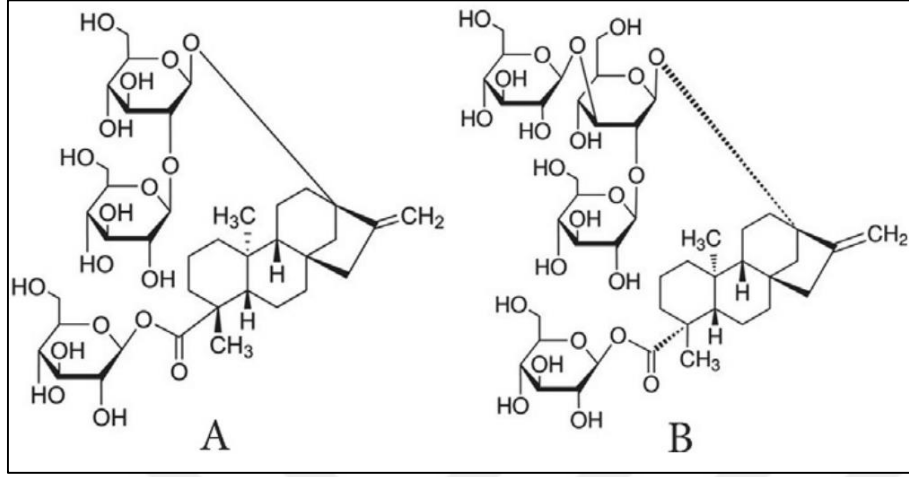
Stevia yapraklarında çeşitli fenolik bileşik sınıfları ise aşağıdaki gibidir [61]:

- (i) hidroksibenzoik asitler (gallik asit, protokateşik asit),
- (ii) hidroksisinamik asitler (klorojenik asit, kafeik asit, sinamik asit, kumarik asit)
- (iii) flavonoidler (katekin, epicatechin, rutin, quercetin ve apigenin)

Stevia yaprakları aynı zamanda, doğal olarak tatlı olan diterpen glikozitler-steviositler (kuru yaprağın %4–13'ü), rebaudiozit A (%2-24), rebaudiozit C (%1-2), dulkosit A (%0,4-0.7), steviolbiosit ve rebaudiozit B, D, E, F ve M (eser seviyeler)'den oluşan kompleks bir karışım içermektedir [61].

Steviol glikozitler (SG'ler), stevianın tatlılığından sorumlu enerji değeri olmayan sekonder metabolitlerdir [17, 62]. Steviosit (ST) ve rebaudiozit A (RA) en bol bulunan diterpenoid glikozitlerdir, ancak şu anda 30'dan fazla SG olduğu bilinmektedir. Yakın zamanda stevia rebaudiananın yapraklarında iki minör diterpen glikozit, rebaudiozit R ve S tespit edilmiştir [62]. Steviol glikozitler sükrozdan yaklaşık 300 kat daha tatlıdır [3]. Kurutulmuş yapraklarda ST, SG'lerin %4-13'ünü temsil etmektedir ve sükroza göre 110-270 kat daha tatlıdır. Buna karşılık, RA, SG'lerin %2-4'ünü temsil etmektedir, ancak sükrozdan 180-400 kat daha tatlıdır. Steviosite kıyasla RA, ona daha yüksek bir tatlandırma gücü sağlayan ilave bir glukozmonomerine sahiptir ve bu nedenle stevia yaprağı ekstraktlarının en çok tercih edilen bileşenidir. Rebaudiozit A ayrıca ağızda genellikle steviositlerle ilişkilendirilen acı bir tat bırakmamaktadır [62].

Stevia Rebaudiana Bertonii'deki iki ana steviol glikozit olan (A) steviosit ve (B) rebaudiozit A'nın kimyasal yapıları aşağıda Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.3. (A) Steviosit ve (B) rebaudiozit A'nın kimyasal yapıları [61]

Stevia'nın metabolizması

Steviol glikozitlerin enerji değeri yoktur. Hepsi steviol salgılamak için kolonik bakteriyel glukozidazların etkisi altında parçalanmaktadır. İnsanlar steviolü hepatik portal sistem yoluyla absorbe etmektedir, steviol karaciğerde glukuronide dönüştürülmektedir ve idrarla atılmaktadır. Bu ortak metabolik yol nedeniyle, glikozitlerin kabul edilebilir günlük alım seviyesi steviol cinsinden ifade edilmektedir [63]. (JECFA için bu değer 0-4 mg/kg vücut ağırlığıdır[68]) Glikozitlerin ayrıca kan şekeri konsantrasyonuna veya insülin ihtiyacına etkisi bulunmamaktadır [63].

Stevia kullanımının besin sanayindeki yeri

Günümüzde sıcak ve soğuk aromalı içeceklerde, yüksek ısıda pişirilen tüm unlu besinlerde, kakao, çikolata ürünler, sakız, deniz ürünleri, reçel, komposto, jöle, marmelat, muhallebi ve yoğurtlarda stevia tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır [64].

Stevia'nın günlük alım düzeyi

Besin ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) Besin Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi (JECFA), 2008 yılında kabul edilebilir günlük steviol alımını 4 mg/kg vücut ağırlığı (b.wt) (10 mg/kg vücut ağırlığı steviosit eşdeğer) olarak açıklamıştır [58, 65].

Stevia'nın toksisitesi

Steviosit bir glikosit olup anaerobik koşullarda kör bağırsakta bağırsak florası tarafından steviol'e (aglikon) hidrolize olmaktadır. Steviol plazma konsantrasyonunun, 15 dakikalık oral yükleme sonrasında zirve seviyeye çıktığı bilinmektedir ve bu durum hızlı emilimin göstergesidir. Oral yoldan uzun süreli steviosit kullanımının, insanlarda beslenme dozunda belirgin bir yan etki yaratmadan yüksek oranda tolere edildiği bildirilmektedir [66].

Stevianın genel özellikleri aşağıda Çizelge 2.8'de verilmiştir.

Çizelge 2.8. Stevia'nın genel özellikleri

Tatlandırıcı	Stevia
^[67] Kimyasal Ad	Steviosit: 13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-β-D glucopyranosyl)oxy]kaur-16-en-18-oic acid, β-D-glucopyranosyl ester Rebaudiozit A: 13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-Dglucopyranosyl-β-D glucopyranosyl)oxy]kaur-16-en-18-oic acid, βD-glucopyranosyl ester
^[67] Kimyasal Formülü	Steviosit: C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈ Rebaudiozit A: C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃
^[67] Molekül Ağırlığı	Steviosit: 804.88 Rebaudiozit A: 967.03
^[67] Cas Numarası	Steviosit: 57817-89-7 Rebaudiozit A: 58543-16-1
Düzenleyici Durum	Genellikle besinlarda tatlandırıcı ve enerji düşürücü olarak onaylanmıştır
^[67] Sükroz ile Karşılaştırıldığında Tatlılık Yoğunluğu	200-300x
^[1] Glisemik İndeks	0
^[1] Enerji (kkal/g)	0
^[67] Kabul Edilebilir Günlük Alım Düzeyi (ADI) (mg/kg)	JECFA → 4

Stevia'nın sağlık üzerine etkileri

Son zamanlarda sıklıkla kullanılan ve doğal bir tatlandırıcı olan stevia ile yapılmış olan deneysel çalışmalarda; stevianın insülin duyarlılığını artırdığı, kan glukoz düzeyini düşürdüğü, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres parametrelerini azalttığına dair çalışmalar bulunurken, bu parametrelere etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [11, 16-22].

Stevia'nın glukoz intoleransı üzerine etkisi

Steviosit ve steviol glukoz intoleransı üzerine etkisini, beta hücrelerinde K^+ adenosin trifosfat (K^+_{ATP}) kanal aktivitesi ve/veya siklik adenosin monofosfat (cAMP) seviyelerine müdahale ederek etki göstermektedir. Ayrıca steviosit ve steviol, pankreas beta hücrelerine doğrudan etki yaparak insülin sekresyonunu uyarmaktadır. Bu nedenle tip 2 diyabet tedavisinde potansiyel bir rolü olabileceği belirtilmektedir [68].

Stevia'nın karaciğer enzimleri üzerine etkisi

Stevia'nın nükleer faktör eritroid 2- ilişkili faktör 2 (Nrf2)'yi upregüle ederek akut ve kronik hepatik toksisiteyi önlediği ve dolayısıyla, nekroz ve kolestazi engellediği bilinmektedir [69].

Stevia'nın oksidatif stres ve proinflamatuvar sitokinler üzerine etkisi

Steviosit $TNF-\alpha$ ve $IL-1\beta$ salınımını baskılayarak güçlü anti-inflamatuvar özellik sergilemektedir. Steviosit, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ve mitojenle aktive protein kinaz (MAPK) sinyalizasyon yollarını down regüle ederek inflamatuvar sitokin sekresyonunu baskılamaktadır [70, 71].

Ayrıca stevia'nın nükleer faktör eritroid 2-ilşkili faktör 2 (Nrf2)'yi yukarı yönde regüle etme yoluyla akut ve kronik hepatik toksisiteyi önlediğini ve dolayısıyla, NF- κ B yolunu engelleyen pro-inflamatuvar sitokinleri düzenleyerek oksidatif stres, nekroz ve kolestazla savaştığı bilinmektedir [69].

Bu bilgilere ek olarak, polifenolik bileşik içeren stevia özlerinin 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), hidroksil radikali, nitrik oksit, süperoksit anyon ve hidrojen peroksit gibi serbest radikal serilerini engelleyerek güçlü antioksidan faaliyet gösterdiği bilinmektedir [72].

Stevia'nın sağlık üzerine etkisi ile ilgili çalışmaların özet tablosu Çizelge 2.9'da verilmiştir.

Çizelge 2.9. Stevia'nın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar

Çalışmalar	Stevia alım miktarı	Verilen Stevia türü	Stevia verilme süresi	Denek	Sonuç
^[20] Geuns ve ark; 2006	250 mg kapsül	Steviosit tablet	3 gün (günde 3 kez)	10 sağlıklı yetişkin insan (21-29 yaş arası)	Stevioside alımının kan glukoz, insülin, ALT, ALP ve GPT değerlerinde anlamlı bir değişiklik yaratmadığı gözlenmiştir.
^[21] Nikiforov ve Eapen; 2008	1.gup: kontrol grubu(bazal diyet) 2.gup:500 mg/kg rebaudiozit A alan gup 3.gup: 1000 mg/kg rebaudiozit A alan gup 4.gup: 2000 mg/kg rebaudiozit A alan gup	Stevia rebaudiozit A	90 gün	Sprague dawley rat	Rebaudiozit A alımının kan glukoz, insülin, ALT, AST ve ALP değerlerinde anlamlı bir değişiklik yaratmadığı gözlenmiştir.
^[17] Shivanna ve ark; 2013	Gup 1-2: kontrol grubu Gup 3-4: %4 stevia içeren diyet (96 g kuru diyet 4 g stevia yaprak tozu) Gup 5-6: Eşdeğer miktarda polifenol ekstresi Gup 7-8: 4 g stevia yaprağı tozundan elde edilen eşdeğer miktarda lif	Stevia rebaudiana yaprakları	35 gün	80 adet streptozosin (STZ) kaynaklı diyabetik wistar rat (3 aylık, 180-200 g)	Sonuç olarak stevia rebaudiana yaprakları STZ'li diyabetik ratlarda hipoglisemik etkinin yanı sıra karaciğer ve böbrek hasarını anlamlı derecede azaltmıştır.
^[16] Singh ve ark; 2013	1.gup: kontrol grubu 2.gup: alloxan ile diyabetik yapılan kontrol rat grubu 3.gup: Standart ilaç tedavisi alan gup(glibenclamide) 4.gup: 300 mg/kg stevia rebaudiana alan gup	Stevia rebaudiana yapraklarının metanolik ekstresi	21 gün	28 adet sağlıklı swiss albino fare (4-5 aylık, 20-30 g)	Alloxan ile diyabetik yapılan farelerde stevia rebaudiana yapraklarının verilmesinden itibaren 21. günün sonunda kan glukoz düzeyi anlamlı bir derecede düşmüştür.

Çizelge 2.9. (devam) Stevia'nın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar

[18]Akbarzade ve ark; 2015	1.gup: diabetik kontrol grubu 2.gup: diabetik olmayan kontrol grubu 3.gup: 250 mg/kg/gün stevia alan diyabetik gup 4.gup: 500 mg/kg/gün stevia alan diyabetik gup 5.gup: 750 mg/kg/gün stevia alan diyabetik gup	Stevia rebaudiana yaprakları		40 adet erkek wistar rat (180-250 g)	250 mg/kg/gün ve 500 mg/kg/gün stevia rebaudiana yaprakları alan gupta diyabetik kontrol grubuna göre açlık kan glukoz düzeyi ve insülin direncinde anlamlı derecede düşme gözlenmiştir.
[22]Elnaga ve ark; 2016	1.gup: distile su alan negatif kontrol grubu 2.gup: 500 mg/kg suda çözdürülmüş süzkroz alan pozitif kontrol grubu 3.gup:25 mg/kg stevia alan gup 4.gup: 250 mg/kg stevia alan gup 5.gup: 500 mg/kg stevia alan gup 6.gup: 1000 mg/kg stevia alan gup	Stevia	84 gün	60 adet yetişkin dişi wistar rat (203±6 g)	Stevia alımı arttıkça besin alımı azalmıştır. 25 mg/kg stevia alan gupta besin alımı en fazla iken, 1000 mg/kg stevia alan gupta besin alımı en azdır. Stevia alan gruplarda anlamlı derecede ağırlık kaybı yaşanmıştır. Plazma glukoz konsantrasyonu tüm stevia alan gruplarda azalmıştır. Stevia gruplarında ALT, AST düzeyleri anlamlı derecede düşmüştür.

Çizelge 2.9. (devam) Stevia'nın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar

[11]AbdElwahab ve ark; 2017	1.gup: kontrol grubu sabit diyet 2.gup: sağlıklı 200 mg/kg stevia alan gup 3.gup: sağlıklı 250 mg/kg aspartam alan gup 4.gup: 18 saatlik açlık ardından alloxan monohidrate (75 mg/kg) intraperitoneal enjeksiyonla 5 gün artarda verilmiş gup 5.gup: 200 mg/kg stevia alan diyabetik gup 6.gup: 250 mg/kg aspartam alan diyabetik gup	-Stevia -Aspartam	42 gün	60 adet yetişkin erkek albino rat (2-3 aylık, 160-200 g)	Stevia alan sağlıklı guptaki ratlarda ALT, AST, ALP değerlerinde kontrol grubuna göre önemli bir fark gözlenmemiştir. Fakat aspartam alan sağlıklı ratlarda kontrol grubuna göre ALT, AST, ALP değerlerinde sırasıyla anlamlı derecede bir artış gözlenmiştir. Diyabetik ratlarda stevia alımı ALT, AST, ALP değerlerini önemli derecede düşürmüştür. Fakat diyabetik ratlarda aspartam ALT, AST, ALP değerlerine etki etmemiştir. Diyabetik ratlarda serum kan glukoz düzeyistevia alan gupta %38, aspartam alan gupta ise %50 oranında anlamlı derecede azalmıştır. Ayrıca diyabetik ratlarda besin alımı aspartam ve stevia alan gupta anlamlı derecede düşmüştür.
[19]Latha ve ark; 2017	Gup 1: normal gup Gup 2: 5 mg/kg lipopolisakkarit (LPS) Gup 3: 250 mg/kg steviosit Gup 4: 5 mg/kg LPS+500 mg/kg steviosit	Stevia rebaudiana yaprakları		32 adet erkek wistar rat (6-8 haftalık, 250-300 g)	Stevia rebaudiana yaprakları akut karaciğer hasarı olan ratlara verildiğinde TNF alfa, IL-1, IL-6 seviyeleri anlamlı derecede düşmüştür. Ayrıca ALT ve AST seviyeleride stevia rebaudiana alan gupta düşmüştür.

2.5. Oksidatif Stres ve Oksidatif Stres Kaynakları

Oksidatif stres yaşlanma, ilaç etkileri ve toksisite, inflamasyon ve/veya bağımlılık gibi farklı faktörler nedeniyle antioksidanlar ve pro-oksidanlar arasındaki dengenin pro-oksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanmaktadır [27]. Bu dengesizlik, aşırı reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersizliği nedeniyle oluşmaktadır [73].

Mitokondriyal, peroksizomlardaki ve sitokrom P450 enzim sistemindeki elektron taşıma zinciri, ROS üretiminin en önemli kaynaklarıdır ($O_2^{\cdot-}$ üretiminde yer alırlar). Mitokondriyal elektron taşıma zinciri kompleksi $O_2^{\cdot-}$ oluşumundan sorumludur ve günde mitokondri başına 10^7 ROS molekülü üretildiği tahmin edilmektedir. Ayrıca, siklooksijenazlar, ksantin oksidaz, bağlanmamış nitrik oksit sentazlar (NOS) ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazlar gibi çeşitli enzimler reaktif oksijen türlerini (ROS) üretimini hızlandırabilmektedir [73].

Toksik maddeler olarak ağır metaller (Fe, Cd, Pb, Hg), akrolein, kloroform, karbon tetraklorür, tersiyer butil hidroperoksit, çevresel kirleticiler (azot oksitleri, SO_2 , CO_2), ksenobiyotikler ve UV ışınımı da ROS'un aşırı üretimine neden olan diğer faktörlerdir [73].

2.6. Oksidatif Stres Oluşumu Mekanizması

Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen (1O_2) içeren ROS normal aerobik metabolizma sırasında üretilmektedir ve hücresel proliferasyon, farklılaşma da dahil olmak üzere birkaç temel biyolojik işlem için düşük seviyeleri gerekmektedir.

Ayrıca makrofajlar, nötrofiller, endotel ve epitel hücreleri dahil olmak üzere birçok hücre tipi de ROS üretebilmektedir; fakat bununla birlikte aşırı üretimi, nükleik asitler, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenler üzerinde zararlı etkileri olan oksidatif stresi indükleyebilmektedir [28].

2.7. Tip 2 Diyabette Oksidatif Stres

Tip 2 diyabet artahastalarında ROS üretiminin, heksosamin yolakları, ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) oluşumu ve PKC β 1/2 de dahil olmak üzere birçok zararlı yolağı aktive ettiği düşünülmektedir. Hiperglisemi durumu, glukoz otoksidasyonu, poliol yolağı, AGE oluşumu ve PKC β 1/2 kinaz gibi çeşitli mekanizmalarla oksidatif stres indüklenmektedir. Tip 2 diyabet hastalarında artmış serbest yağ asitleri, leptin ve dolaşımdaki diğer faktörler de aşırı ROS üretimine neden olabilmektedir [73].

2.8. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Antioksidan terimi, eser konsantrasyonlarda bile varlıkları bir substratın oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren herhangi bir madde için kullanılabilir. Antioksidan savunmada rol oynayan ve oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak kabul edilebilecek çeşitli endojen (dahili olarak sentezlenmiş) veya ekzojen (tüketilmiş) türler veya moleküller bulunmaktadır [27].

Antioksidanlar etki mekanizmalarına göre enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılarak incelenmektedirler [74, 75]. Ayrıca enzimatik antioksidanlar endojen enzimler [süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz, sitokrom oksidaz] olarak bir alt başlığa ayrılırken, enzimatik olmayan antioksidanlar endojen (metabolik) antioksidanlar [glutatyon (GSH), albumin, ürik asit, bilirubin, haptogloblin, hemopeksin, eritrosit, laktoferrin, metionin, sistein] ve ekzojen (diyet) antioksidanlar [karotenoidler (β -karoten, likopen, lutein, zeaksantin), A vitamini, askorbik asit (C vitamini), alfa tokoferol (E vitamini), K vitamini, organosülfür bileşikler (allium, allil sülfid, indoller), çinko, selenyum, koenzim Q10, fenolik bileşikler, melatonin, ferritin, transferin, seruloplazmin] olarak iki alt başlık altında toplanmaktadır [74-78].

Aşağıda Çizelge 2.10'da enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların sınıflaması yapılmıştır ve özelliklerinden kısaca bahsedilmiştir.

Çizelge 2.10. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların sınıflandırılması ve genel özellikleri [73-79]

Enzimatik Antioksidanlar	Özellikleri
Endojen enzimler	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit radikalının giderilmesini sağlayan reaksiyonlarda katalizör görevi görür. $O_2^{\cdot -}$ 'nin H_2O_2 'ye dönüşümünü katalize eder.
Glutasyon Peroksidaz (GPx)	Hidrojen peroksit radikalının konsantrasyonunun giderilmesinde görev alır. Lipit peroksitlerinin etkisizleştirilmesinde önemli rol oynar.
Katalaz (CAT)	Hidrojen peroksit radikalını oksijen ve suya indirgeyerek, H_2O_2 'nin yükselen konsantrasyonunun ortadan kalkmasında görev alır.
Glutasyon Redüktaz	Disüfitlerin indirgenmesinde rol oynar.
Sitokrom Oksidaz	Oksijenin indirgenmesi sırasında reaktif türlerin ortaya çıkmasını engeller.
Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	Özellikleri
Endojen (Metabolik) Antioksidanlar	
Glutasyon	Serbest radikallerle ve peroksitlerle birlikte reaksiyona girer. Bunun sonucunda hücreler oksidatif hasara karşı korunur.
Albumin	Protein ve bakır metal iyonlarını bağlar. Hipoklorus asit (HOCL) radikalini toplayarak serbest radilleri giderir.
Ürik asit	Metal bağlayıcı olarak bilinen ürik asit, süperoksit, hidroksil ve hidrojen peroksit radikalını ve singlet oksijeni toplar ve temizler.
Bilirubin	Süperoksit ve hidroksil radikalını toplayarak temizler.
Haptoglobin	Hem'in salınımının hemoglobini bağlayarak engeller.
Hemopeksin	Serbest hem proteinlerini bağlar ve oksidasyon oluşumunu inhibe edici görev alır.
Eritrosit	Süperoksit ve hidrojen peroksit radikallerinin yakalanmasında görev alır.
Laktoferrin	pH'ın düşük olduğu ortamda demir iyonlarının bağlanması görev alır.
Metionin	Serbest radikallerle ve peroksitlerle birlikte reaksiyona girer. Bunun sonucunda hücreler oksidatif hasara karşı korunur.
Sistein	Süperoksit ve hidroksil radikalını toplayarak temizler. Organik bileşiklerin indirgenmesinde rol oynar.
Ekzojen (Diyet) Antioksidanlar	
Karotenoidler (β -karoten, likopen, lutein, zeaksantin)	Süperoksit ve hidroksil radikalını temizler. Singlet oksijen oluşumunun inhibisyonunu sağlar. Avitamininin oksidasyona uğramasını engeller.
Askorbik Asit (C vitamini)	Süperoksit, hidroksil ve hidrojen peroksit radikalını temizler. E vitaminin rejenerasyonunda görev alır.

Çizelge 2.10. (devam) Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların sınıflandırılması ve genel özellikleri [73-79]

Alfa tokoferol (E vitamini)	Lipit peroksidasyonunu önler.
Selenyum	Reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkilerden hücreleri korur.
Koenzim Q10	Mitokondriyel enerji metabolizmasında antioksidandır.
Fenolik bileşikler	Lipit peroksidasyonunu önler. Hidrojen peroksit radikalini temizlenmesinde görev alır.
Melatonin	Hidroksil radikalini temizler.
Ferritin	Dokulardaki demiri bağlar.
Transferin	Dolaşımda bulunan serbest demir iyonlarını bağlar ve fenton reaksiyonunun inhibisyonunu sağlar.
Seruloplazmin	Demirin yükseltmesini sağlayarak fenton reaksiyonunu inhibe eder ve bunun sonucunda hidroksil radikali oluşumunu önler. Cu ⁺² 'yi bağlar.

2.9. Toplam Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres

Vücudumuzda, metabolik ve fizyolojik reaksiyonlar sonucu meydana gelen ROS etkisi ile ortaya çıkan oksidatif stres ile mücadele eden antioksidan sistem mevcuttur. İnsan plazmasındaki toplam antioksidan kapasitenin %85'ini albümin, ürik asit ve askorbik asit meydana getirmektedir. Antioksidanların tek tek ölçümünden ziyade, toplam antioksidan kapasitesinin ölçümü daha doğru bilgi vermektedir. Çünkü antioksidanların tek tek ölçümü, zaman açısından daha uzun sürmektedir, pahalıdır ve çok karmaşık metodlar içermektedir. Bu sebepler göz önünde bulundurulduğunda, toplam antioksidan kapasitesi (TAS) ölçümü giderek değerlendirilmekte ve kabul görmektedir [80].

2.10. Toplam Oksidan Kapasite ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulmasıyla oluşmaktadır ve bu da oksidatif hasar oluşumuna neden olmaktadır. Serbest radikallerin oluşumu normal hücresel fonksiyonların ayrılmaz bir özelliğidir. Fakat serbest radikallerin aşırı üretimi ve/veya yetersiz şekilde uzaklaştırılması, hücrede tahrip edici ve geri dönüşü olmayan bir hasara neden olmaktadır [15].

Farklı oksidan türlerin serum veya plazma konsantrasyonları laboratuarlarda ayrı ayrı ölçülebilmektedir, ancak ölçümler zaman alıcı, yoğun emek gerektirici, maliyetli ve karmaşık teknikler gerektirmektedir. Farklı oksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçümü pratik olmadığından, bir numunenin toplam oksidan durumu (TOS) ölçülmektedir ve buna toplam peroksit (TP), serum oksidasyon aktivitesi (SOA), reaktif oksijen metabolitleri (ROM) veya başka eş anlamlılar adı da verilmektedir [81].

2.11. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren kısa ömürlü türler olan reaktif kimyasal oluşumlardır. Serbest radikaller eşleşmemiş elektronlarını vererek hücrelere zarar vermektedir, bu da hücre bileşenlerinin ve moleküllerin oksidasyonuna neden olmaktadır. Genellikle çok kararsız ve çok reaktifdirler [27]. Şimdiye kadar, yaklaşık 50'den fazla hastalığın patogeneğinde serbest radikallerin etkisi olduğu bulunmuştur [27].

2.11.1. Serbest radikallerin lipitler üzerindeki zararları

Serbest radikal hasarına karşı lipitler oldukça hassastır [82]. Hidroksil ve süperoksit radikali bazı hücre membranlarında lipid peroksidasyonunun başlamasını sağlamaktadır [83]. Lipitler ile serbest radikaller reaksiyon oluşturduğunda oluşan lipid peroksidasyonu oldukça zararlı etkiler oluşturabilmektedir ve bu oluşan hasar hücrenin fonksiyonunu sürdürebilmesi için oldukça zarar verici bir durumdur. Sonuç olarak lipit peroksidasyonu hücrenin membranına, akışkanlığına ve geçirgenliğine zarar vererek sağlıklı yapıyı bozmaktadır [82].

2.11.2. Serbest radikallerin proteinler üzerindeki zararları

Proteinler üzerine serbest radikaller doğrudan etki yapmaktadırlar fakat proteinlerin etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonları ile alakalıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein doymamış bağ ve sülfür içerdikleri için serbest radikaller ile daha kolay bir şekilde reaksiyona girmektedirler [82]. Oldukça reaktif olan hidroksil radikali proteinlere karşı saldırmaktadır [84]. Bu durumda proteinlerin fonksiyonu ve enzim aktivasyonu bozulmakta ve sonuç olarak hasar meydana gelmektedir [82].

2.11.3. Serbest radikallerin DNA üzerindeki zararları

Serbest radikaller DNA ile etkileşim içerisine girerek oksidatif strese neden olmaktadır [82]. Hidrojen peroksit hücre membranlarından rahat bir şekilde geçmektedir ve hücre çekirdeğine ulaşmaktadır. Bu durum DNA'nın hasar görmesine ve hücre fonksiyonunun bozulmasına neden olmaktadır [83]. Ek olarak serbest radikal saldırıları poli sentetaz enziminin (ADP-riboz) aktive olmasını sağlamaktadır ve ADP-ribozun aktive olması DNA parçalanması ile birlikte programlanmış hücre ölümüne neden olmaktadır [82].

2.11.4. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerindeki zararları

Oldukça reaktif olan hidroksil radikali polisakkaritlere karşı saldırmaktadır ve hasar oluşumuna neden olmaktadır [84]. Kısaca karbonhidratlar ile serbest radikaller reaksiyona girerek oksidatif stresin oluşumuna neden olmaktadır [82].

Serbest radikaller aşağıdaki üç tipte sınıflandırılabilir [27]:

1. Reaktif oksijen türleri (ROS)
2. Reaktif nitrojen türleri (RNS)
3. Reaktif klor türleri (RCS)

Aşağıda çizelge 2.11'de en sık karşılaşılan serbest radikaller, sembolleri ve oluşum mekanizmaları kısaca verilmiştir.

Çizelge 2.11. Serbest radikallerin sınıflandırılması ve oluşum mekanizması [73, 76, 82, 85, 86]

Reaktif oksijen türleri (ROS)	Sembolü	Oluşum mekanizması
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot -}$	$HO_2^{\cdot} \rightarrow H^+ + O_2^{\cdot -}$
Hidroksil radikali	$OH^{\cdot}$	$H_2O_2 + e \rightarrow OH^{\cdot} + OH^{\cdot}$
Hidrojen peroksit radikali	H_2O_2	$O_2^{\cdot -} + 2H^+ + e \rightarrow H_2O_2$
Hidroperoksil radikali	$HO_2^{\cdot}$	$O_2 + e + H^+ \rightarrow HO_2^{\cdot}$
Singlet oksijen	1O_2	
Reaktif nitrojen türleri (RNS)		
Nitrik oksit	$NO^{\cdot}$	$L-Arg + O_2 + NADPH \rightarrow NO^{\cdot} + \text{sitrulin}$
Nitrojendioksit	$NO_2^{\cdot}$	
Reaktif klor türleri (RCS)		
Atomik klor	$Cl^{\cdot}$	

2.12. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Reaktif oksijen türleri, reaktif özelliklere sahip, çeşitli biyolojik moleküllere elektron (e-) yerleştirme veya verme kabiliyetine sahip kimyasallar olarak tanımlanmaktadır. Bu radikallerin kararsız olması eşleşmemiş e-’den kaynaklanmaktadır [73].

Başlıca reaktif oksijen türleri; hidroksil radikali (OH[•]), süperoksit radikali (O₂^{•-}), hidrojen peroksit radikali (H₂O₂) , hidroperoksil radikali (HO₂[•]), hipokloröz asit radikali (HOCl), singlet oksijen radikali (¹O₂), alkil radikali-organik radikaller (R[•]), LO. Alkoksil radikali (LO[•])’dır [75, 84].

Bununla birlikte, bu moleküller biyolojik sistemlerde oksidatif stres yaratarak olumsuz bir rol de oynamaktadır [73].

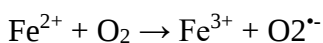
2.12.1. Süperoksit radikali (O₂^{•-})

Kararsız bir yapıda olan süperoksit radikali (O₂^{•-}), moleküler oksijenin bir elektron transferi ile indirgenmesi sonucunda oluşmaktadır [75].

2.12.2. Hidroksil radikali (OH[•]), fenton ve haber – weiss tepkimesi

Hidroksil radikali (OH[•]) moleküler oksijene üç elektron transferinin olması ile meydana gelelebilmektedir [75]. Çok kısa ömürlü olmasına rağmen vücutta en bol miktarda bulunan ve en fazla zararı veren radikal türüdür [28]. Hidroksil radikali yan ürünler veya son ürünler olarak canlı organizmalardaki genel biyokimyasal reaksiyonlardan da türetilmektedir. Demir (Fe²⁺) ve bakır (Cu⁺) gibi ağır metallerin reaksiyonları sonucu da OH[•] üretilmektedir. Özellikle Fe²⁺ Fenton ve Haber tepkimeleri ile O₂^{•-} üreterek ve/veya H₂O₂ ile etkileşime girerek OH[•] üretilmesine katkıda bulunmaktadır ve otooksidasyona neden olmaktadır. Fenton kimyasal reaksiyonu ayrıca lipid peroksitlerin oluşumuna ve propagasyonuna neden olabilmektedir [73].

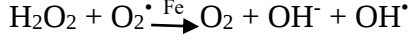
Fe²⁺’nin otooksidasyonu [73]:



Fenton tepkimesi [73]:



Haber-weiss tepkimesi [73]:



2.12.3. Hidrojen peroksit radikali (H_2O_2)

Hidrojen peroksit radikali (H_2O_2), süperoksit radikaline iki elektron eklenmesi veya bir elektron transferi ile meydana gelebilmektedir. Ayrıca D-amino asit oksidaz ve glikolat oksidaz ile de direkt oluşabilmektedir [75].

2.12.4. Hidroperoksil radikali ($\text{HO}_2^\bullet$)

Düşük pH (pKa 4.8) değerinde süperoksit radikalinin protonlanmasıyla meydana gelmektedir ve çok kuvvetli bir oksidandır [75].

2.12.5. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyona girmesinin sonucunda oluşabileceği gibi süperoksit radikalinin nitrik oksit ile reaksiyona girmesi sonucunda da meydana gelmektedir [75].

2.13. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)

Nitrik oksit (NO)

Endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) normal olarak, L-arjininin L-sitrüline dönüşümünü katalize ederek potansiyel bir vazodilatör olan nitrik oksit (NO) üretmektedir ve bu süreçte kofaktör tetrahidropterinin (BH_4) varlığı gerekmektedir. Bununla birlikte, L-arginin veya BH_4 'ün yokluğunda, eNOS, yaşlanma ve kardiyovasküler hastalıklarda artan ROS üretimi ile ilişkili olan ve “eNOS ayrışması” olarak adlandırılan bir mekanizmayla $\text{O}_2^{\bullet-}$ üretebilmektedir [28].

Ksantin oksidaz ise, nitrit indirgemesi aracılığıyla peroksinitrit (OONO^-) ve NO üretimine dahil olmaktadır [73].

2.14. Sitokinler

Sitokinler hücrel düzenleyici olarak görev alan antikor olmayan proteinlerdir [87, 88]. Özel hücreler tarafından uyarılara cevap olarak salgılanmakta ve hücrelerin davranışlarını düzenlemektedirler [87].

Sitokin üretimi genellikle geçici olmaktadır ve sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Çoğu sitokinin yüksek biyolojik aktivitesine bağlı olarak vücut sıvılarındaki homeostatik konsantrasyonları düşüktür; birçoğunun konsantrasyonları picomolar seviyelerdedir. Bununla birlikte, gerektiğinde sitokinlerin konsantrasyonu 1.000 kata kadar artabilmektedir. Sağlıklı bireylerde sitokinler vücut sıvısında veya dokularda saptanamaz seviyelerde veya pg/mL konsantrasyonlarında bulunmaktadır. Yüksek sitokin konsantrasyonları, enflamasyon ya da hastalık ilerlemesi ile ilişkili sitokin yollarının aktivasyonuna işaret etmektedir [89]. İnflamasyondaki fizyolojik rolleri ve sistemik inflamatuvar durumlardaki patolojik rolleri gittikçe daha da aydınlatılmaktadır [90].

Sitokinler, yüksek seviyede lokalize ortamlarda, araçlar ve modülatörler olarak hareket etmektedir. İmmünolojik yanıtları, hematopoetik gelişimi, hücreden hücreye iletişimi ve ayrıca enfeksiyöz ajanlara ve inflamatuvar uyaranlara karşı konukçu tepkilerini de regüle etmektedir. Birbirleriyle additif, sinerjistik veya antagonistik olabilen veya bir sitokin bir başkası tarafından indüklenmesini içerebilen karmaşık yollarla etkileşime girebilmektedirler [89].

Sitokinler kaynaklarına ve fonksiyonlarına göre çok farklı kategoriler halinde sınıflanabilmektedir. Fakat farklı hücreler tarafından üretilmeleri ve birçok hücreye etki etmeleri göz önünde bulundurulduğunda kategorizasyonda sınırlamalar yaşanacağı dikkate alınmalıdır [88].

Kökenlerine göre sitokinler aşağıda verildiği şekilde sınıflanmaktadır [88];

1. Monokinler: Tek çekirdekli fagositik hücrelerden üretilen sitokin grubu

2. Lenfokinler: Aktive lenfositlerden (özellikle Th hücrelerinden) üretilen sitokin grubu
3. İnterlökinler: Mediatör olarak lökositler arasında hareket eden sitokin grubu
4. Kemokinler: Lökosit göçünden sorumlu sitokin grubu

Sitokinler aktivitesine göre ise otokrin (sitokin salgılayan hücrenin kendisi), parakrin (yakında olan bir hücre) ve endokrin (dolaşımda uzak bir hücre) olarak sınıflandırılmaktadır [88].

İmmun yanıt oluşturan sitokinler ise doğal bağışıklığın mediatörleri (Tümör nekroz faktör - α (TNF- α), İnterlökin-1 (IL-1) İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-10 (IL-10), İnterlökin-12 (IL-12), Tip I interferonlar (IFN- α , IFN- β), İnterlökin- γ (INF- γ), Kemokinler), kazanılmış immüitenin mediatörleri (İnterlökin-2 (IL-2), İnterlökin-4 (IL-4), İnterlökin-5 (IL-5), Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)) ve hematopoez stimülatörleri (İnterlökin-17(IL-17)) olarak kategorize edilmektedirler [88, 91].

Aşağıda Çizelge 2.12’de sitokin türlerinin özellikleri ile ilgili kısaca bilgiler verilmiştir.

Çizelge 2.12. Sitokin türleri ve genel özellikleri [88-91]

Doğal Bağışıklık Mediatörleri	Özellikleri
TNF- α	-Akut inflamasyonda önemlidir. -İnflamatuvar lökositlerin mikropları öldürecek şekilde aktive olmasını sağlar. -Virüslere karşı koruyucu etki gösterir. -IL-6 ile birlikte sinerjist bir şekilde çalışır ve IL-6'nın dolaşıma geçmesini aktive eder.
IL-1	-Etkisi TNF-α ile benzerdir. -T hücrelerin aktivasyonunda görev alır. -Karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezinin artmasına neden olur.
IL-6	-Akut faz yanıtına katkı sağlayan birden fazla plazma proteininin karaciğer tarafından sentez edilmesinde rol oynar. -B lenfositlerinin immunoglobulin salgılamasında IL-6 kofaktör olarak rol alır.
IL-10	- Aktive edilmiş makrofajlar tarafından TNF-a, IL-6 ve IL-1 gibi enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe eder. -INF-γ'nin üretimini inhibisyonunu sağlar.
IL-12	-INF-γ'nin üretimini aktive eder. -IL-2 ile birlikte sinerjist bir şekilde çalışır. -Doğal öldürücü hücrelerin sitotoksik etkisinin artırılmasında rol oynar.
Tip 1 interferonlar (IFN- α , IFN- β)	-Hücrelerde viral üremeyi inhibe eder ve doğal öldürücü hücrelerin aktivasyonunu sağlar.
INF- γ	-Fagositlerin güçlü aktivatörüdür. -T hücrelerinin, makrofajların aktivasyonunu sağlamasına yardımcı olur. -T ve B lenfositlerin farklılaşmasını sağlar. -Nötrofillerin aktivasyonundan sorumludur.
Kemokinler	-İmmün yanıtları regüle etmek için bağışıklık sisteminin birçok hücresi (nötrofiller, monositler, makrofajlar, B ve T hücreleri) tarafından üretilen yüksek derecede lokalize çözünür sinyal proteinleridir. -Enfeksiyon olan bölgelere lökositlerin yönlendirilmesini sağlar ve lenfosit trafiğine hangi hücrenin nereye gideceğini belirleyerek yardımcı olur.

Çizelge 2.12. (devam) Sitokin türleri ve genel özellikleri [88-91]

Kazanılmış immünitenin mediatörleri	
IL-2	-Doğal öldürücü hücrelerin büyümesini aktive eder. -Doğal öldürücü hücrelerin ve monositlerin aktivasyonunda görev alır. -INF-γ'nin sentezini aktive eder. -B lenfositlere etki eder ve bu yolla büyüme faktörü ve antikor sentezini uyarır.
IL-4	-Makrofajların aktive olmasını inhibe edici etki gösterir. -T hücrelerin büyümesini ve ayrışmasını sağlar. -Eozonofil ve monositlerden zengin inflamatuvar reaksiyonların başlatılmasında görevlidir.
IL-5	-Eozonofillerin büyümesini ve farklılaşmasını sağlar ve olgun eozonofillerin aktivasyonunda görev alır.
TGF- β	-T ve B hücrelerinin çoğalmasını engeller ve makrofajların aktive olmasını inhibe edici görev üstlenir. -B hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında rol oynar. -İmmunoglobulin üretimini inhibe eder.
Hematopoez stimütörleri	
IL-17	-Th17 hücreleri tarafından üretilen IL-17'nin otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir.



3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Örneklem ve Etik Kurul

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (kod numarası: G.Ü. ET-18.078) alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde (GÜDAM) deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce rat sayısının doğru bir şekilde tespit edilebilmesi için güç analizi yapılmıştır. Çalışmada %5 birinci tip hata, 0,50 standardize etki büyüklüğü, 1 gruplara dağılım oranı ve %80 güç ile gerekli minimum örneklem büyüklüğü toplam 60 olarak G-Power programı yardımı ile hesaplanmıştır.

3.2. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan 2-3 aylık, toplam 180-200 g ağırlığında, 60 adet yetişkin erkek wistar rat, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilmiştir. Ratlar çalışma süresi boyunca bu merkezde oda sıcaklığı 25 ± 1 °C'de, %50-55 nemde ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık periyodunda, tel kapakları olan plAST düzeyiik kafesler içerisinde, üzeri hava alabilecek şekilde tutulmuştur. Ratların suya erişimlerinin kolay olması için dolu suluklar devamlı olarak kafeslerinin üzerinde bulundurulmuştur. Çalışma süresince ratlar laboratuvar koşulları altında standart kuru pelet yem ve su ile ad libitum şekilde beslenmiştir. Ayrıca çalışma süresince kafesler üç günde bir düzenli olarak temizlenmiştir. Çalışma başlangıcında kuyruktan alınan kan ile ratların başlangıç kan glukoz değerleri glukometre ile vücut ağırlıkları ise hassas terazi ile ölçülmüştür.

3.3. Deney Protokolü

Çalışmada kullanılan 60 adet yetişkin erkek wistar ratın ağırlıkları çalışmaya başlamadan önce hassas terazi ile ölçülmüştür. Ratların ortalama ağırlıkları 135 g olarak hesaplanmıştır. Fakat ratların diyabet yapılabilmesi için ortalama ağırlıklarının 160-170 g olması gereklidir. Çalışmada diyabet yapılacak 30 adet ratın ağırlıklarının bu ortalamaya gelmesi 7 gün sürmüştür ve bu süre boyunca 60 adet rat standart yem ve su ile beslenmiştir. Ratlara bu sürede ek hiçbir işlem uygulanmamıştır.

3.4. Streptozosinle (STZ) Ratlarda Diyabet Oluşturulması

Yukarıda belirtilen 7 günlük sürenin sonunda istenilen ağırlığa gelen 60 adet yetişkin erkek Wistar rat her gupta 30 rat olacak şekilde randomize olarak 2 ayrı guba ayrılmıştır. Kontrol grubu (n=30) dışındaki 30 rat bir gece öncesinde aç bırakılmıştır. Bu süre sonunda 2,1 g (10 mmol) sitrik asit monohidrat ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) saf suda çözündürülmüştür ve üzerine 2,94 g (10 mmol) trisodyum sitrat dehidrat ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) eklenmiştir. Karışım hacmi 1 litreye tamamlanarak pH 4,5'e ayarlanmıştır. Ratlara ayarlanan 0.1 M sitrat tamponu içerisinde (pH: 4,5) çözündürülmüş 65 mg/kg streptozosin (STZ) intraperitoneal yol ile uygulanmıştır. Bu uygulama ile birlikte ratların diyabetik olmaları için 5 gün beklenmiştir. Beş günün sonunda ratların kuyruk ucundan alınan kapiller kanda kan glukoz değerleri glukometre ile ölçülerek sadece 17 ratta kan glukoz düzeyi 200 mg/dL üzerinde görülmüştür ve diyabetik guba eklenmiştir. Diyabetik guptaki ratlar gözlem altında tutularak diğer ratların kan glukoz düzeyinin yükselebileceği düşünülmüştür ve 5 gün daha beklenmiştir. Beş günün sonunda diyabet olmayan 13 ratın kan glukoz düzeyikuyruk ucundan alınan kapiller kandan tekrar glukometre ile ölçülmüştür. Bu ölçüm sonunda 4 ratın kan glukoz düzeyi 200 mg/dL üzerindeki görülmüştür ve bu ratlarda diyabetik guba eklenmiştir. Daha sonra kan glukoz düzeyi 200 mg/dL altında görülen 9 rata 0.1 M sitrat tamponu içerisinde (pH: 4.5) çözündürülmüş 65 mg/kg streptozosin (STZ) intraperitoneal yol ile tekrar uygulanmıştır ve 5 gün beklenmiştir. Beş gün sonunda bu 9 ratın kan glukoz değerleri kuyruk ucundan alınan kapiller kanda glukometre ile tekrar ölçülmüştür ve kan glukozlarının 200 mg/dL üzerinde olduğu görülmüştür. Bu ratlarda diyabetik rat grubuna eklenmiştir. Bu süreçte kontrol ve diyabetik rat grubu standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmişlerdir.

3.5. Deney Grubu

Diyabetik rat grubu kesinleştirildikten sonra kontrol ve diyabetik rat grubu kendi içerisinde randomize bir şekilde 3 farklı guba ayrılmıştır. Randomize bir şekilde ayrılan kontrol gruplarında, her gupta 10 rat olacak şekilde planlama yapılırken, diyabetik olan gruplarda tatlandırıcı alacak ratlarda herhangi bir ölüm olma olasılığında çalışma sonuçlarının daha anlamlı çıkması açısından diyabetik kontrol grubunda 6, diyabetik aspartam ve diyabetik stevia grubunda ise 12 rat ile çalışma sürdürülmüştür. Çalışma toplam olarak 57 gün sürmüştür. Çalışma süresince diyabetik aspartam grubundan 2 rat ölmüştür ve 60 rat ile başlanan çalışma 58 rat ile sona ermiştir.

Aşağıda kontrol ve diyabetik rat gruplarının ayrıntılı bir şekilde sınıflandırılması ve verilen tatlandırıcıların türü, miktarı ve süresi belirtilmiştir;

1. Sağlıklı kontrol grubu (n=10): Bu gruba 57 gün boyunca herhangi bir işlem uygulanmamıştır ve bu grup bu sürede yalnızca standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir.
2. Kontrol aspartam grubu (n=10): Bu grup çalışma başlangıcındaki 22 gün boyunca standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir. Sonrasındaki 5 hafta boyunca ise 250 mg/kg/gün aspartam ile birlikte standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir.
3. Kontrol stevia grubu (n=10): Bu grup çalışma başlangıcındaki 22 gün boyunca standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir. Sonrasındaki 5 hafta boyunca ise 250 mg/kg/gün stevia rebaudiana ekstratı ile birlikte standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir.
4. Diyabetik kontrol grubu (n=6): Bu grup çalışma sürecindeki 57 gün boyunca yalnızca standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir.
5. Diyabetik aspartam grubu (n=12): Bu grup çalışma başlangıcındaki 22 gün boyunca standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir. Sonrasındaki 5 hafta boyunca ise 250 mg/kg/gün aspartam ile birlikte standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir.
6. Diyabetik stevia grubu (n=12): Bu grup çalışma başlangıcındaki 22 gün boyunca standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir. Sonrasındaki 5 hafta boyunca ise 250 mg/kg/gün stevia rebaudiana ekstratı ile birlikte standart pelet yem ve su ile ad libitum bir şekilde beslenmiştir.

Ratlar tatlandırıcı verilmeye başlandıktan sonraki 5 hafta boyunca haftada iki kez tartılmıştır ve verilecek olan tatlandırıcı dozu ratların ortalama ağırlıklarına göre hazırlanmıştır.

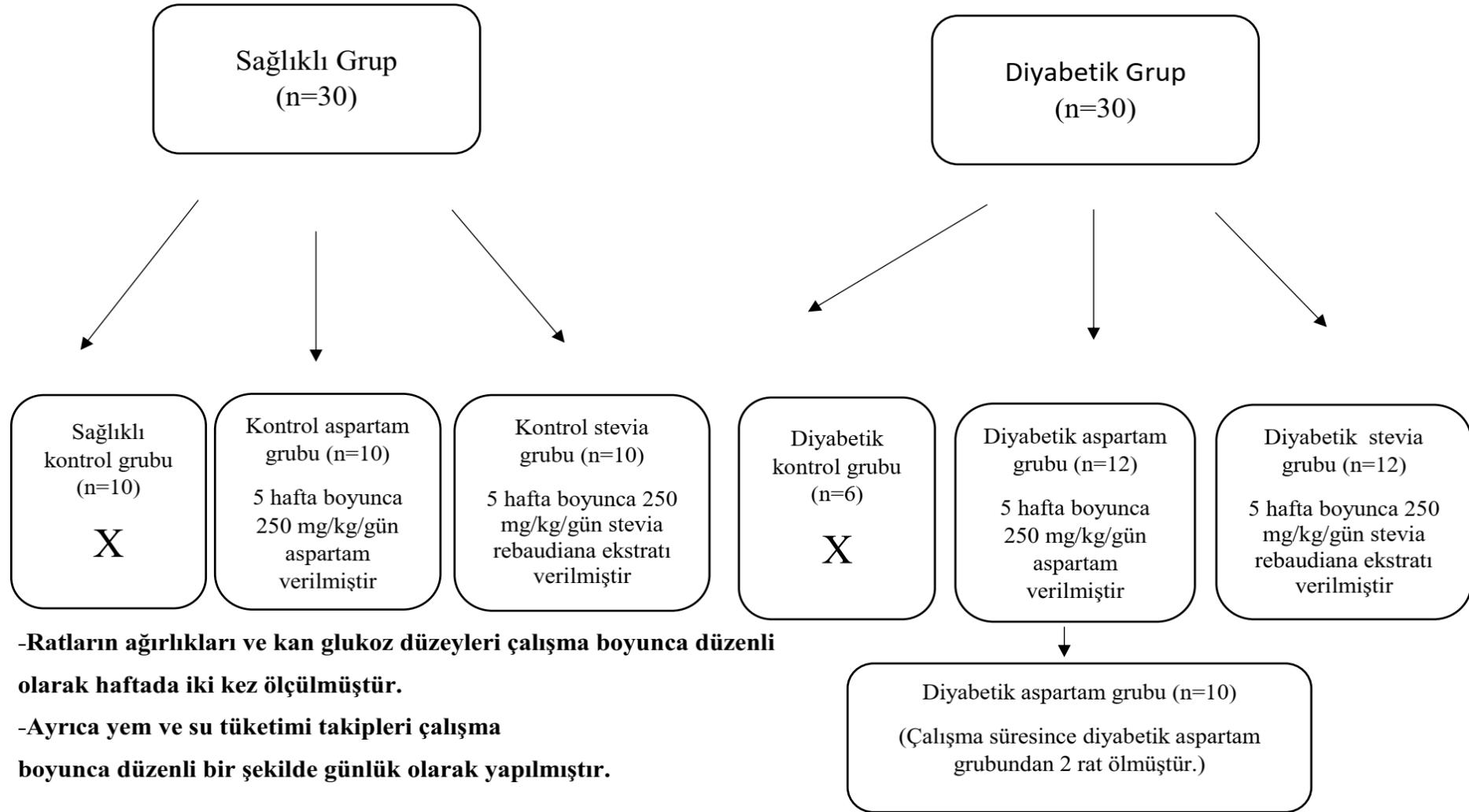
Aşağıda Resim 3.1’de ratlara verilen aspartam ve stevia dozunun ayarlanma şekli verilmiştir.



Resim 3.1. Ratlara verilen aspartam (a) ve stevia (b) dozunun ayarlanma şekli

Ayrıca tatlandırıcı verilmeye başlandıktan sonraki 5 hafta süresince sağlıklı kontrol ve diyabetik kontrol gruplarının kafeslerinde tek bir adet suluk kullanılırken, aspartam ve stevia alan grupların kafeslerinde iki adet suluk kullanılmıştır. Birinci suluk ratların yalnızca su ihtiyacını karşılamak için kullanılırken, ikinci suluğa 50 mL su içerisinde verilmesi planlanan 250 mg/kg/gün tatlandırıcı çözündürülerek eklenmiştir. Ratların gün içerisinde tatlandırıcı tüketimlerinden emin olmak için rat kafesinin üzerine önce tatlandırıcılı suluk konulmuştur ve bu suyun tüketimi beklenmiştir. Tatlandırıcılı suluk içerisindeki su bittikten sonra ikinci suluk kafesten alınarak, birinci suluk kafese takılmıştır. Suluk değişimleri günlük olarak yapılmıştır.

Deney grupları, gruplardaki rat sayıları ve tatlandırıcıların verilme miktarı Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Deney protokolü

3.6. Ratlara Aspartam ve Stevia'nın Günlük Verilme Dozunun İnsanlara Verilen Aspartam Dozuna Göre Ayarlanması

Avrupa Besin Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve FAO / WHO Besin Katkı Maddeleri Uzmanlar Komitesi (JECFA) önerilerine göre insanlarda aspartamın ADI değeri 40 mg/kg/gün olarak bildirilmiştir [51,53]. İnsan ve hayvanlardaki doz dönüşümünün vücut yüzey alanına dayalı dönüşüm faktörleri (Km faktörü) kullanılarak yapılması önerilmiştir ve aşağıda aspartamın belirtilen formül uyarınca ratlara verilmesi gereken dozu ayarlanmıştır [92].

Hayvan eşdeğer dozu (mg/kg) = İnsan dozu (mg/kg) x Km faktörü = 40 mg/kg x 6.2 (ratlar için verilen dönüşüm faktörü)=248 mg/kg/gün aspartam

Yukarıdaki formülasyona göre ratlara 250 mg/kg/gün aspartam verilmiştir. Stevia ekstratı, aspartam ile aynı tatlılık derecesine sahip olduğu için ve doz eşleştirmesi yapılarak daha geçerli bir sonuç elde edilebilmesi açısından, benzer çalışmalar temel alınarak stevia ekstratı günlük verilen dozuda aspartam ile eş tutulmuştur [16, 18, 93].

3.7. Ağırlık ve Kan Glukoz Düzeyi Ölçümleri

Ratların ağırlık ölçümü düzenli olarak çalışma başlangıcında ve devamında haftada iki kez pazartesi ve cuma günleri elektronik terazi ile yapılmıştır. Ratların kan glukoz düzeyi ölçümü de ağırlık ölçümü ile aynı şekilde düzenli olarak çalışma başlangıcında ve devamında haftada iki kez pazartesi ve cuma günleri kuyruk ucundan alınan kapiller kandan glukometre (Accu-Check Go, Bayer) ile ölçülmüştür.

3.8. İnsülin Çözeltilisinin Hazırlanması

Çalışma başlangıcında ve devamında haftada iki kez tüm rat gruplarının kuyruk ucundan alınan kapiller kanda kan glukoz değerleri glukometre ile ölçülmüştür. Bu ölçümler sırasında kan glukoz düzeyi 600 mg/dL üzerinde çıkan ratlara insülin çözeltisi hazırlanmıştır. Hızlı etkili insülin olan humalogdan 1 mL (100 IU) alınmış ve 199 mL serum fizyolojik içerisinde çözdürülmüştür. Her mililitresinde 0,5 IU insülin bulunan çözelti hazırlanmıştır. İnsülin yapılmadan önce ratların o anki ağırlıkları tartılarak intraperitoneal (i.p.) olarak ratlara 0,5 IU/kg dozunda insülin yapılmıştır. Çalışmanın 1. haftası diyabetik aspartam grubundan 6 rata, diyabetik stevia grubundan 1 rata, çalışmanın 2. haftası diyabetik aspartam grubundan

5 rata, diyabetik stevia grubundan 2 rata, çalışmanın 3. haftası diyabetik aspartam grubundan 7 rata, çalışmanın 4. haftası diyabetik aspartam grubundan 3 rata, diyabetik stevia grubundan 1 rata, çalışmanın 5. haftası ise diyabetik aspartam grubundan 5 rata, diyabetik stevia grubundan 2 rata insülin yapılmıştır. Kontrol grubundaki ratların kan glukozları çalışma boyunca 600 mg/dL'nin üzerine çıkmadığı için insülin yapılmamıştır. İnsülin yapılma nedeni hayvanlardaki ölüm riskini en aza indirmek içindir.

3.9. Yem ve Su Tüketimi Takibi

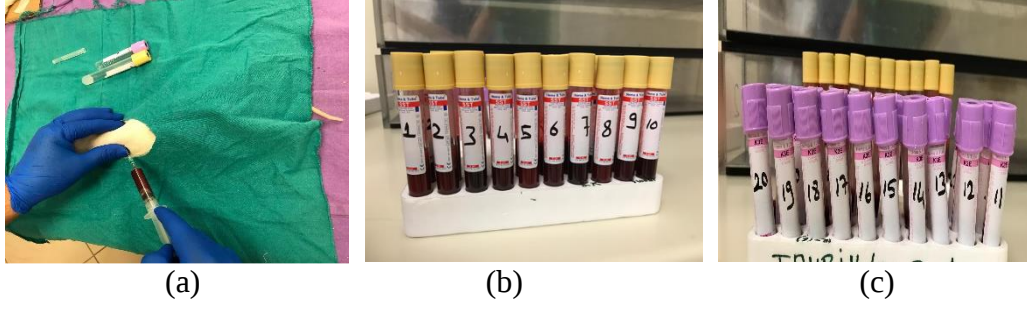
Ratlar 57 günlük çalışma süresince laboratuvar koşulları altında standart kuru pelet yem ve su ile ad libitum şekilde beslenmiştir. Yem ve su tüketimi takibi tatlandırıcı verildikten sonraki 35 gün boyunca hergün düzenli olarak yapılmıştır. Rat yemi temel besin maddeleri EK-3'de Çizelge E.1'de verilmiştir.

3.10. Ratların Diseksiyonu

Elli yedi günlük çalışma sonunda 12 saatlik açlığın ardından 45 mg/kg Ketamin (Alfamine %10) + 5 mg/kg Ksilazin (Alfazyne %2) intramuskuler (IM) yolla uygulanarak hayvanlar genel anesteziye alınmıştır ve kalplerinin atrium kısmından kan alınarak ratlar kurban edilmiştir.

3.11. Ratların Kan Örneklerinin Alınması

Ratların karın ve göğüs bölgesi bistüri ile açılmıştır, diyafram zarı kesilmiştir ve kalbe ulaşılmıştır. On ml'lik enjektör ile kalplerinin atrium kısmından 8-10 ml kadar kan örnekleri alınmıştır ve ratlar kurban edilmiştir. Alınan kanlar plazma analizi için EDTA'lı tüplere, serum analizi için jelli vakumlu tüplere konulmuştur. Tüplere alınan kanlar 25 dakika süreyle 3000 rpm'de +4°C'de santrifüj edilmiştir. Kanın santrifüj yapılarak ayrılan serum ve plazma kısımları, mikropipet ile çekilerek ependorf tüplere konulmuştur, üzerleri etiketlenmiştir ve yapılacak analizler için - 80°C'de saklanmıştır. Aşağıda Resim 3.2'de ratların kalplerinin atrium kısmından kan alınması ve tüplere konulması verilmiştir.



Resim 3.2. Ratların kalplerinin atrium kısmından kan alınması (a) ve tüplere konulması (b-c)

3.12. Doku Örneklerinin Alınması

Elli yedi gün sonunda ratlar sakrifiye edildikten sonra karaciğer, böbrek, pankreas, yağ dokusu ve beyin dokusu ağırlıkları elektronik hassas terazi ile ölçülmüştür ve kayıt altına alınmıştır. Tüm dokular ileriki çalışmalar için sıvı azota alınarak dondurulmuştur ve -80°C'de muhafaza edilmiştir. Aşağıda resim 3.3'de ratlardan doku örneklerinin alınma şekli ve alınan doku örnekleri verilmiştir.



Resim 3.3. Ratlardan doku örneklerinin alınma şekli (a) ve alınan doku örnekleri (b)

3.13. Gereçler

3.13.1. Deneyde kullanılan cihazlar

Analizler sırasında Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde bulunan derin dondurucu (-80 °C), soğutucu (+4 °C), santrifüj, hassas elektronik terazi, otomatik pipetler kullanılmıştır. Analizlerin yapıldığı özel

laboratuvarında ise ELISA okuyucusu ve alkalayıcısı kullanılmıştır. Ayrıca ratların kan glukoz düzeyini ölçmek için glukometre (Accu-Check Go, Bayer) kullanılmıştır.

3.13.2. Deney kimyasalları

Çalışmada tatlandırıcı olarak %99 saflıkta ticari aspartam ve stevia rebaudiana ekstratı (Rebaudiozit A) kullanılmıştır. Ratların diyabetik yapılması için streptozosin (1 g, S0130) kullanılmıştır. Stevia rebaudiana ekstratı Fibrella firmasından, aspartam Prinova firmasından, streptozosin ise Sigma Aldrich firmasından alınmıştır.

Diyabetik olan ratların kan glukoz değeri 600 mg/dL üzerinde çıkanların ise glukoz seviyelerini dengelemek için humolog insülin kullanılmıştır. Kan biyokimyasal parametrelerinin ölümü ticari kitler kullanılarak yapılmıştır.

Analizler için rat Glukoz ELISA kiti (Rel Assay), rat insülin ELISA kiti (BT LAB), rat HbA1c ELISA kiti (BT LAB), rat ALT ELISA kiti (Rel Assay), rat AST ELISA kiti (Rel Assay), rat TNF- α ELISA kiti (BT LAB), rat IL-6 ELISA kiti (BT LAB), rat IL-1 ELISA kiti (BT LAB), rat toplam antioksidan kapasite (TAS) ELISA kiti (Rel Assay), rat toplam oksidan kapasite (TOS) ELISA kiti (Rel Assay) ve biyokimya cihazı (Mindray, BS300) kullanılmıştır.

3.14. Deney Prosedürü

Glukoz, ALT ve AST düzeylerinin tayini için Rel Assay marka ELİSA kitleri kullanılmıştır. Bu parametrelerin analiz sonuçları, Mindray marka BS300 model tam otomatik biyokimya cihazı kullanılarak alınmıştır.

İnsülin, HbA1c, TNF- α , IL-6, IL-1 düzeylerinin tayini için kullanılan ELİSA kitlerinin deney prosedürü ise aşağıda maddeler şeklinde verilmiştir:

1. Tüm ayıraçlar, standart çözeltiler ve numuneler tarif edildiği şekilde hazırlanmıştır. Ayıraları kullanmadan önce oda sıcaklığında olduklarına emin olunmuştur ve deney oda sıcaklığında yapılmıştır.
2. Deney için kaç şerit gerekeceği belirlenmiştir ve şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirilmiştir.

3. Kuyucuklu plakadaki standart kuyucukların içine standart 50µl konulmuştur. Ayarlı çözelti, biyotinlenmiş antikor içerdiği için kuyucuklara antikor eklenmemiştir.
4. 40µl numune, numune kuyucuklarına konulmuştur ve 10µl anti-ALT antikor eklenmiştir. Ardından hem numune hem de standart kuyucuklarına streptavidin-HRP konulmuştur. İyice karıştırılmıştır. Plakanın üstü kapatılmıştır ve 37°C’de 60 dakika inkübe edilmiştir.
5. Plaka açılmıştır ve 5 kere yıkama çözeltisiyle yıkanmıştır. Her yıkamada kuyucukların içine en az 0.35 ml PBS doldurulmuştur ve 30 saniye ile 1 dakika arasında bekletilmiştir. Otomatik yıkamada, tüm kuyucuklar aspire edilmiştir ve kuyucuklar PBS ile doldurularak 5 defa yıkanmıştır. Kâğıt havlu ya da diğer emici maddelerle plaka kurutulmuştur.
6. Tüm kuyucuklara önce 50µl A substratı çözeltisi, ardından 50µl B substratı çözeltisi konulmuştur. Yeni bir kapakla kapatılan plaka 37°C’de 10 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir.
7. Her kuyucuğa 50µl durdurma çözeltisi konulmuştur ve mavi rengin, hızla sarıya dönmesi gözlenmiştir.
8. Durdurma çözeltisini ekledikten sonraki 10 dakika içinde 450 nm’ye ayarlı mikropilaka okuyucu kullanılarak her kuyucuğun optik yoğunluğu belirlenmiştir.

3.15. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

Elli yedi günlük çalışma sonunda ratların kalplerinin atrium kısmından alınan kan örneklerinin biyokimyasal analizi özel bir laboratuvarında yapılan 7 günlük çalışma sonucunda tamamlanmıştır.

Kanın santrifüjü sonucu elde edilen serum kısmından glikoz, HbA1c, ALT (alaninaminotransferaz), AST (aspartataminotransferaz), TNF-alfa, IL-1, IL-6, TAS (toplam antioksidan kapasitesi), TOS (toplam oksidan kapasitesi) düzeyi ölçümleri, plazma kısmından ise insülin hormonu ölçümü ticari kitler kullanılarak yapılmıştır.

3.16. Antioksidan ve Oksidan Parametrelerin Ölçüm Yöntemleri

3.16.1. Toplam antioksidan kapasite (TAS) ölçümü

Ratlardan alınan kanın serum kısmından toplam antioksidan kapasite (TAS) Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak bakılmıştır. Reaksiyon hızı TAS ölçüm analizleri için geleneksel bir standart olarak kullanılan trolox ile kalibre edilmiştir ve çıkan sonuçlar mmol Trolox equivalent/lit olarak belirtilmiştir [94].

3.16.2. Toplam oksidan kapasite (TOS) ölçümü

Ratlardan alınan kanın serum kısmından toplam oksidan kapasite (TOS) Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak bakılmıştır. Reaksiyon hızı hidrojen peroksit ile kalibre edilmiştir ve çıkan sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/lit olarak belirtilmiştir [81].

3.16.3. Oksidatif stres indeksi (OSI)

Oksidatif stres indeksi değeri toplam oksidan kapasite (TOS) seviyelerinin, toplam antioksidan kapasite (TAS) seviyesine oranının yüzde derecesi olarak tanımlanmıştır [95].

OSI (arbitrary unit (AU)): $\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/lit}) / (\text{TAS (mmol Trolox equivalent /lit)} \times 10)$ [95].

3.17. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edilmiştir. Elde edilen değerlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi, gruplar içi karşılaştırılmasında ise tekrarlı varyans analizi kullanılmıştır. Kategorik verilerin analizinde ise kıkare testi kullanılmıştır. Önem düzeyi $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

3.18. Çalışma Sınırlılıkları

Çalışma başlangıcında ve devamında haftada iki kez tüm rat gruplarının kuyruk ucundan alınan kapiller kanda kan glukoz düzeyi ölçüldükten sonra kan glukoz düzeyi 600 mg/dL

üzerinde çıkan ratlara ölüm riskini azaltmak için insulin yapılması çalışma sınırlılıkları içerisinde yer almaktadır.



4. BULGULAR

Bu çalışma, 60 adet yetişkin erkek Wistar rat üzerinde ratlar diyabetli ve sağlıklı olarak ayrılarak yürütülmüştür.

4.1. Ratların Yem (g), Su (mL) Tüketimlerinin ve Enerji (kkal) Alımlarının Değerlendirilmesi

Ratların gruplara göre haftalık yem ve su tüketim ortalamaları Çizelge 4.1’de ve Şekil 4.1-4.2’de verilmiştir. Ratların 1., 2., 3. ve 5. hafta yem tüketim ortalamaları değerlerinde gruplara göre fark saptanmamıştır ($p>0,05$). (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1).

Dördüncü hafta yem tüketim ortalamasında gruplara göre fark bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik kontrol grubunun yem tüketim ortalaması, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (sırasıyla; $45,5 \pm 13$ g/gün, $20,2 \pm 1,5$ g/gün) ($p<0,05$). (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1).

Toplam yem tüketim ortalama değerlerinde ise gruplara göre bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik kontrol grubunun yem tüketim ortalaması, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla; $34,6 \pm 0,4$ g/gün, $21,1 \pm 2,1$ g/gün) ($p<0,05$). Her bir grup kendi içinde incelendiğinde ise yem tüketim ortalama değerlerinde zamansal olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1).

Tüm haftalarda grupların su tüketim ortalamaları arasında anlamlı fark belirlenmiştir ($p<0,001$). Diyabetik rat grupları sağlıklı gruplara göre daha fazla su tüketmişlerdir. Buna göre, 1., 2., 3., ve 4. haftalarda diyabetik kontrol grubunun su tüketim ortalaması (sırasıyla; $100,2 \pm 8,1$ mL/gün, $133,1 \pm 22,3$ mL/gün, $146,2 \pm 3,1$ mL/gün, $178,7 \pm 20,1$ mL/gün) sağlıklı kontrol grubuna (sırasıyla; $36 \pm 2,8$ mL/gün, 29 ± 4 mL/gün, $25,3 \pm 3,4$ mL/gün, $30,7 \pm 1$ mL/gün) göre, diyabetik aspartam grubunun su tüketim ortalaması (sırasıyla; $99,6 \pm 11,8$ mL/gün, $126,4 \pm 17,2$ mL/gün, $140,5 \pm 0,1$ mL/gün, $144,4 \pm 0,1$ mL/gün) kontrol aspartam grubuna (sırasıyla; $50,1 \pm 0,7$ mL/gün, $34 \pm 2,8$ mL/gün, $32,3 \pm 0,8$ mL/gün, $40,7 \pm 5,6$ mL/gün) göre, diyabetik stevia grubunun su tüketim ortalaması ise (sırasıyla; $96,9 \pm 10,8$ mL/gün, $148 \pm 16,4$ mL/gün, $147,7 \pm 10,1$ mL/gün, $155,1 \pm 0,1$ mL/gün) kontrol stevia grubuna ($46,5 \pm 3,5$ mL/gün, $38 \pm 1,3$ mL/gün, $42,2 \pm 1,1$ mL/gün, $57,2 \pm 0,1$ mL/gün) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0,001$). (Çizelge 4.1) (Şekil 4.2).

Beşinci hafta su tüketim ortalama değerlerinde de gruplara göre fark belirlenmiştir ($p<0,05$). Ancak sadece diyabetik kontrol grubunun su tüketim ortalaması, sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik aspartam ve stevia gruplarının su tüketim ortalamaları ile kontrol aspartam ve stevia gruplarının su tüketim ortalamaları arasında ise fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.1) (Şekil 4.2).

Her bir grup kendi içinde incelendiğinde ise su tüketim ortalama değerlerinde zamansal olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.1) (Şekil 4.2).



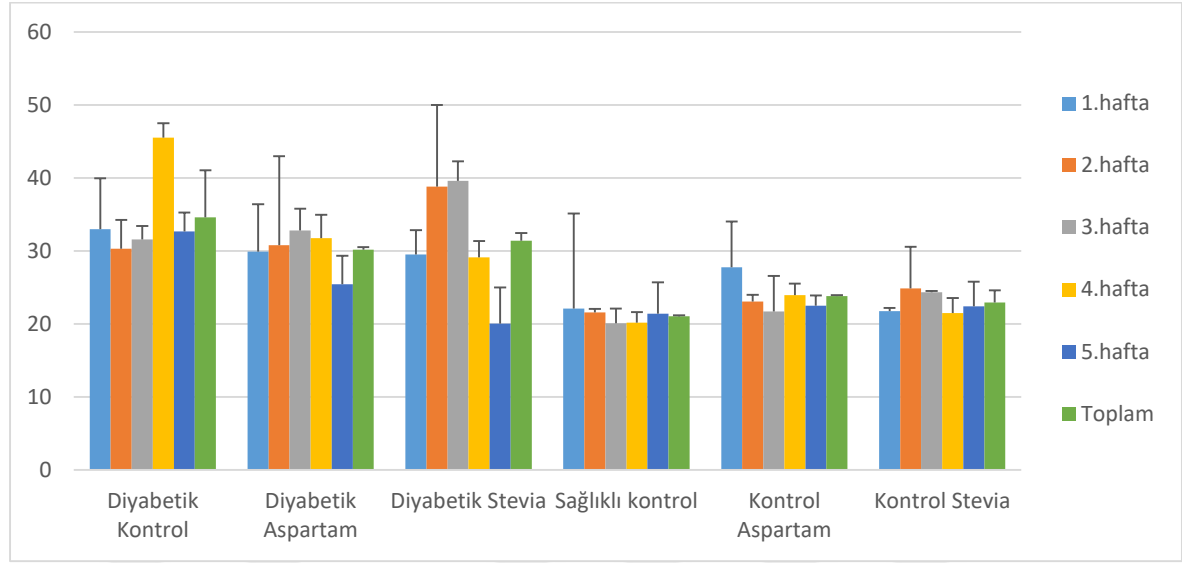
Çizelge 4.1. Ratların haftalara göre yem (g/gün) ve su (mL/gün) tüketim ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (SS) değerleri

Gruplar	Hafta					Toplam	p ¹
	1. hafta $\overline{\chi} \pm SS$	2. hafta $\overline{\chi} \pm SS$	3. hafta $\overline{\chi} \pm SS$	4. hafta $\overline{\chi} \pm SS$	5. hafta $\overline{\chi} \pm SS$		
Yem (g/gün)							
Diyabetik Kontrol (n=6)	33,0 ± 7,0	30,3 ± 6,5	31,6 ± 3,3	45,5 ± 13 ^b	32,7 ± 6,3	34,6 ± 0,4 ^b	0,502
Diyabetik Aspartam (n=10)	29,9 ± 4,0	30,8 ± 12,2	32,8 ± 11,2	31,8 ± 0,5 ^{ab}	25,5 ± 0,9	30,2 ± 5,7 ^{ab}	0,603
Diyabetik Stevia (n=12)	29,5 ± 1,8	38,8 ± 3,0	39,6 ± 2,7	29,1 ± 2,0 ^{ab}	20,1 ± 4,9	31,4 ± 0,1 ^{ab}	0,186
Sağlıklı kontrol (n=10)	22,1 ± 2,0	21,6 ± 3,2	20,1 ± 2,3	20,2 ± 1,5 ^a	21,4 ± 1,6	21,1 ± 2,1 ^a	0,317
Kontrol Aspartam (n=10)	27,8 ± 2,6	23,1 ± 3,9	21,7 ± 4,9	24,0 ± 4,3 ^{ab}	22,5 ± 1,4	23,8 ± 3,4 ^{ab}	0,255
Kontrol Stevia (n=10)	21,8 ± 6,4	24,9 ± 0,4	24,4 ± 1,1	21,5 ± 0,1 ^a	22,4 ± 0,1	23,0 ± 1,6 ^a	0,575
p ²	0,207	0,183	0,063	0,031*	0,074	0,018*	
Su (mL/gün)							
Diyabetik Kontrol (n=6)	100,2 ± 8,1 ^b	133,1 ± 22,3 ^b	146,2 ± 3,1 ^b	178,7 ± 20,1 ^c	191,7 ± 58,9 ^b	150,0 ± 9,1 ^c	0,351
Diyabetik Aspartam (n=10)	99,6 ± 11,8 ^b	126,4 ± 17,2 ^b	140,5 ± 0,1 ^b	144,4 ± 0,1 ^b	112,9 ± 49,6 ^{ab}	124,7 ± 4,1 ^b	0,499
Diyabetik Stevia (n=12)	96,9 ± 10,8 ^b	148,0 ± 16,4 ^b	147,7 ± 10,1 ^b	155,1 ± 0,1 ^{bc}	141,3 ± 12,4 ^{ab}	137,8 ± 10 ^{bc}	0,115
Sağlıklı kontrol (n=10)	36,0 ± 2,8 ^a	29,8 ± 4 ^a	25,3 ± 3,4 ^a	30,7 ± 1 ^a	36,6 ± 2,7 ^a	31,7 ± 1,3 ^a	0,267
Kontrol Aspartam (n=10)	50,1 ± 0,7 ^a	34,0 ± 2,8 ^a	32,3 ± 0,8 ^a	40,7 ± 5,6 ^a	58,9 ± 25,7 ^{ab}	43,2 ± 5,4 ^a	0,406
Kontrol Stevia (n=10)	46,5 ± 3,5 ^a	38,0 ± 1,3 ^a	42,2 ± 1,1 ^a	57,2 ± 0,1 ^a	59,8 ± 13,1 ^{ab}	48,8 ± 1,5 ^a	0,293
p ²	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,024*	<0,001*	

a-c: Her bir zaman dilimi içerisinde farklı harfe sahip gruplar arasında fark vardır, *p<0,05

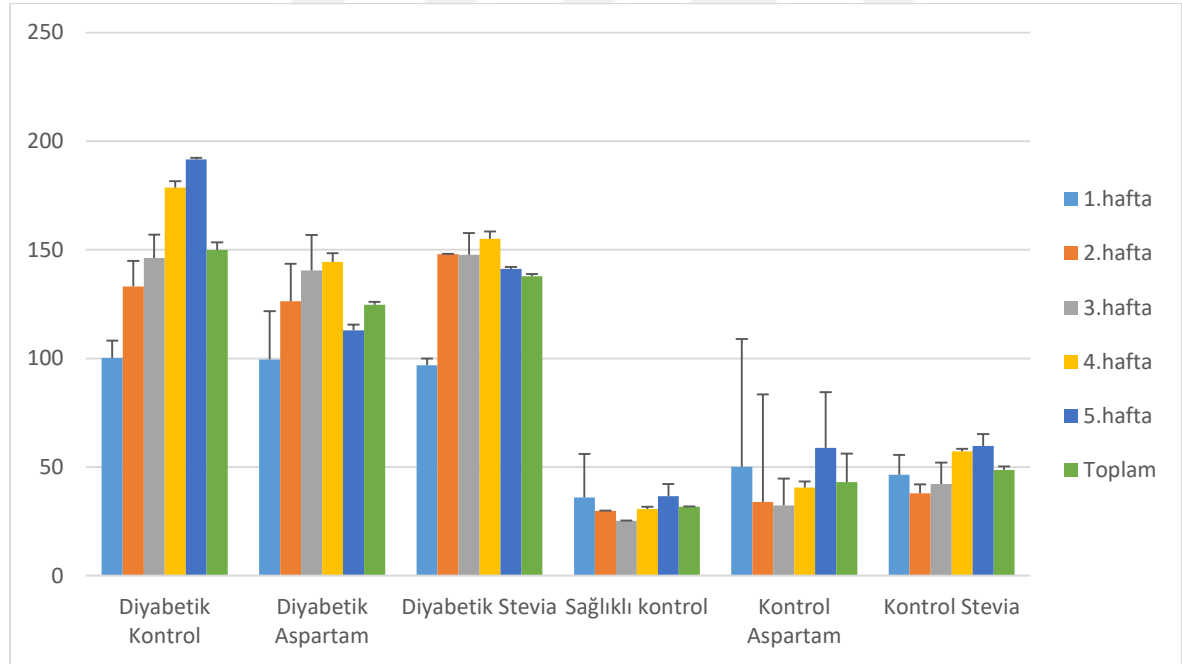
p¹: Haftalar arası; p²: Gruplar arası

Yem miktarı (g/gün)



Şekil 4.1. Ratların haftalara göre yem tüketimi (g/gün)

Su miktarı (mL/gün)



Şekil 4.2. Ratların haftalara göre su tüketimi (mL/gün)

Ratların gruplara göre haftalık enerji alım ortalamaları Çizelge 4.2’de ve Şekil 4.3’de verilmiştir. Birinci, 2., 3. ve 5. hafta enerji alımı ortalama değerlerinde gruplara göre farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Dördüncü hafta enerji alım ortalama değerlerinde ise gruplara göre fark bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik kontrol grubunun enerji alım ortalaması değeri, sağlıklı kontrol grubunun enerji alım ortalamasından anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (sırasıyla; $122,9 \pm 35,2$ kkal/gün, $54,5 \pm 4,1$ kkal/gün) ($p<0,05$). Toplam enerji alımı ortalama değerlerinde gruplara göre fark bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik kontrol grubunun enerji alım ortalaması, sağlıklı kontrol grubunun enerji alım ortalamasından anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (sırasıyla; $93,5 \pm 1,3$ kkal/gün, $56,9 \pm 5,7$ kkal/gün) ($p<0,05$) (Çizelge 4.2) (Şekil 4.3).

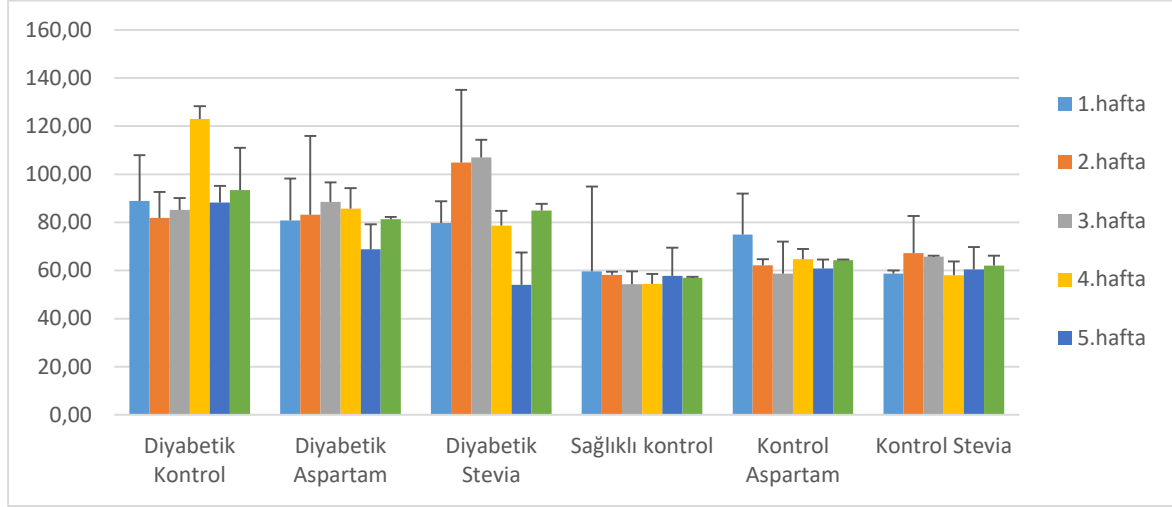
Çizelge 4.2. Ratların haftalara göre enerji (kkal/gün) alımları ortalamaları ($\bar{\chi}$) ve standart sapma (SS) değerleri

Gruplar	1. hafta $\bar{\chi} \pm SS$	2. hafta $\bar{\chi} \pm SS$	Hafta 3. hafta $\bar{\chi} \pm SS$	4. hafta $\bar{\chi} \pm SS$	5. hafta $\bar{\chi} \pm SS$	Toplam $\bar{\chi} \pm SS$	p^1
Diyabetik Kontrol (n=6)	$88,9 \pm 19$	$81,9 \pm 17,5$	$85,2 \pm 9,1$	$122,9 \pm 35,2^b$	$88,2 \pm 17$	$93,5 \pm 1,3^b$	0,502
Diyabetik Aspartam (n=10)	$80,8 \pm 10,7$	$83,2 \pm 32,8$	$88,5 \pm 30,2$	$85,7 \pm 1,4^{ab}$	$68,8 \pm 2,5$	$81,4 \pm 15,5^{ab}$	0,605
Diyabetik Stevia (n=12)	$79,7 \pm 4,9$	$104,8 \pm 8,2$	$107 \pm 7,3$	$78,6 \pm 5,4^{ab}$	$54,1 \pm 13,3$	$84,9 \pm 0,4^{ab}$	0,187
Sağlıklı Kontrol (n=10)	$59,7 \pm 5,3$	$58,1 \pm 8,6$	$54,3 \pm 6,1$	$54,5 \pm 4,1^a$	$57,8 \pm 4,3$	$56,9 \pm 5,7^a$	0,317
Kontrol Aspartam (n=10)	$74,9 \pm 7$	$62,2 \pm 10,4$	$58,7 \pm 13,4$	$64,6 \pm 11,7^{ab}$	$60,8 \pm 3,8$	$64,3 \pm 9,3^{ab}$	0,258
Kontrol Stevia (n=10)	$58,7 \pm 17,5$	$67,2 \pm 0,9$	$65,7 \pm 2,8$	$58 \pm 0,5^a$	$60,4 \pm 0,3$	$62 \pm 4,2^a$	0,574
p^2	0,209	0,181	0,063	0,032*	0,074	0,018*	

a-b: Farklı harfe sahip gruplar arasında fark vardır, * $p<0,05$

p^1 : Haftalar arası; p^2 : Gruplar arası

Enerji alımı (kcal/gün)



Şekil 4.3. Ratların haftalara göre enerji alımı (kcal/gün)

4.2. Ratların Haftalara Göre Ortalama Vücut Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi

Ratların haftalara göre ortalama vücut ağırlığı ve ağırlık değişimlerinin değerlendirilmesi Çizelge 4.3’de ve Şekil 4.4’de verilmiştir.

Birinci, 2., 3. haftalar ile birlikte toplam ortalamaya bakıldığında vücut ağırlığı ortalama değerlerinde gruplara göre farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.4).

Dördüncü ve 5. hafta vücut ağırlığı ortalaması değerlerinde ise gruplara göre fark bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre; diyabetik kontrol grubunun vücut ağırlığı ortalaması ($208,6 \pm 3,1$ g, $220 \pm 9,2$ g) sağlıklı kontrol grubunun ağırlık ortalamasına ($252,1 \pm 15,1$ g, $271,7 \pm 18,5$ g) göre, diyabetik aspartam grubunun vücut ağırlığı ortalaması ($178,9 \pm 31,1$ g, $180,4 \pm 32,4$ g) kontrol aspartam grubunun ağırlık ortalamasına ($257,5 \pm 14,6$ g, $282,3 \pm 10,3$ g) göre, diyabetik stevia grubunun vücut ağırlığı ortalaması ($177,5 \pm 15,8$ g, $177,5 \pm 12,4$ g) ise kontrol stevia grubunun ağırlık ortalamasına ($250,4 \pm 14,7$ g, $272,1 \pm 16,8$ g) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.4).

Her bir grup kendi içinde incelendiğinde ise ağırlık ortalaması değerleri ve ağırlık değişimlerinde zamansal olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.4).

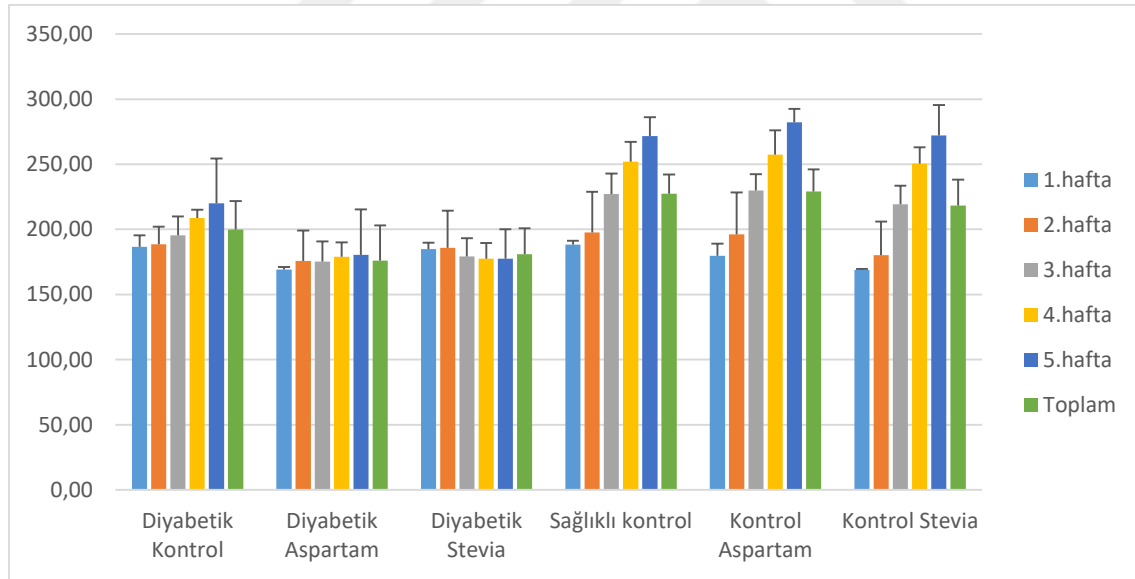
Çizelge 4.3. Ratların haftalara göre vücut ağırlığı (g) ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (SS) değerleri

Gruplar	Hafta					Toplam $\bar{x} \pm SS$	p ¹
	1. hafta $\bar{x} \pm SS$	2. hafta $\bar{x} \pm SS$	3. hafta $\bar{x} \pm SS$	4. hafta $\bar{x} \pm SS$	5. hafta $\bar{x} \pm SS$		
Diyabetik Kontrol (n=6)	186,7 ± 8,7	188,7 ± 1,8	195,6 ± 4,7	208,6 ± 3,1 ^{ab}	220 ± 9,2 ^a	199,9 ± 0,6	0,213
Diyabetik Aspartam (n=10)	169,3 ± 13,5	175,9 ± 23,3	175,3 ± 28,6	178,9 ± 31,1 ^a	180,4 ± 32,4 ^a	176 ± 25,8	0,575
Diyabetik Stevia (n=12)	185 ± 14,5	185,9 ± 15,5	179,2 ± 14	177,5 ± 15,8 ^a	177,5 ± 12,4 ^a	181 ± 14,4	0,143
Sağlıklı Kontrol (n=10)	188,2 ± 6,5	197,8 ± 11,1	227,1 ± 12,1	252,1 ± 15,1 ^b	271,7 ± 18,5 ^b	227,4 ± 12,7	0,057
Kontrol Aspartam (n=10)	179,8 ± 34,5	196,1 ± 35,1	230 ± 22,6	257,5 ± 14,6 ^b	282,3 ± 10,3 ^b	229,2 ± 23,4	0,119
Kontrol Stevia (n=10)	169 ± 21,8	180,2 ± 27,2	219,2 ± 19,9	250,4 ± 14,7 ^b	272,1 ± 16,8 ^b	218,2 ± 20,1	0,051
p ²	0,827	0,890	0,085	0,010*	0,003*	0,091	

a-b: Farklı harfe sahip gruplar arasında fark vardır, *p<0,05

p¹: Haftalar arası; p²: Gruplar arası

Vücut ağırlığı (g)



Şekil 4.4. Ratların haftalara göre vücut ağırlığı (g) ortalama değerleri

4.3. Ratların Haftalara Göre Kan Glukoz Düzeyi (mg/dL) Değerlendirilmesi

Ratların haftalara göre kan glukoz düzeyi değerlendirilmesi Çizelge 4.4'de ve Şekil 4.5'de verilmiştir.

Grupların haftalara göre kan glukoz düzeyi değerlerinde fark saptanmıştır ($p<0,001$). Her bir grup kendi içinde incelendiğinde ise kan glukozlarında zamansal olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.4) (Şekil 4.5).

Birinci hafta diyabetik kontrol grubunun glukoz değeri($487,4 \pm 78,2$ mg/dL) sağlıklı kontrol grubuna ($107,3 \pm 16,5$ mg/dL) göre, diyabetik aspartam grubunun glukoz değeri($559,9 \pm 59,1$ mg/dL) kontrol aspartam grubuna ($107,3 \pm 16,5$ mg/dL) göre, diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($459 \pm 76,7$ mg/dL) ise kontrol stevia grubuna ($101 \pm 9,8$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik aspartam grubunun glukoz değeri($559,9 \pm 59,1$ mg/dL) diyabetik stevia ve kontrol gruplarının ortalamalarına (sırasıyla; $459 \pm 76,7$, $487,4 \pm 78,2$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$) (Çizelge 4.4) (Şekil 4.5).

İkinci hafta diyabetik kontrol grubunun glukoz değeri($508,3 \pm 168$ mg/dL) sağlıklı kontrol grubuna ($100 \pm 14,9$ mg/dL) göre, diyabetik aspartam grubunun glukoz değeri($554 \pm 53,5$ mg/dL) kontrol aspartam grubuna ($102,5 \pm 10,8$ mg/dL) göre, diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($476,1 \pm 130,1$ mg/dL) ise kontrol stevia grubuna ($88,9 \pm 9,4$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$) (Çizelge 4.4) (Şekil 4.5).

Üçüncü hafta diyabetik kontrol grubunun glukoz değeri($544 \pm 104,4$ mg/dL) sağlıklı kontrol grubuna glukoz ($96,9 \pm 11,5$ mg/dL) göre, diyabetik aspartam grubunun glukoz değeri($551,3 \pm 66,9$ mg/dL) kontrol aspartam grubuna ($102,8 \pm 6,6$ mg/dL) göre, diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($414,9 \pm 95,8$ mg/dL) ise kontrol stevia grubuna ($103 \pm 8,5$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($414,9 \pm 95,8$ mg/dL) diyabetik aspartam ve kontrol gruplarının ortalamalarına (sırasıyla; $551,3 \pm 66,9$, $544 \pm 104,4$ mg/dL) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.001$) (Çizelge 4.4) (Şekil 4.5).

Dördüncü hafta diyabetik kontrol grubunun glukoz değeri($558 \pm 101,5$ mg/dL) sağlıklı kontrol grubuna ($95,5 \pm 11,5$ mg/dL) göre, diyabetik aspartam grubunun glukoz değeri($599 \pm 25,3$ mg/dL) kontrol aspartam grubuna ($114,7 \pm 7$ mg/dL) göre, diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($448,8 \pm 58,9$ mg/dL) ise kontrol stevia grubuna ($88,7 \pm 6$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($448,8 \pm 58,9$ mg/dL) diyabetik aspartam ve kontrol gruplarının ortalamalarına

(sırasıyla; $599 \pm 25,3$, $558 \pm 101,5$ mg/dL) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.001$) (Çizelge 4.4) (Şekil 4.5).

Beşinci hafta diyabetik kontrol grubunun glukoz değeri($495,8 \pm 110,1$ mg/dL) sağlıklı kontrol grubuna ($97,4 \pm 11,4$ mg/dL) göre, diyabetik aspartam grubunun glukoz değeri($544,5 \pm 64$ mg/dL) kontrol aspartam grubuna ($109,3 \pm 10,5$ mg/dL) göre, diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($484,3 \pm 89,4$ mg/dL) ise kontrol stevia grubuna ($106,5 \pm 6,2$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($448,8 \pm 58,9$ mg/dL) diyabetik aspartam ve kontrol gruplarının ortalamalarına (sırasıyla; $599 \pm 25,3$, $558 \pm 101,5$ mg/dL) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.001$) (Çizelge 4.4) (Şekil 4.5).

Çalışma sonunda toplam kan glukoz düzeyi değerleri ortalamasına bakıldığında; diyabetik kontrol grubunun glukoz değeri ($513,8 \pm 96,9$ mg/dL) sağlıklı kontrol grubuna ($99,4 \pm 10,7$ mg/dL) göre, diyabetik aspartam grubunun glukoz değeri($566,6 \pm 40$ mg/dL) kontrol aspartam grubuna ($108,5 \pm 5,9$ mg/dL) göre, diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($456,6 \pm 61,8$ mg/dL) ise kontrol stevia grubuna ($97,6 \pm 5,6$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun glukoz değeri($456,6 \pm 61,8$ mg/dL) diyabetik aspartam grubuna ($566,6 \pm 40$ mg/dL) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.001$) (Çizelge 4.4) (Şekil 4.5).

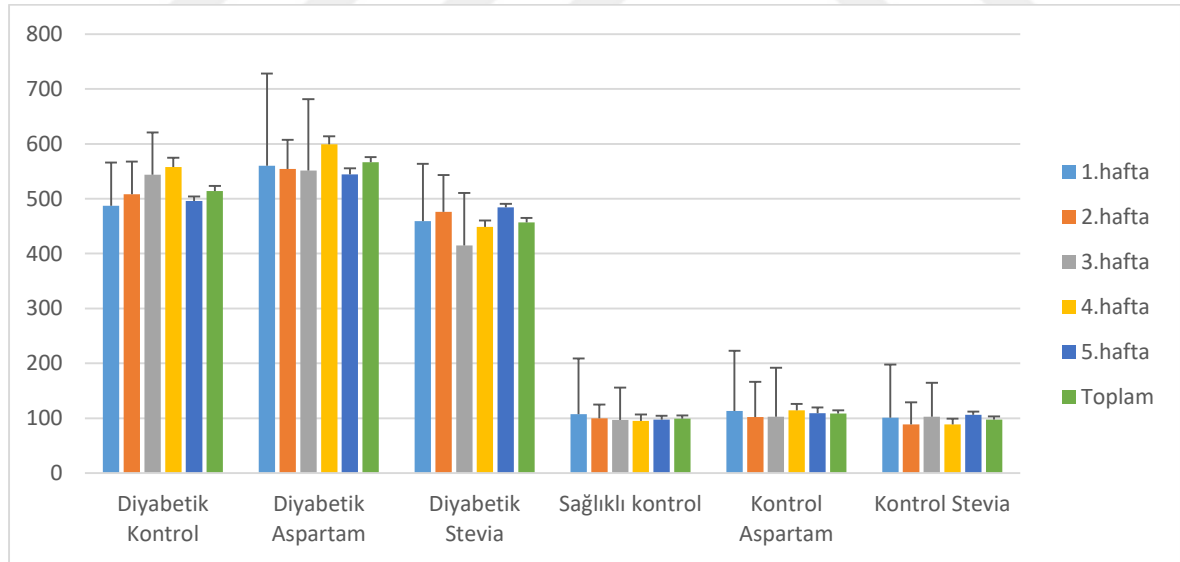
Tüm haftalar boyunca ise kontrol gruplarının kendi içerisinde benzer kan glukoz değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). Diyabetik gruplarda ise tüm haftalarda stevia grubunun en düşük kan glukoz düzeyideğerlerine sahip olduğu saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.4) (Şekil 4.5).

Çizelge 4.4. Ratların haftalara göre kan glukoz düzeyi (mg/dL) ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (SS) değerleri

Gruplar	Hafta					Toplam	p ¹
	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	5. hafta		
	$\bar{x} \pm SS$	$\bar{x} \pm SS$	$\bar{x} \pm SS$	$\bar{x} \pm SS$	$\bar{x} \pm SS$	$\bar{x} \pm SS$	
Diyabetik Kontrol (n=6)	487,4 ± 78,2 ^b	508,3 ± 168 ^b	544,0 ± 104,4 ^c	558,0 ± 101,5 ^c	495,8 ± 110,1 ^a	513,8 ± 96,9 ^{bc}	0,233
Diyabetik Aspartam (n=10)	559,9 ± 59,1 ^c	554,0 ± 53,5 ^b	551,3 ± 66,9 ^c	599,0 ± 25,3 ^c	544,5 ± 64 ^a	566,6 ± 40 ^c	0,070
Diyabetik Stevia (n=12)	459,0 ± 76,7 ^b	476,1 ± 130,1 ^b	414,9 ± 95,8 ^b	448,8 ± 58,9 ^b	484,3 ± 89,4 ^a	456,6 ± 61,8 ^b	0,247
Sağlıklı Kontrol (n=10)	107,3 ± 16,5 ^a	100,0 ± 14,9 ^a	96,9 ± 11,5 ^a	95,5 ± 11,5 ^a	97,4 ± 11,4 ^b	99,4 ± 10,7 ^a	0,085
Kontrol Aspartam (n=10)	113,1 ± 8 ^a	102,5 ± 10,8 ^a	102,8 ± 6,6 ^a	114,7 ± 7 ^a	109,3 ± 10,5 ^b	108,5 ± 5,9 ^a	0,097
Kontrol Stevia (n=10)	101,0 ± 9,8 ^a	88,9 ± 9,4 ^a	103,0 ± 8,5 ^a	88,7 ± 6 ^a	106,5 ± 6,2 ^b	97,6 ± 5,6 ^a	0,056
p ²	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	

*p<0,05

Kan glukoz düzeyi(mg/dL)



Şekil 4.5. Ratların haftalara göre kan glukoz düzeyi (mg/dL) ortalama değerleri

4.4. Ratların Çalışma Sonu Kan Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Ratların çalışma sonu kan biyokimyasal parametreleri Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çalışma sonunda ALT düzeyi, AST düzeyi, kan glukoz değeri, HbA1c (%) ve IL-1 ($p<0,001$) değerleri ile birlikte TNF-alfa ve IL-6 ortalama değerlerinde gruplara göre fark saptanmıştır ($p<0,05$). Çalışma sonundaki insülin ortalama değerinde ise gruplara göre farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.5).

Grupların ALT düzeyi incelendiğinde, diyabetik kontrol grubunun ortalaması ($83,0\pm13,0$ U/L) sağlıklı kontrol grubuna ($55,9 \pm 9,5$ U/L) göre, diyabetik aspartam grubunun ortalaması ($87,8\pm14,9$ U/L) kontrol aspartam grubuna ($67,9\pm10,5$ U/L) göre, diyabetik stevia grubunun ortalaması ($66,4\pm10,5$ U/L) kontrol stevia grubuna ($60,0 \pm 5,8$ U/L) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun ortalaması ($66,4\pm10,5$ U/L) ise diyabetik kontrol ve aspartam gruplarının ortalamalarına (sırasıyla; $83,0\pm13,0$ U/L, $87,8\pm14,9$ U/L) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0.001$) (Çizelge 4.5).

Diyabetik kontrol grubunun AST düzeyi ($176,2 \pm 17,7$ U/L) sağlıklı kontrol grubuna ($140,6 \pm 19,6$ U/L) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik stevia ve kontrol stevia gruplarının AST düzeyi (sırasıyla; $146,3 \pm 13,3$ U/L, $135,6 \pm 31,4$ U/L), diyabetik aspartam grubuna ($181,0 \pm 20,3$ U/L) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0.001$) (Çizelge 4.5).

Diyabetik kontrol grubunun kan glukoz değeri ($607,2\pm110,9$ mg/dL) sağlıklı kontrol grubuna ($252,4 \pm 41,7$ mg/dL) göre, diyabetik aspartam grubunun kan glukoz değeri ($673,6 \pm 57,9$ mg/dL) kontrol aspartam grubuna ($262,5 \pm 36,3$ mg/dL) göre, diyabetik stevia grubunun kan glukoz değeri ($540,8 \pm 71,2$ mg/dL) ise kontrol stevia grubuna ($248,9 \pm 28,4$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun kan glukoz değeri ($540,8 \pm 71,2$ mg/dL) diyabetik aspartam grubuna ($673,6 \pm 57,9$ mg/dL) göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.001$) (Çizelge 4.5).

Diyabetik kontrol grubunun HbA1c değeri ($\% 15,1 \pm 1$) sağlıklı kontrol grubuna ($\% 10,2 \pm 3,1$) göre, diyabetik aspartam grubunun HbA1c değeri ($\% 16,6 \pm 0,9$) kontrol aspartam grubuna ($\% 11 \pm 3,3$) göre, diyabetik stevia grubunun HbA1c değeri ($\% 10,6 \pm 3,7$) ise kontrol stevia grubuna ($\% 9,9 \pm 1,8$) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun HbA1c değeri ($\% 10,6 \pm 3,7$) diyabetik aspartam grubuna ($\% 16,6 \pm 0,9$) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0.001$) (Çizelge 4.5).

Kontrol stevia grubunun TNF-alfa değeri ($55,5 \pm 3,3$ ng/L) diyabetik aspartam grubuna ($64,4 \pm 5,5$ ng/L) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.5).

Kontrol aspartam grubunun IL-1 değeri ($13,9 \pm 2,6$ ng/L) sağlıklı kontrol grubuna ($9,1 \pm 4,3$ ng/L) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$) (Çizelge 4.5).

Diyabetik aspartam grubunun IL-6 değeri ($1,4 \pm 0,1$ ng/L) ise sağlıklı kontrol grubuna ($1,2 \pm 0,2$ ng/L) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$) (Çizelge 4.5).



Çizelge 4.5. Ratların çalışma sonu kan biyokimyasal parametreleri

Gruplar	Kan Biyokimyasal Parametreleri							
	ALT (U/L) $\bar{x} \pm SS$	AST (U/L) $\bar{x} \pm SS$	GLUKOZ (mg/dL) $\bar{x} \pm SS$	İNSÜLİN (mg/dL) $\bar{x} \pm SS$	HbA1c (%) $\bar{x} \pm SS$	TNF-alfa (ng/l) $\bar{x} \pm SS$	IL-1 (ng/l) $\bar{x} \pm SS$	IL-6 (ng/l) $\bar{x} \pm SS$
Diyabetik Kontrol (n=6)	83,0±13,0 ^b	176,2±17,7 ^{bc}	607,2±110,9 ^{bc}	1,5 ± 0,2	15,1 ± 1 ^b	60,2 ± 4,1 ^{ab}	11,9±0,4 ^{ab}	1,4 ± 0,2 ^{ab}
Diyabetik Aspartam (n=10)	87,8±14,9 ^b	181,0 ± 20,3 ^c	673,6 ± 57,9 ^c	1,5 ± 0,1	16,6 ± 0,9 ^b	64,4 ± 5,5 ^b	13,7 ± 1,1 ^b	1,4 ± 0,1 ^b
Diyabetik Stevia (n=12)	66,4±10,5 ^a	146,3 ± 13,3 ^{ab}	540,8 ± 71,2 ^b	1,5 ± 0,1	10,6 ± 3,7 ^a	58,8 ± 2,9 ^{ab}	8,6 ± 2,9 ^{ab}	1,3 ± 0,2 ^{ab}
Sağlıklı Kontrol (n=10)	55,9 ± 9,5 ^a	140,6 ± 19,6 ^a	252,4 ± 41,7 ^a	1,4 ± 0,2	10,2 ± 3,1 ^a	59,6 ± 7 ^{ab}	9,1 ± 4,3 ^a	1,2 ± 0,2 ^a
Kontrol Aspartam(n=10)	67,9±10,5 ^a	166,1±37,1 ^{abc}	262,5 ± 36,3 ^a	1,4 ± 0,2	11 ± 3,3 ^a	64,3 ± 9,4 ^b	13,9 ± 2,6 ^b	1,3 ± 0,2 ^{ab}
Kontrol Stevia (n=10)	60,0 ± 5,8 ^a	135,6 ± 31,4 ^a	248,9 ± 28,4 ^a	1,4 ± 0,3	9,9 ± 1,8 ^a	55,5 ± 3,3 ^a	9,5 ± 2,5 ^{ab}	1,2 ± 0,2 ^{ab}
p	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,447	<0,001*	0,010*	<0,001*	0,044*

a-b: Farklı harfe sahip grup lar arasında fark vardı, *p<0,05

4.5. Ratların Çalışma Sonu Toplam Antioksidan (TAS) ve Oksidan Kapasiteleri (TOS) ile Birlikte Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Değerinin Değerlendirilmesi

Ratların çalışma sonu toplam antioksidan (TAS) ve oksidan kapasiteleri (TOS) ile birlikte oksidatif stres indeksi (OSI) değerinin değerlendirilmesi Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çalışma sonunda ortalama TAS, TOS ve OSI değerlerinde gruplara göre farklılık saptanmıştır ($p \leq 0,001$).

Diyabetik kontrol ve diyabetik stevia gruplarının TAS değeri (sırasıyla; $1,8 \pm 0,2$, $1,9 \pm 0,1$ mmol/l) diyabetik aspartam grubuna ($1,2 \pm 0,1$ mmol/L) göre, sağlıklı kontrol ve kontrol stevia gruplarının TAS değeri (sırasıyla; $1,8 \pm 0,2$, $1,9 \pm 0,1$ mmol/L) ise kontrol aspartam grubuna ($1,3 \pm 0,1$ mmol/l) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$) (Çizelge 4.6).

Diyabetik aspartam ve kontrol aspartam gruplarının TOS değeri (sırasıyla; $22,3 \pm 9,0$ μ mol/, $19,5 \pm 13,6$ μ mol/L) kontrol stevia grubuna ($8,0 \pm 3,5$ μ mol/L) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p \leq 0,001$) (Çizelge 4.6).

Diyabetik stevia grubunun OSI değeri ($6,3 \pm 1,9$) diyabetik aspartam grubuna ($18,4 \pm 8,4$) göre, kontrol stevia grubunun OSI değeri ($4,3 \pm 1,8$) ise kontrol aspartam grubuna ($15,4 \pm 10,4$) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.001$) Ayrıca diyabetik aspartam grubunun OSI değeri ($18,4 \pm 8,4$) diyabetik kontrol grubuna ($8,1 \pm 2,0$) göre, kontrol aspartam grubunun OSI değeri ($15,4 \pm 10,4$) ise sağlıklı kontrol grubuna ($6,6 \pm 2,0$) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Ratların çalışma sonu toplam antioksidan (TAS) ve oksidan kapasiteleri (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI)

Gruplar	TAS (mmol/l) $\bar{x} \pm SS$	TOS (μ mol/l) $\bar{x} \pm SS$	OSI $\bar{x} \pm SS$
Diyabetik Kontrol (n=6)	$1,8 \pm 0,2^b$	$14,5 \pm 3,7^{abc}$	$8,1 \pm 2,0^{ab}$
Diyabetik Aspartam (n=10)	$1,2 \pm 0,1^a$	$22,3 \pm 9,0^b$	$18,4 \pm 8,4^c$
Diyabetik Stevia (n=12)	$1,9 \pm 0,1^b$	$11,9 \pm 3,4^{ab}$	$6,3 \pm 1,9^a$
Sağlıklı Kontrol (n=10)	$1,8 \pm 0,2^b$	$11,8 \pm 4,1^{ab}$	$6,6 \pm 2,0^a$
Kontrol Aspartam (n=10)	$1,3 \pm 0,1^a$	$19,5 \pm 13,6^{bc}$	$15,4 \pm 10,4^{bc}$
Kontrol Stevia (n=10)	$1,9 \pm 0,1^b$	$8,0 \pm 3,5^a$	$4,3 \pm 1,8^a$
p	<0,001*	0,001*	<0,001*

a-c: Farklı harfe sahip gruplar arasında fark vardır, *p<0,05

4.6. Ratların Çalışma Sonu Organ Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi

Ratların çalışma sonu organ ağırlıkları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Ratların karaciğer ve böbrek ortalama ağırlık değerleri gruplara göre farklılık göstermez iken ($p>0,05$), pankreas, yağ dokusu ve beyin ağırlık ortalamalarında gruplara göre farklılık saptanmıştır ($p<0,05$).

Diyabetik kontrol grubunun pankreas ağırlık ortalaması ($1,5 \pm 0,1$ g) sağlıklı kontrol grubuna ($2 \pm 0,1$ g) göre, diyabetik aspartam grubunun pankreas ağırlık ortalaması ($1,3 \pm 0,2$ g) ise kontrol aspartam grubuna ($2 \pm 0,2$ g) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.7).

Diyabetik rat gruplarının yağ dokusu ağırlık ortalaması değerleri, kontrol gruplarına göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0,05$). Buna göre, diyabetik kontrol grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması ($1,2 \pm 0,3$ g) sağlıklı kontrol grubuna ($3,9 \pm 1$ g) göre, diyabetik aspartam grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması ($0,9 \pm 0,1$ g) kontrol aspartam grubuna ($4,4 \pm 0,4$ g) göre, diyabetik stevia grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması ($0,7 \pm 0,5$ g) ise kontrol stevia grubuna ($4 \pm 0,1$ g) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.7).

Kontrol stevia grubunun beyin ağırlık ortalaması ($2,4 \pm 0,1$ g) kontrol aspartam grubuna ($2,8 \pm 0$ g) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Ratların çalışma sonu organ ağırlıkları (g)

Gruplar	Doku				
	Karaciğer $\bar{x} \pm SS$	Böbrek $\bar{x} \pm SS$	Pankreas $\bar{x} \pm SS$	Yağ dokusu $\bar{x} \pm SS$	Beyin $\bar{x} \pm SS$
Diyabetik Kontrol (n=6)	10,5 ± 0,6	3,0 ± 0,2	1,5 ± 0,1 ^a	1,2 ± 0,3 ^a	2,6 ± 0,1 ^{ab}
Diyabetik Aspartam (n=10)	8,4 ± 1,7	2,7 ± 0,1	1,3 ± 0,2 ^a	0,9 ± 0,1 ^a	2,5 ± 0,1 ^{ab}
Diyabetik Stevia (n=12)	8,3 ± 0,8	2,7 ± 0,2	1,4 ± 0,1 ^a	0,7 ± 0,5 ^a	2,7 ± 0,1 ^{ab}
Sağlıklı Kontrol (n=10)	11,1 ± 0	2,7 ± 0,1	2,0 ± 0,1 ^b	3,9 ± 1 ^b	2,7 ± 0 ^{ab}
Kontrol Aspartam (n=10)	11,5 ± 0,8	2,9 ± 0,1	2,0 ± 0,2 ^b	4,4 ± 0,4 ^b	2,8 ± 0 ^b
Kontrol Stevia (n=10)	10,9 ± 1,1	2,5 ± 0,2	1,8 ± 0 ^{ab}	4,0 ± 0,1 ^b	2,4 ± 0,1 ^a
p	0,058	0,152	0,004*	0,001*	0,036*

a-b: Farklı harfe sahip gruplar arasında fark vardır, *p<0,05

5. TARTIŞMA

Bu araştırma 2-3 aylık, toplam 200-250 g ağırlığında, 60 adet yetişkin erkek Wistar rat üzerinde yapılmıştır. Ratlara verilen doğal ve yapay tatlandırıcıların glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine etkisi incelenerek elde edilen bulgular geniş çaplı bir literatür taraması sonucunda elde edilen diğer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırılarak tartışılmıştır.

5.1. Ratların Haftalara Göre Yem (g), Su Tüketimi (mL) ve Enerji (kkal) Alımlarının Değerlendirilmesi

Son yıllarda tüm dünyadaki şeker tüketimi, özellikle de yiyecek ve içeceklerde bulunan eklenmiş şekerlerle birlikte artmıştır. Sonuç olarak eklenmiş şeker tüketimi, toplam enerji alımını artırmış ve yüksek enerjili besinlerin aşırı tüketimi artmış vücut yağı birikimine yol açmaktadır [2]. Bu nedenle düşük enerjili ya da enerji vermeyen tatlandırıcılar enerjiden arındırılmış bir tat sundukları için şekerlerin alternatifleri olarak düşünülerek [4] günümüzde şekerlerden gelen enerjiyi azaltmada bir yöntem olarak kabul edilip tüketilmektedirler [3].

Diyabetik ve sağlıklı ratların yem tüketimlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, alloxan tedavisi ile diyabet geliştirilen diyabetik rat grubunun yem tüketiminde %20 oranında anlamlı derecede bir artış bulunmuştur [11]. Verilen çalışmanın sonuçlarına paralel olarak bu çalışmada da dördüncü hafta ve 35 günün genel ortalamasında diyabetik kontrol grubunun sağlıklı kontrol grubuna göre yem tüketim ortalamasının anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.1) (Bkz. Şekil 4.1). Bu durumun nedeninin diyabetin semptomlarından biri olan polifaji (sık yemek yemeye rağmen, açlık hissi) olabileceği tahmin edilmektedir [96].

Aspartamın besin alımı üzerine etkisini araştıran çalışmalar incelendiğinde, sağlıklı ve diyabetik deney hayvanlarına verilen farklı miktarlardaki aspartamın (5, 7, 20, 40, 80, 160, 250 mg/kg/gün) deney hayvanlarının yem tüketimlerini anlamlı derecede düşürdüğü saptanmıştır [9, 11, 97]. Fakat yapılan başka bir çalışmada ise, % 4 aspartam içeren çözelti verilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında çalışma sonunda yem tüketimi açısından önemli derecede bir fark saptanmamıştır [14]. Bu çalışma da verilen çalışma ile paralellik göstermiştir ve aspartam verilen gruplar ile kontrolleri arasında yem tüketim ortalaması açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.1) (Bkz. Şekil 4.1). Bu

sonucun aspartamın grelin, kolesistokininin ve GLP-1 (Glukagon Benzeri Peptid 1) sekresyonu üzerinde etkisi olmadığı ve gastrik boşalmayı geciktirmediği için çıktığı düşünülmektedir [98,99].

Stevia'nın besin alımı üzerine etkisini araştıran çalışmalarda ise, sağlıklı ve diyabetik deney hayvanlarına farklı miktarlarda verilen stevia miktarlarının (25, 200, 250, 500 ve 1000 mg/kg/gün) deney hayvanlarının yem tüketimlerini sırasıyla anlamlı derecede düşürdüğü saptanmıştır [11, 65]. Ayrıca diyabetli ratlar üzerinde yapılmış olan bir çalışmada, %4 stevia içeren diyetle (96 g kuru diyetle 4 g stevia yaprak tozu) beslenen deney hayvanlarında stevia yaprak tozu alımı ile birlikte yem tüketiminin %15 azaldığı belirlenmiştir [17]. Verilen bu çalışmaların sonuçlarının aksine, yapılan bir çalışmada 10 mg/kg/gün steviosit, 12 mg/kg/gün rebaudiosit A ve 5 mg/kg/gün steviol tüketiminin deney hayvanlarında yem tüketimi açısından anlamlı bir fark yaratmadığı bulunmuştur [100]. Bu çalışmada verilen çalışma ile benzerlik göstermiştir ve stevia verilen gruplar ile kontrolleri arasında yem tüketim ortalaması açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.1) (Bkz. Şekil 4.1) .

Aspartam ve stevia'nın besin alımı üzerine etkilerinin aynı çalışmada bakılarak karşılaştırıldığı bir çalışmada ise; 250 mg/kg/gün aspartam alan diyabetik rat grubunda, yem tüketimi 200 mg/kg/gün stevia alan diyabetik rat grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [11]. Fakat bu çalışmada aspartam tüketen diyabetik rat grubu ile stevia tüketen rat grubu arasında ortalama yem tüketimi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.1) (Bkz. Şekil 4.1) .

Aspartamın su tüketimi üzerine etkisini araştıran çalışmalara bakıldığında, yapılmış olan bir çalışmada; 5-7 mg/kg/gün aspartam verilen rat grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aspartam verilen gupta sıvı tüketimi anlamlı derecede yüksek saptanmıştır [9]. Fakat yapılan başka çalışmalarda, haftalık su tüketimi ile aspartam (20-40-80-160 mg/kg/gün, %4 aspartam içeren çözelti) tüketimi arasında anlamlı bir fark belirlenmemiştir [14, 97]. Yukarıdaki çalışmalara paralel olarak bu çalışmada da aspartam (250 mg/kg/gün) verilen gruplar kendi kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ortalama su tüketimleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ayrıca bu çalışmada, her bir grup kendi içinde incelendiğinde su tüketimleri arasında zamansal olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.1) (Bkz. Şekil 4.2).

Stevia'nın su tüketimi üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, %4 stevia içeren diyetle (96 g kuru diyetle 4 g stevia yaprak tozu) beslenen ratlarda stevia yaprak tozu alımı ile birlikte su tüketiminin %28 azaldığı bulunmuştur [17]. Yukarıdaki çalışmanın sonuçlarına zıt olarak bu çalışma da stevia verilen gruplar kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ortalama su tüketimleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Bu çalışmada yalnızca diyabetik ve sağlıklı rat grupları arasında su tüketimi açısından anlamlı bir fark belirlenmiştir ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.1) (Bkz. Şekil 4.2). Diyabetik rat grubu ile sağlıklı rat grubu arasında su tüketiminde çıkan bu anlamlı farkın diyabet belirtisi olan polidipsiden kaynaklanabileceği tahmin edilmektedir [96].

Aspartamın enerji alımı üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, 5-7 mg/kg/gün aspartam verilen deney hayvanı grubunun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %17 daha az enerji tükettiği bulunmuştur [9]. Fakat yapılan başka bir çalışmada, %4 aspartam içeren çözelti verilen deney hayvanı grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında çalışma sonunda toplam enerji alımı açısından önemli derecede bir fark saptanmamıştır [14]. Bu çalışma ise son verilen çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermiş ve aspartam verilen gruplar ile kendi kontrol grupları arasında toplam enerji alımı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ayrıca haftalara göre değerlendirme yapıldığında, çalışmada 1., 2., 3. ve 5. hafta enerji ortalama değerlerinin gruplara göre farklı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.2) (Bkz. Şekil 4.3). Bu çalışmada gruplar arasında anlamlı farkın saptanmamasının sebebinin aspartamın grelin, kolesistokinin, GLP-1 ve GIP (Gastrik İnhibitör Peptid) salınımı üzerinde etkisinin olmadığından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir [98,99,101].

5.2. Ratların Haftalara Göre Ortalama Vücut Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi

Son yıllarda şeker tüketiminin artması ile birlikte toplam enerji alımı artmış ve yüksek enerjili besinlerin aşırı tüketimi vücut ağırlığının artışına yol açmıştır [2]. Günümüzde tatlandırıcılar ise şekerlerden gelen bu enerjiyi azALT düzeyima ve/veya vücut ağırlığı korunumunda bir yöntem olarak kabul edilip tüketilmektedirler [3]. Düşük enerjili ya da enerji vermeyen tatlandırıcılar enerjiden arındırılmış bir tat sundukları için şekerlerin alternatifleri olarak kullanılmaktadırlar [4].

Aspartamın vücut ağırlığı üzerine etkisini araştıran çalışmalara bakıldığında, farklı (25, 40, 80, 160, 250, 500 ve 1000 mg/kg/gün) miktarlarda aspartam verilen deney hayvanı gruplarında diğer gruplara göre vücut ağırlığında anlamlı derecede bir azalma belirlenmiştir [8, 11, 57, 97, 65]. Fakat başka yapılan çalışmalarda, %4 aspartam içeren çözelti ve 5,7 40, 240 ve 250 mg/kg/gün aspartam verilen deney hayvanı gruplarında aspartamın kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığı açısından anlamlı bir fark yaratmadığı saptanmıştır [9, 14, 55, 102]. Bu çalışmada verilen çalışmalar ile paralellik göstermiştir ve diyabetik ratlar ile birlikte sağlıklı rat gruplarının kendi içlerinde 250 mg/kg/gün aspartam tüketiminin 1., 2., 3. haftalar ile birlikte 5 haftalık toplam ortalamaya bakıldığında vücut ağırlığında anlamlı bir fark yaratmadığı saptanmıştır ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.3) (Bkz. Şekil 4.4). Bu durumun nedeninin aspartamın iştah hormonları üzerinde etkisinin olmadığından kaynaklı olabileceği tahmin edilmektedir [98,99,101].

Stevia, pankreas beta hücrelerine doğrudan etki yaparak insülin sekresyonunu uyarmaktadır [68]. İnsülin salınımının ise, vücut ağırlığının düzenlenmesinde potansiyel olarak önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Beyin insülininin besin alımı üzerinde negatif, anoreksijenik bir etkiye sahip olduğu belgelenmiştir [103]. Stevia'nın vücut ağırlığı ve ağırlık değişimi üzerine etkisini araştıran çalışmalara bakıldığında, farklı miktarlarda (25, 200, 250, 500 ve 1000 mg/kg/gün) stevia verilen hayvan gruplarının ağırlık ortalamalarında kontrol grubuna kıyasla önemli derecede azalma bulunmuştur [11,65]. Yapılan başka bir çalışmada, %4 stevia içeren diyetle (96 g kuru diyetle 4 g stevia yaprak tozu) beslenen ratlarda stevia yaprak tozu alımı ile birlikte ağırlık kaybı haftada 5 gram ile sınırlandırılmıştır [17]. Bu çalışmada da diyabetik stevia grubu haftalara göre kendi içerisinde kıyaslandığında her hafta belirli miktarlarda ağırlık kaybı gözlenmiştir fakat bu değer istatistiksel olarak anlamlı belirlenmemiştir ($p>0,05$). Ayrıca bu çalışmada 4. ve 5. hafta diyabetik ve kontrol stevia gruplarının vücut ağırlıkları, diyabetik ve kontrol aspartam grubuna göre daha düşük bulunmuştur fakat bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Haftalara göre rebaudiozit A verilen grupların kıyaslandığında bir çalışma da ise, deney boyunca 1., 2., 4., 8., ve 13. haftalarda en düşük vücut ağırlığı, 500-1000 ve 2000 mg/kg/gün stevia rebaudiosit A verilen gruplar kıyaslandığında 2000 mg/kg/gün alan grupta bulunmuştur [21]. Fakat belirtilen çalışmalardan farklı olarak yapılan başka çalışmalarda; farklı miktarlarda stevia tüketimi ile birlikte deney hayvanlarında vücut ağırlığı ve ağırlık değişimi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır [100, 104, 105]. Bu çalışma ise son verilen çalışmalar ile benzerlik göstermiş, diyabetik ve sağlıklı rat gruplarında 1., 2., 3. haftalar ile birlikte 5 haftalık toplam

ortalamaya bakıldığında 250 mg/kg/gün stevia rebaudiosit A tüketimi ile birlikte vücut ağırlığı ve ağırlık değişimi kontrol grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.3) (Bkz. Şekil 4.4).

Sağlıklı ve diyabetik ratlar üzerinde yapılmış bir çalışmada ise, 250-500 ve 750 mg/kg/gün stevia rebaudiana yaprakları verilen diyabetik grup, diyabetik kontrol ve sağlıklı kontrol grubu arasında vücut ağırlıkları açısından önemli derecede bir fark bulunmamıştır [18]. Fakat bu çalışmada sadece diyabetik stevia grubunun vücut ağırlığı ortalaması ($177,5 \pm 15,8$, $177,5 \pm 12,4$ g/gün) kontrol stevia grubuna ($250,4 \pm 14,7$ g/gün, $272,1 \pm 16,8$ g/gün) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0.05$) (Bkz. Çizelge 4.3) (Bkz. Şekil 4.4). Bu durumun sebebi diyabette gelişen vücut ağırlığı kaybı olabilmektedir [96].

5.3. Ratların Haftalara Göre Kan Glukoz Düzeyi (mg/dL) Değerlendirilmesi

Yakın zamana kadar, yapay tatlandırıcıların yüksek enerji veya glisemik etki olmaksızın hoş bir tat sunarak sağlıklı beslenmeyi destekleyebileceği savunulmaktaydı. Ancak, hayvan modellerinde yapılan beslenme çalışmalarından [7, 8] elde edilen son veriler, bu görüşün aksine yapay tatlandırıcıların kullanımının enerji dengesini düzensizleştirerek bir takım sağlık problemlerinin oluşmasına katkıda bulunduğunu öne sürmektedir [5]. Bu bilgiler doğrultusunda yapay tatlandırılmış içeceklerin düzenli tüketiminin bozulmuş glukoz toleransı ve/veya insülin direnci dahil olmak üzere birçok metabolik sağlık sorunları ile ilişkilendirilmesi söz konusu olmaktadır [9]. Yapay tatlandırıcılar içerisinde çeşitli besin ürünlerinde en yaygın olarak kullanılan tatlandırıcı ise aspartamdır [10]. Doğal tatlandırıcılardan stevia'nın ise pankreas beta hücrelerine doğrudan etki yaparak insülin sekresyonunu uyardığı ve bu nedenle tip 2 diyabet tedavisinde antihiperglisemik ajanlar olarak potansiyel bir rolü olabileceği belirtilmektedir [68].

Aspartamın kan glukoz düzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere yapılmış olan çalışmalarda; 5, 7 ve 240 mg/kg/gün aspartam verilen gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aspartam verilen gupta kan glukoz düzeyikontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [9, 102]. Bu çalışma sonuçları da yukarıdaki sonuçlar ile benzerlik göstermiş ve 1. hafta diyabetik aspartam grubunun kan glukoz değeri ($559,9 \pm 59,1$ mg/dL) diyabetik stevia ve kontrol grubuna (sırasıyla; $459 \pm 76,7$, $487,4 \pm 78,2$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$) (Bkz. Çizelge 4.4) (Bkz. Şekil 4.5).

Aspartamın glukoz metabolizması üzerindeki olumsuz etkisini, enteroendokrin hücrelerde yer alan tatlı hissi alıcı tat reseptörleri ile etkileşimi sonucunda SGLT1 ekspresyonunu regüle ederek ve pasif - aktif barsak glukoz emilimini arttırarak gösterdiği bilinmektedir [4].

Stevia'nın kan glukoz düzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere sağlıklı ve diyabetik deney hayvanları üzerinde yapılmış olan çalışmalarda; farklı dozlardaki stevia türevlerinin kan glukoz konsantrasyonunu anlamlı derecede düşürdüğü belirlenmiştir [16,17, 65, 66, 93, 100, 106].

Bu çalışmada da, diğer çalışmalara benzer olarak 3., 4. ve 5. hafta diyabetik stevia grubunun glukoz değeri diyabetik aspartam ve kontrol grubunun ortalamalarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0.001$) Ayrıca çalışma sonunda diyabetik stevia grubunun glukoz değeri ($456,6 \pm 61,8$ mg/dL) diyabetik aspartam grubuna ($566,6 \pm 40$ mg/dL) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0.001$) (Bkz. Çizelge 4.4) (Bkz. Şekil 4.5). Stevia'nın ise glukoz intoleransı üzerine etkisini, beta hücrelerinde K^+_{ATP} kanal aktivitesi ve/veya cAMP seviyelerine müdahale ederek ve duodenumdaki glikozun emilimini azaltarak gösterdiği bilinmektedir [58,107].

5.4. Ratların Çalışma Sonu Kan Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalarda aspartam ve stevia'nın sağlık üzerindeki etkileri araştırılmıştır ve çeşitli kan parametreleri düzeyi incelenmiştir. Şu an literatürde aspartamın glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine olumsuz etkilerini gösteren çalışmalar ile birlikte net sonuç alınamayan çalışmalarda bulunmaktadır [7-15]. Stevia ile yapılmış olan deneysel çalışmalarda ise; stevia'nın insülin duyarlılığını artırdığı, kan glukozunu düşürdüğü, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres parametrelerini azalttığına dair çalışmalar bulunurken, bu parametrelere etkisi olmadığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır [11, 16-22].

Bu çalışma sonunda ALT, AST, kan glukozu, HbA1c (%) ve IL-1 ($p<0,001$) değerleri ile birlikte TNF-alfa ve IL-6 ($p<0,05$) ortalama değerlerinde gruplara göre farklılık bulunmuştur. Çalışma sonundaki insülin değerinin ortalama değerinde ise gruplara göre fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Aspartamın karaciğer enzimlerinden aspartat aminotransferaz (AST) düzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere yapılmış olan çalışmalarda; 40, 80, 240, 500 ve 1000 mg/kg/gün aspartam verilen gruplarda AST düzeyi kontrol grubuna göre çalışma sonunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [7, 47, 55, 56, 102]. Bu çalışmada da diyabetik aspartam grubunun AST düzeyi ($181,0 \pm 20,3$ U/L) diyabetik stevia ve kontrol stevia gruplarının AST düzeyine (sırasıyla; $146,3 \pm 13,3$, $135,6 \pm 31,4$ U/L) göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Aspartamın karaciğer enzimlerinden alanin aminotransferaz (ALT) düzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere yapılmış olan bir çalışmada 240 mg/kg/gün aspartam verilen gupta kontrol grubuna kıyasla serum ALT düzeyinde anlamlı bir fark saptanmamıştır [102]. Fakat yapılan başka çalışmalarda; 40, 80, 250, 500, 1000 mg/kg/gün aspartam verilen gruplarda ALT düzeyi kontrol grubuna kıyasla çalışma sonunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [7, 8, 47, 55, 56]. Bu çalışmada da benzer olarak diyabetik kontrol ve aspartam grubunun ALT düzeyi ortalaması (sırasıyla; $83,0 \pm 13,0$ U/L, $87,8 \pm 14,9$ U/L) diyabetik stevia grubuna ($66,4 \pm 10,5$) göre anlamlı derecede yüksek belirlenmiştir ($p < 0.001$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Yukarıda belirtilen karaciğer enzimleri [aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT)] bir doku üzerinde patolojik bir hasar meydana geldiğinde ve toksisite derecesi arttığında yükselmektedir [46]. Aspartam ise, karaciğer fonksiyon homeostazını değiştirerek ve protein oksidatif hasarı artırarak bir kimyasal stres etkeni gibi çalışmaktadır ve hepatotoksisite gelişimine yol açan apoptotik hücre ölümünü teşvik etmede önemli bir rol oynamaktadır [47]. Bu nedenle bu çalışmada yukarıda bahsedilen serum enzimlerinde aspartam tüketimi ile birlikte artış gözlenmiştir.

Stevianın karaciğer enzimlerinden aspartat ve alanin aminotransferaz (AST-ALT) üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere yapılmış olan çalışmalarda; 250, 500, 1000 mg/kg/gün stevia verilen gruplarda AST ve ALT düzeylerinde anlamlı derecede bir azalma saptanmıştır [65,108]. Bu çalışmada yukarıdaki sonuçların ile paralellik göstermiş ve diyabetik stevia grubunun ALT düzeyi ($66,4 \pm 10,5$ U/L), diyabetik kontrol ve aspartam grubuna (sırasıyla; $83,0 \pm 13,0$ U/L, $87,8 \pm 14,9$ U/L) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.001$) (Bkz. Çizelge 4.5). Stevia'nın Nrf2'yi upregüle etme yoluyla akut

ve kronik hepatik toksisiteyi önlediği ve dolayısıyla nekroz ve kolestazi engellediği bilinmektedir [59].

Yapılan bu çalışma ile tamamen benzerlik gösteren sağlıklı ve diyabetik ratlarda aspartam ve stevia'nın karaciğer enzimleri üzerine etkisini araştıran bir çalışmada ise, diyabetik olan ve stevia (200 mg/kg/gün) verilen gruplarda ALT ve AST düzeylerinde diyabetik kontrol grubuna göre sırasıyla %62 ve %57 oranında azalma saptanmıştır. Ayrıca stevia (200 mg/kg/gün) verilen diyabetik grubun serum ALT ve AST düzeylerinde aspartam (250 mg/kg/gün) verilen diyabetik guba göre anlamlı derecede daha fazla azalma bulunmuştur ve aspartam (250 mg/kg/gün) alan diyabetik grup ile diyabetik kontrol grubu arasında karaciğer enzimleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır [11]. Bu çalışmada da diyabetik stevia grubunun ALT düzeyi ($66,4 \pm 10,5$ U/L), diyabetik kontrol grubuna (sırasıyla; $83,0 \pm 13,0$ U/L) göre anlamlı derecede düşük belirlenmiştir ($p < 0.001$). Ayrıca diyabetik stevia ve kontrol stevia gruplarının AST düzeyleri (sırasıyla; $146,3 \pm 13,3$ U/L, $135,6 \pm 31,4$ U/L) diyabetik aspartam grubunun AST düzeyine ($181,0 \pm 20,3$ U/L) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.001$) ve aspartam alan diyabetik rat grubu ile diyabetik kontrol grubu arasında karaciğer enzimleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Aspartamın kan glukoz düzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere yapılmış olan bir çalışmada %4 aspartam içeren çözelti verilen grubun kan glukoz düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark belirlenmemiştir [14]. Bu çalışmada da kontrol aspartam grubu ile sağlıklı kontrol grup arasında kan glukoz düzeyi açısından önemli bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Stevia'nın kan glukoz düzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere sağlıklı ve diyabetik deney hayvanları üzerinde yapılmış olan bir çalışmada ise bu çalışmanın aksine; deney hayvanlarına verilen 0,2 g/kg/gün stevia'nın glukoz yanıtında bir değişikliğe sebep olmadığı bulunmuştur [109].

Yapılan bu çalışma ile tamamen paralellik gösteren sağlıklı ve diyabetik ratlarda aspartam ve stevia'nın kan glukoz düzeyi üzerine etkisini araştıran bir çalışmada ise; 200 mg/kg/gün stevia ve 250 mg/kg/gün aspartam verilen gruplar ile kontrol grubu arasında serum kan glukoz düzeyi arasında anlamlı derecede bir fark saptanmamıştır [11]. Bu çalışmada da stevia

ve aspartam verilen gruplar ve kontrolleri arasında kan glukoz düzeyi açısından anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0.05$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Ayrıca yukarıda sonuçları verilen çalışmada alloxan ile diyabetik yapılan stevia (200 mg/kg/gün) ve aspartam (250 mg/kg/gün) verilen gruplarda serum kan glukoz düzeyi diyabetik kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sırasıyla %38 ve %50 oranında anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu bilgilere ek olarak aspartam verilen diyabetik grubunun serum kan glukoz düzeyi stevia verilen diyabetik guba göre daha düşük saptanmıştır [11]. Fakat bu çalışmada yukarıdaki çalışma sonuçlarından farklı olarak diyabetik stevia ve aspartam grubu ile diyabetik kontrol grubu arasında kan glukoz değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) ve diyabetik aspartam grubunun glukoz düzeyi ($673,6 \pm 57,9$ mg/dL) diyabetik stevia grubuna ($540,8 \pm 71,2$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Enteroendokrin hücrelerde yer alan tatlı hissi alıcı tat reseptörleri ile yapay tatlandırıcıların etkileşimi sonucu aspartam, SGLT1 ekspresyonunu regüle etmektedir, GLUT 2'nin barsak epiteli apikal zarına translokasyonunu ve glukozun barsak emilimini arttırmaktadır. Periferik insülin salınımını azaltmaktadır ve dolayısıyla nörokimyası etkilemektedir. Bu nedenle aspartam tüketiminin insülin direncine sebep olduğu belirtilmektedir [4,110]. Aspartamın insülin seviyesi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere deney hayvanları üzerinde yapılmış olan bir çalışmada; %4 aspartam içeren çözelti verilen deney hayvanı grubunun plazma insülin seviyesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında çalışma sonunda önemli derecede yüksek bulunmuştur [14]. Fakat yapılan başka bir çalışmada, 5-7 mg/kg/gün aspartam verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma insülin seviyelerinde anlamlı bir fark belirlenmemiştir [9]. Bu çalışmada da, insülinin ortalama değerinde gruplara göre farklılık saptanmamıştır ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Stevia'nın insülin seviyesi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere sağlıklı ve diyabetik deney hayvanları üzerinde yapılmış olan çalışmalarda; farklı miktar ve türlerdeki stevia'nın plazma insülin seviyesini anlamlı derecede arttırdığı bulunmuştur [17, 109, 111]. Fakat sağlıklı ve diyabetik ratlar üzerinde yapılan başka çalışmalarda; 10, 12,5, 25, 50 mg/kg/gün stevianın plazma insülin konsantrasyonlarını önemli derecede azalttığı belirlenmiştir [66, 100]. Bunun nedeninin ise stevia'nın pankreas beta hücrelerine doğrudan etki yaparak

insülin sekresyonunu uyarması olduğu bilinmektedir. [68]. Fakat bu çalışmada insülin ortalama değerinde gruplara göre fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Aspartamın proinflamatuvar sitokinler üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere deney hayvanları üzerinde yapılmış olan çalışmalarda; 40, 75 mg/kg/gün aspartam verilen gupta diğer gruplara kıyasla TNF-alfa düzeyinde anlamlı derecede bir artış saptanmıştır [57, 112]. Bu çalışmada da bu sonuç paralelinde kontrol aspartam ($64,3 \pm 9,4$ ng/L) ve diyabetik aspartam gruplarının TNF-alfa ortalaması ($64,4 \pm 5,5$ ng/L) kontrol stevia grubuna ($55,5 \pm 3,3$ ng/l) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.5).

Ayrıca yapılan başka çalışmalarda; farklı doz ve türlerdeki stevia'nın TNF-alfa ve IL-6 seviyesi yükselmelerini önemli derecede önlediği saptanmıştır [113, 114]. Yapılan başka bir çalışmada ise, 250 mg/kg/gün steviosit ve 500 mg/kg/gün stevia rebaudiana yapraklarının hidroalkolik ekstratı verilen gupta TNF-alfa, IL-1 β ve IL-6 düzeylerini önemli derecede azalttığı bulunmuştur [108]. Bu çalışmada da, kontrol stevia grubunun TNF-alfa değeri ($55,5 \pm 3,3$ ng/L) kontrol aspartam ($64,3 \pm 9,4$ ng/L) ve diyabetik aspartam gruplarına ($64,4 \pm 5,5$ ng/L) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0,05$) Bu durumun nedeninin stevia'nın TNF- α , IL-1 β salınımını önleyerek ve NF- κ B, MAPK sinyalizasyon yollarının downregülasyonunu sağlayarak inflamatuvar sitokin sekresyonunu baskılaması olduğu bilinmektedir [70, 71]. Yapılan başka bir çalışmada ise steviol ve rebaudiozit A verilen deney hayvanı gruplarında proinflamatuvar sitokin olan TNF-alfa ve IL-6 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir [100].

Ayrıca bu çalışmada kontrol aspartam grubunun IL-1 değeri ($13,9 \pm 2,6$ ng/L) sağlıklı kontrol grubunun IL-1 ortalamasına ($9,1 \pm 4,3$ ng/L) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) Diyabetik aspartam grubunun IL-6 değeri ($1,4 \pm 0,1$ ng/L) ise sağlıklı kontrol grubunun IL-6 ortalamasına ($1,2 \pm 0,2$ ng/L) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0,001$) (Bkz. Çizelge 4.5). Deney hayvanları üzerinde yapılmış olan bir çalışmada ise bu çalışma paralel sonuçlar bulunmuş ve deney hayvanlarına 75/mg/kg/gün aspartam verilmesi ile birlikte deney sonunda IL-6 düzeyinde artış saptanmıştır [112].

5.5. Ratların Çalışma Sonu Toplam Antioksidan (TAS) ve Oksidan Kapasiteleri (TOS) ile Birlikte Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Değerinin Değerlendirilmesi

Uzun süreli aspartam tüketimi, oksidatif stres oluşumundan sorumlu metanol ve metabolitlerinin seviyelerinde artışa neden olmaktadır [57]. Metanol ve metabolitlerinin seviyelerindeki artış oksijen radikallerinin üretiminde artışla sonuçlanan artmış mikrozomal üreme ve mitokondriyal hasar ile ilişkilidir [55]. Metanolün okside olan formatı şeklindeki metabolitlerinin toksik etkileri, solunum zincirinin sonunda mitokondride sitokrom oksidaz kompleksinin engellenmesinden kaynaklanmaktadır [10]. Bu süreçlere ise, lipid peroksidasyonunda yer alabilen süperoksit anyon ile NADH seviyesinde yükselme eşlik etmektedir [55]. Ayrıca aspartam türevi metanolün, indirgenmiş glutatyon (GSH) tükenmesi ile bağlantılı olduğu bilinmektedir. Beyinde, karaciğerde ve eritrositlerde GSH tükenmesi, uzun süreli aspartam uygulamasının ortak bir özelliğidir [47] ve oksidatif stresi arttıran bir etmendir.

Aspartamın toplam antioksidan ve oksidan kapasitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere deney hayvanları üzerinde yapılmış olan bir çalışmada; aspartamın oral olarak 40 mg/kg/gün tüketilmesi oksidan/antioksidan dengeyi bozduğu için oksidatif strese yol açtığı bulunmuştur [55]. Ayrıca yapılan çalışmalarda verilen 40, 75, 250 mg/kg/gün aspartamın karaciğer süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve C vitamini seviyelerinde anlamlı derecede düşme sağladığı, glutatyon S transferaz düzeyinde ise anlamlı bir artış sağladığı saptanmıştır [10-12, 15]. Bu durum ise açıkça, aspartamın aşırı serbest radikal üretimine bağlı olarak serum enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan seviyelerini değiştirdiğini göstermektedir [15]. Bu çalışmalara ek olarak sağlıklı ve diyabetik deney hayvanlarına 25, 40, 80, 160, 250, 320 mg/kg/gün aspartam verilerek yapılan başka çalışmalarda aspartamın nitrik oksit, süperoksit dismutaz ve katalaz seviyelerini anlamlı derecede arttırdığı belirlenmiştir [15, 93, 97, 115]. Ayrıca yapılan başka bir çalışmada ise, deney hayvanlarına 250-1000 mg/kg/gün aspartam verilmesi çalışma sonunda kan plazmasındaki katalaz aktivitesini ve toplam antioksidan konsantrasyonlarını (TAS), kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur [8]. Bu çalışmada ise diyabetik aspartam grubunun TAS değeri ($1,2 \pm 0,1$ mmol/L), diyabetik kontrol ve diyabetik stevia gruplarına (sırasıyla; $1,8 \pm 0,2$ mmol/L, $1,9 \pm 0,1$ mmol/L) göre, kontrol aspartam grubunun TAS değeri ($1,3 \pm 0,1$ mmol/L) ise sağlıklı kontrol ve kontrol stevia gruplarına (sırasıyla; $1,8 \pm 0,2$, $1,9 \pm 0,1$ mmol/L) göre anlamlı

derecede düşük saptanmıştır ($p<0.001$) (Bkz. Çizelge 4.6). Yapılan farklı bir çalışmada ise, 40 mg/kg/gün aspartam tüketiminin nitrik oksit seviyelerini anlamlı derecede arttırdığı saptanmıştır. Bu aynı zamanda aspartam tarafından serbest radikallerin net olarak üretilmesini de desteklemektedir [15]. Bu nedenle bu çalışmada diyabetik aspartam ve kontrol aspartam gruplarının TOS değeri (sırasıyla; $22,3 \pm 9,0$, $19,5 \pm 13,6$ $\mu\text{mol/L}$) kontrol stevia grubunun TOS değerine ($8,0 \pm 3,5$ $\mu\text{mol/L}$) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p\leq 0,001$) (Bkz. Çizelge 4.6).

Stevia'nın Nrf2'nin upregulasyonunu sağlayarak akut ve kronik hepatik toksisiteyi önlediğini ve dolayısıyla, NF- κ B yolunu engelleyen proinflamatuvar sitokinleri düzenleyerek oksidatif stres, nekroz ve kolestazla savaştığı bilinmektedir [9]. Bu bilgilere ek olarak, polifenolik bileşik içeren stevia özlerinin 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), hidroksil radikali, nitrik oksit, süperoksit anyon ve hidrojen peroksit gibi serbest radikal serilerini engelleyerek güçlü antioksidan faaliyet gösterdiği bilinmektedir [72]. Stevia'nın toplam antioksidan ve oksidan kapasitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere deney hayvanları üzerinde yapılmış olan bir çalışmada ise; %4 stevia içeren diyetle (96 g kuru diyetle 4 g stevia yaprak tozu) beslenen ratlarda stevia yaprakları diyabetik ratlarda karaciğer hasarını anlamlı derecede azaltmıştır ve diyabetik ratlarda diyabet olmalarından kaynaklı gelişen süperoksit dismutaz ve katalazın düşüşü %4 stevia içeren diyetle normal aktivitesine dönmüştür [17]. Ayrıca deney hayvanları üzerinde yapılan başka çalışmalarda 50-100 mg/kg/gün steviosit verilen gruplarda steviosit, reaktif oksijen türlerinin üretimini ve nitritleri önemli ölçüde engellediği bulunmuştur. Steviosit (50, 100 mg/kg/gün) kolon dokularında süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon S transferaz ve azalan glutatyon gibi endojen antioksidanların seviyelerini onarmıştır ve önemli ölçüde geri kazandırmıştır [114]. Bununla birlikte sağlıklı ve diyabetik ratlar üzerinde yapılmış olan başka bir çalışmada ise, 250 mg/kg/gün stevia ekstratı azalan glutatyon seviyesinin sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yükseldiği bulunmuştur [93]. Verilen çalışma sonuçlarına bakıldığında stevia yaprakları, serbest radikal temizleme ve lipid peroksidasyonunun engellenmesi gibi iyi antioksidan özelliklere sahip olarak bulunmuştur [17]. Bu çalışmada ise diyabetik kontrol ve diyabetik stevia gruplarının TAS değeri (sırasıyla; $1,8 \pm 0,2$ mmol/L, $1,9 \pm 0,1$ mmol/L) diyabetik aspartam grubuna ($1,2 \pm 0,1$ mmol/l) göre, sağlıklı kontrol ve kontrol stevia gruplarının TAS değeri (sırasıyla; $1,8 \pm 0,2$, $1,9 \pm 0,1$ mmol/L) ise kontrol aspartam grubuna ($1,3 \pm 0,1$ mmol/l) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.001$) Ayrıca kontrol stevia grubunun TOS değeri ($8,0 \pm 3,5$ $\mu\text{mol/L}$), diyabetik aspartam ve kontrol aspartam

gruplarına (sırasıyla; $22,3 \pm 9,0 \mu\text{mol/L}$, $19,5 \pm 13,6 \mu\text{mol/L}$) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p \leq 0,001$) (Bkz. Çizelge 4.6). Bu çalışma ile paralel sonuçların gözlemlendiği bir çalışmada ise, 250 mg/kg/gün aspartam verilen diyabetik deney hayvanlarının aksine, 200 mg/kg/gün stevia alan diyabetik deney hayvanlarında glutatyon seviyelerinde 1.6 kat artış saptanmıştır [11].

5.6. Ratların Çalışma Sonu Organ Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi

Çizelge 4.7’de ratların çalışma sonu organ ağırlıkları verilmiştir. Pankreas, yağ dokusu ve beyin ortalama ağırlık değerlerinde gruplara göre fark saptanmıştır ($p < 0,05$).

Diyabetik kontrol grubunun pankreas ağırlık ortalaması ($1,5 \pm 0,1 \text{ g}$) sağlıklı kontrol grubuna ($2 \pm 0,1 \text{ g}$) göre, diyabetik aspartam grubunun pankreas ağırlık ortalaması ($1,3 \pm 0,2 \text{ g}$) ise kontrol aspartam grubuna ($2 \pm 0,2 \text{ g}$) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,05$) (Bkz. Çizelge 4.7).

Sağlıklı ve diyabetik deney hayvanlarının böbrek ağırlıkları üzerine yapılmış olan çalışmalarda, 1000 mg/kg/gün stevia verilen grup diğer gruplarla karşılaştırıldığında böbrek ağırlığında anlamlı derecede azalma saptanmıştır [17, 65]. Fakat bu çalışmada böbrek ortalama değerlerinde gruplara göre farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Bkz. Çizelge 4.7).Yapılan farklı bir çalışmada ise, bu çalışmaya benzer olarak 500, 1000 ve 2000 mg/kg/gün stevia rebaudiosit A alan gruplarda böbrek doku ağırlığında anlamlı derecede bir fark belirlenmemiştir [21].

Sağlıklı deney hayvanlarının beyin ağırlıkları üzerine yapılmış olan bir çalışmada, 40 mg/kg/gün aspartam verilen grupta diğer gruplara göre beyin ağırlığında anlamlı derecede bir azalma saptanmıştır [57]. Yapılan başka bir çalışmada ise, 500, 1000 ve 2000 mg/kg/gün stevia rebaudiosit A verilen gruplarda beyin ağırlıklarında anlamlı derecede bir farklılık bulunmamıştır [21]. Bu çalışmada ise yukarıdaki çalışma sonuçlarının aksine kontrol aspartam grubunun beyin ağırlık ortalaması ($2,8 \pm 0 \text{ g}$), kontrol stevia grubuna ($2,4 \pm 0,1 \text{ g}$) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p < 0,05$) (Bkz. Çizelge 4.7).

Sağlıklı deney hayvanlarının yağ dokusu ağırlıkları üzerine yapılmış olan bir çalışmada; %4 aspartam içeren çözelti verilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında çalışma sonunda epididimal ve perinetal yağ dokuları açısından önemli derecede bir fark saptanmamıştır

(sırasıyla; epididimal 5.6 ± 0.3 g, 5.8 ± 0.2 g, perinetal 5.8 ± 0.4 g, 5.8 ± 0.4 g) [14]. Fakat yağ dokusu üzerine yapılan başka bir çalışmada ise 5-7 mg/kg/gün aspartam verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yağ dokusu yüzdesi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla, 11.9 ± 1 , 7.1 ± 0.5) [9]. Bu çalışmada da verilen çalışma sonuçlarına paralel olarak kontrol aspartam grubunun yağ dokusu ortalaması (4.4 ± 0.4 g) diyabetik kontrol grubuna (4.4 ± 0.4 g) kıyasla anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$) (Bkz. Çizelge 4.7). Bu durumun sebebinin aspartamın adipogenezi uyarabileceği ve tatlı tat reseptörden bağımsız bir şekilde lipolizi bastırabileceğinin olduğu düşünülmektedir [116].

Fakat bu çalışmada diyabetik rat gruplarının yağ dokusu ağırlık ortalaması değerleri, kontrol gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca diyabetik kontrol grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması (1.2 ± 0.3 g) sağlıklı kontrol grubuna (3.9 ± 1 g) göre, diyabetik aspartam grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması (0.9 ± 0.1 g) kontrol aspartam grubuna (4.4 ± 0.4 g) göre, diyabetik stevia grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması (0.7 ± 0.5 g) ise kontrol stevia grubuna (4 ± 0.1 g) göre anlamlı derecede düşük belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Bkz. Çizelge 4.7).

Sağlıklı deney hayvanlarının karaciğer ağırlıkları üzerine yapılmış olan bir çalışmada; 40 mg/kg/gün aspartam verilen gupta diğer gruplara göre karaciğer ağırlığında anlamlı derecede bir azalma bulunmuştur [57]. Fakat %4 aspartam içeren çözelti verilen grup ile kontrol grubunun karşılaştırıldığı başka bir çalışmada, karaciğer ağırlıkları açısından önemli derecede bir fark saptanmamıştır [14]. Bu çalışmada verilen son çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermiş ve karaciğer ortalama ağırlığı değerlerinde gruplara göre fark belirlenmemiştir ($p > 0.05$) (Bkz. Çizelge 4.7). Ayrıca stevia'nın karaciğer üzerine etkisinin bakıldığı bir çalışmada ise bu çalışmaya paralel olarak 500, 1000 ve 2000 mg/kg/gün stevia rebaudiosit A alan gruplarda karaciğer doku ağırlıklarında anlamlı derecede bir farklılık saptanmamıştır [21].

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, tip 2 diyabetli ratlarda doğal ve yapay tatlandırıcıların glukoz intoleransı, karaciğer enzimleri ve oksidatif stres üzerine olan etkilerine yönelik çalışmaların derlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

1. Toplam yem tüketim ortalama değerlerinde ise gruplara göre bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik kontrol grubunun yem tüketim ortalaması, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla; $34,6 \pm 0,4$ g/gün, $21,1 \pm 2,1$ g/gün) ($p<0,05$).
2. Tüm haftalarda grupların su tüketim ortalamaları arasında anlamlı fark belirlenmiştir ($p<0,001$). Diyabetik rat grupları sağlıklı gruplara göre daha fazla su tüketmişlerdir ($p<0,001$).
3. Toplam enerji alımı ortalama değerlerinde gruplara göre fark bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik kontrol grubunun enerji alım ortalaması, sağlıklı kontrol grubunun enerji alım ortalamasından anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (sırasıyla; $93,5 \pm 1,3$ kkal/gün, $56,9 \pm 5,7$ kkal/gün) ($p<0,05$).
4. Dördüncü ve 5. hafta vücut ağırlığı ortalaması değerlerinde ise gruplara göre fark bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre; diyabetik kontrol grubunun vücut ağırlığı ortalaması ($208,6 \pm 3,1$ g, $220 \pm 9,2$ g) sağlıklı kontrol grubunun ağırlık ortalamasına ($252,1 \pm 15,1$ g, $271,7 \pm 18,5$ g) göre, diyabetik aspartam grubunun vücut ağırlığı ortalaması ($178,9 \pm 31,1$ g, $180,4 \pm 32,4$ g) kontrol aspartam grubunun ağırlık ortalamasına ($257,5 \pm 14,6$ g, $282,3 \pm 10,3$ g) göre, diyabetik stevia grubunun vücut ağırlığı ortalaması ($177,5 \pm 15,8$ g, $177,5 \pm 12,4$ g) ise kontrol stevia grubunun ağırlık ortalamasına ($250,4 \pm 14,7$ g, $272,1 \pm 16,8$ g) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0,05$).
5. Çalışma sonunda ALT düzeyi, AST düzeyi, kan glukoz değeri, HbA1c (%) ve IL-1 ($p<0,001$) değerleri ile birlikte TNF-alfa ve IL-6 ortalama değerlerinde gruplara göre fark saptanmıştır ($p<0,05$). Çalışma sonundaki insülin ortalama değerinde ise gruplara göre farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).
6. Grupların ALT düzeyi incelendiğinde, diyabetik kontrol grubunun ortalaması ($83,0 \pm 13,0$ U/L) sağlıklı kontrol grubuna ($55,9 \pm 9,5$ U/L) göre, diyabetik aspartam

grubunun ortalaması ($87,8 \pm 14,9$ U/L) kontrol aspartam grubuna ($67,9 \pm 10,5$ U/L) göre, diyabetik stevia grubunun ortalaması ($66,4 \pm 10,5$ U/L) kontrol stevia grubuna ($60,0 \pm 5,8$ U/L) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun ortalaması ($66,4 \pm 10,5$ U/L) ise diyabetik kontrol ve aspartam gruplarının ortalamalarına (sırasıyla; $83,0 \pm 13,0$ U/L, $87,8 \pm 14,9$ U/L) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p < 0.001$).

7. Diyabetik kontrol grubunun AST düzeyi ($176,2 \pm 17,7$ U/L) sağlıklı kontrol grubuna ($140,6 \pm 19,6$ U/L) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Ayrıca diyabetik stevia ve kontrol stevia gruplarının AST düzeyi (sırasıyla; $146,3 \pm 13,3$ U/L, $135,6 \pm 31,4$ U/L), diyabetik aspartam grubuna ($181,0 \pm 20,3$ U/L) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p < 0.001$).
8. Diyabetik kontrol grubunun kan glukoz değeri ($607,2 \pm 110,9$ mg/dL) sağlıklı kontrol grubuna ($252,4 \pm 41,7$ mg/dL) göre, diyabetik aspartam grubunun kan glukoz değeri ($673,6 \pm 57,9$ mg/dL) kontrol aspartam grubuna ($262,5 \pm 36,3$ mg/dL) göre, diyabetik stevia grubunun kan glukoz değeri ($540,8 \pm 71,2$ mg/dL) ise kontrol stevia grubuna ($248,9 \pm 28,4$ mg/dL) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun kan glukoz değeri ($540,8 \pm 71,2$ mg/dL) diyabetik aspartam grubuna ($673,6 \pm 57,9$ mg/dL) göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$).
9. Diyabetik kontrol grubunun HbA1c değeri ($\% 15,1 \pm 1$) sağlıklı kontrol grubuna ($\% 10,2 \pm 3,1$) göre, diyabetik aspartam grubunun HbA1c değeri ($\% 16,6 \pm 0,9$) kontrol aspartam grubuna ($\% 11 \pm 3,3$) göre, diyabetik stevia grubunun HbA1c değeri ($\% 10,6 \pm 3,7$) ise kontrol stevia grubuna ($\% 9,9 \pm 1,8$) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Ayrıca diyabetik stevia grubunun HbA1c değeri ($\% 10,6 \pm 3,7$) diyabetik aspartam grubuna ($\% 16,6 \pm 0,9$) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p < 0.001$).
10. Kontrol stevia grubunun TNF-alfa değeri ($55,5 \pm 3,3$ ng/L) diyabetik aspartam grubuna ($64,4 \pm 5,5$ ng/L) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.05$).
11. Kontrol aspartam grubunun IL-1 değeri ($13,9 \pm 2,6$ ng/L) sağlıklı kontrol grubuna ($9,1 \pm 4,3$ ng/L) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$) (Çizelge 4.5).
12. Diyabetik aspartam grubunun IL-6 değeri ($1,4 \pm 0,1$ ng/L) ise sağlıklı kontrol grubuna ($1,2 \pm 0,2$ ng/L) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$).

13. Diyabetik kontrol ve diyabetik stevia gruplarının TAS değeri (sırasıyla; $1,8 \pm 0,2$, $1,9 \pm 0,1$ mmol/l) diyabetik aspartam grubuna ($1,2 \pm 0,1$ mmol/L) göre, sağlıklı kontrol ve kontrol stevia gruplarının TAS değeri (sırasıyla; $1,8 \pm 0,2$, $1,9 \pm 0,1$ mmol/L) ise kontrol aspartam grubuna ($1,3 \pm 0,1$ mmol/l) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$).
14. Diyabetik aspartam ve kontrol aspartam gruplarının TOS değeri (sırasıyla; $22,3 \pm 9,0$ μ mol/, $19,5 \pm 13,6$ μ mol/L) kontrol stevia grubuna ($8,0 \pm 3,5$ μ mol/L) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p \leq 0,001$).
15. Diyabetik stevia grubunun OSI değeri ($6,3 \pm 1,9$) diyabetik aspartam grubuna ($18,4 \pm 8,4$) göre, kontrol stevia grubunun OSI değeri ($4,3 \pm 1,8$) ise kontrol aspartam grubuna ($15,4 \pm 10,4$) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.001$) Ayrıca diyabetik aspartam grubunun OSI değeri ($18,4 \pm 8,4$) diyabetik kontrol grubuna ($8,1 \pm 2,0$) göre, kontrol aspartam grubunun OSI değeri ($15,4 \pm 10,4$) ise sağlıklı kontrol grubuna ($6,6 \pm 2,0$) göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$).
16. Ratların karaciğer ve böbrek ortalama ağırlık değerleri gruplara göre farklılık göstermez iken ($p > 0,05$), pankreas, yağ dokusu ve beyin ağırlık ortalamalarında gruplara göre farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$).
17. Diyabetik kontrol grubunun pankreas ağırlık ortalaması ($1,5 \pm 0,1$ g) sağlıklı kontrol grubuna ($2 \pm 0,1$ g) göre, diyabetik aspartam grubunun pankreas ağırlık ortalaması ($1,3 \pm 0,2$ g) ise kontrol aspartam grubuna ($2 \pm 0,2$ g) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.05$).
18. Diyabetik rat gruplarının yağ dokusu ağırlık ortalaması değerleri, kontrol gruplarına göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p < 0,05$). Buna göre, diyabetik kontrol grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması ($1,2 \pm 0,3$ g) sağlıklı kontrol grubuna ($3,9 \pm 1$ g) göre, diyabetik aspartam grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması ($0,9 \pm 0,1$ g) kontrol aspartam grubuna ($4,4 \pm 0,4$ g) göre, diyabetik stevia grubunun yağ dokusu ağırlık ortalaması ($0,7 \pm 0,5$ g) ise kontrol stevia grubuna ($4 \pm 0,1$ g) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.05$).
19. Kontrol stevia grubunun beyin ağırlık ortalaması ($2,4 \pm 0,1$ g) kontrol aspartam grubuna ($2,8 \pm 0$ g) göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p < 0.05$).

Bu sonuçlar doğrultusunda;

Diyabetik ratların yem, su tüketimi ve enerji alımları çalışma boyunca sağlıklı ratlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Fakat aspartam ve stevia tüketiminin net olarak yem, su ve enerji alımı üzerinde anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. Ayrıca aspartam tüketen ratlarda stevia tüketen ratlara göre ALT, AST, kan glukoz düzeyi, HbA1c, TNF-alfa, IL-1, IL-6 ve TOS değerleri anlamlı derecede yüksek bulunurken, TAS değerleri anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Bu bilgiler doğrultusunda, yapay bir tatlandırıcı olan aspartamın glukoz intoleransına neden olduğu, karaciğer enzimlerini arttırdığı ve oksidatif stres gelişimini tetiklediği görülmüştür. Ayrıca aspartamın bu etkilerini diyabetik ratlarda daha net ortaya çıkardığı belirlenmiştir. Stevia'nın ise aspartamın aksine glukoz intoleransına, karaciğer enzimlerinin yükselmesine ve oksidatif stres gelişimine etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Bu nedenle belirtilen sağlık etkilerinden dolayı günümüzde sıklıkla besin endüstrisinde kullanılan aspartamın dikkatli kullanılması önerilmelidir. Stevia'nın sağlık üzerine olumlu etkilerinin gözlenmesine karşılık daha fazla çalışma ile bu sonuçların desteklenmesi gerektiği unutulmadan önerilerde bulunulmalıdır. Sağlık profesyonellerinin bu konu üzerinde hassasiyet göstermesi ve tatlandırıcıların bilinçsizce kullanımında meydana gelebilecek risklerle ilgili olarak halkı bilinçlendirmesi gerekmektedir. Diyabetik bireylerde oluşabilecek risklerden dolayı tatlandırıcı kullanıma ayrıca dikkat edilmesi gerektiği belirtilmelidir.

Aspartam ve stevia tüketim önerilerinde bulunurken, Avrupa Besin Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve Besin ve Tarım Örgütü (FAO) / WHO Besin Katkı Maddeleri Uzmanlar Komitesi (JECFA) tarafından belirlenen kabul edilebilir günlük alım düzeylerine (ADI) (mg/kg) bağlı kalınmalı ve bu dozların üzerinde toksik etki görülebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Ayrıca deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda; çalışma için kullanılan hayvanın türü-cinsiyeti, çalışmanın süresi, verilen tatlandırıcı türü-miktarı ve çalışma sonunda değerlendirilecek parametreler farklılık gösterdiği için çalışma sonlarında net sonuçlara varmak zorlaşabileceğinden dolayı, günümüzde bu kadar sık kullanılan yapay ve doğal

tatlandırıcıların sağlık üzerine etkilerini değerlendirmek için daha fazla uzun süreli ve deneysel çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.





KAYNAKLAR

1. Edwards, C. H., Rossi, M., Corpe, C. P., Butterworth, P. J., and Ellis, P. R. (2016). The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: Alternatives for the future. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 158-166.
2. Kim, E., Shin, J. H., Seok, P. R., Kim, M. S., Yoo, S. H., and Kim, Y. (2018). Phyllodulcin, a natural functional sweetener, improves diabetic metabolic changes by regulating hepatic lipogenesis, inflammation, oxidative stress, fibrosis, and gluconeogenesis in db/db mice. *Journal of Functional Foods*, 42, 1-11.
3. Khan, T. A., Ayoub-Charette, S., Sievenpiper, J. L., and Comelli, E. M. (2019). Non-Nutritive Sweeteners and their effects on human health and the gut microbiome. in *Reference Module in Biomedical Sciences*, 2-21.
4. Pepino, M.Y. (2015). Metabolic effects of non-nutritive sweeteners. *Physiology & Behavior*, 152, 450-455.
5. Pepino, M.Y. and Bourne, C. (2011). Nonnutritive sweeteners, energy balance and glucose homeostasis. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 14(4), 391.
6. Spencer, M., Gupta, A., Van Dam, L., Shannon, C., Menees, S., and Chey, W. D. (2016). Artificial sweeteners: a systematic review and primer for gastroenterologists. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 22(2), 168.
7. Abhilash, M., Paul, M. S., Varghese, M. V., and Nair, R. H. (2011). Effect of long term intake of aspartame on antioxidant defense status in liver. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6), 1203-1207.
8. Alkafafy, M. E. S., Ibrahim, Z. S., Ahmed, M. M., and El-Shazly, S. A. (2015). Impact of aspartame and saccharin on the rat liver: Biochemical, molecular, and histological approach. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 28(2), 247-255.
9. Palmnäs, M. S., Cowan, T. E., Bomhof, M. R., Su, J., Reimer, R. A., Vogel, H. J., and Shearer, J. (2014). Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. *PloS one*, 9(10), 1-10.
10. Ashok, I., Wankhar, D., Sheeladevi, R., and Wankhar, W. (2014). Long-term effect of aspartame on the liver antioxidant status and histopathology in Wistar albino rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(2), 299-305.
11. AbdElwahab, A. H., Yousuf, A. F., Ramadan, B. K., and Elimam, H. (2017). Comparative Effects of Stevia rebaudiana and Aspartame on hepato-renal function of diabetic rats: Biochemical and Histological Approaches. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(08), 034-042.
12. Mourad, M. (2011). Effect of aspartame on some oxidative stress parameters in liver and kidney of rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(6), 678-862.

13. Otman, S. and Bin-Jumah, M. (2019). Histopathological Effect of Aspartame on Liver and Kidney of Mice. *International Journal of Pharmacology*, 15(3), 336-342.
14. Janssens, S., Ciapaite, J., Wolters, J., van Riel, N., Nicolay, K., and Prompers, J. (2017). An in vivo magnetic resonance spectroscopy study of the effects of caloric and non-caloric sweeteners on liver lipid metabolism in rats. *Nutrients*, 9(5), 476.
15. Choudhary, A.K. and Sheela Devi, R. (2015). Longer period of oral administration of aspartame on cytokine response in Wistar albino rats. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*, 62(3), 114-122.
16. Singh, S., Garg, V. and Yadav, D. (2013). Antihyperglycemic and antioxidative ability of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves in diabetes induced mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 297-302.
17. Shivanna, N., Naika, M., Khanum, F., and Kaul, V. K. (2013). Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of *Stevia rebaudiana*. *Journal of Diabetes and its Complications*, 27(2), 103-113.
18. Akbarzadeh, S., Eskandari, F., Tangestani, H., Bagherinejad, S. T., Bargahi, A., Bazzi, P., and Rahbar, A. R. (2015). The effect of *Stevia rebaudiana* on serum omentin and visfatin level in STZ-induced diabetic rats. *Journal of Dietary Supplements*, 12(1), 11-22.
19. Latha, S., Chaudhary, S., and Ray, R. (2017). Hydroalcoholic extract of *Stevia rebaudiana* bert. leaves and stevioside ameliorates lipopolysaccharide induced acute liver injury in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 1040-1050.
20. Geuns, J. M., Buyse, J., Vankeirsbilck, A., and Temme, E. H. (2007). Metabolism of stevioside by healthy subjects. *Experimental Biology and Medicine*, 232(1), 164-173.
21. Nikiforov, A.I. and Eapen, A.K. (2008). A 90-day oral (dietary) toxicity study of rebaudioside A in Sprague-Dawley rats. *International Journal of Toxicology*, 27(1), 65-80.
22. Elnaga, N. A., Massoud, M. I., Yousef, M. I., and Mohamed, H. H. (2016). Effect of stevia sweetener consumption as non-caloric sweetening on body weight gain and biochemical's parameters in overweight female rats. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(1), 155-163.
23. İnternet: Diyabet, Tanı ve Tedavi Rehberi (2017). Web: https://www.turkdiab.org/admin/PICS/webfiles/Diyabet_tani_ve_tedavi__kitabi.pdf. adresinden 15.10.2019' da alınmıştır.
24. Hameed, I., Masoodi, S. R., Mir, S. A., Nabi, M., Ghazanfar, K., and Ganai, B. A. (2015). Type 2 diabetes mellitus: from a metabolic disorder to an inflammatory condition. *World Journal of Diabetes*, 6(4), 598.
25. Marín-Peñalver, J. J., Martín-Timón, I., Sevillano-Collantes, C., and del Cañizo-Gómez, F. J. (2016). Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 7(17), 354.

26. İnternet: American Dietetic Association (2019). Web: https://www.diabetes.org/diabetes?language_content_entity=en adresinden 18.11.2019 tarihinde alınmıştır.
27. Asmat, U., Abad, K. and Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), 547-553.
28. Bigagli, E. and Lodovici, M. (2019). Circulating Oxidative Stress Biomarkers in Clinical Studies on Type 2 Diabetes and Its Complications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-18.
29. İnternet: Diyabet, Tanı ve Tedavi Rehberi (2019). Web: [https://www.turkdiab.org/admin/PICS/files/Diyabet_Tani_ve_Tedavi_Rehberi_2019.pdf]. adresinden 17.10.2019' da alınmıştır.
30. Gültekin, F., Öner, M. E., Savaş, H. B., ve Doğan, B. (2017). Tatlandırıcılar, Glukoz İntoleransı ve Mikrobiyota. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1(Special issue), 34-38.
31. Küçükkömürlü, S. ve Taş, O. (2008). Besin Endüstrisinde Kullanılan Tatlandırıcılar. *Akademik Besin*, 6(1), 23-27.
32. Carocho, M., Morales, P., and Ferreira, I. (2017). Sweeteners as food additives in the XXI century: A review of what is known, and what is to come. *Food and Chemical Toxicology*, 107(Pt A), 302-317.
33. İşgören, A. ve Sungur, S. (2019). Tatlandırıcılar. *Lectio Scientific Journal of Health and Natural Sciences*, 3(1), 19-32.
34. İnternet: U.S. Food and Drug (2019). Web: <https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/additional-information-about-high-intensity-sweeteners-permitted-use-food-united-states>. adresinden 16.07.2019' da alınmıştır.
35. Shankar, P., Ahuja, S. and Sriram, K. (2013). Non-nutritive sweeteners: review and update. *Nutrition*, 29 (11-12), 1293-1299.
36. Carniel Beltrami, M., Döring, T., and De Dea Lindner, J. (2018). Sweeteners and sweet tAST düzeyie enhancers in the food industry. *Food Science and Technology*, (AHEAD), 38(2), 181-187.
37. Purohit, V. and Mishra, S. (2018). The truth about artificial sweeteners - Are they good for diabetics? *Indian Heart Journal*, 70(1), 197-199.
38. DuBois, G. E. and Prakash, I. (2012). Non-caloric sweeteners, sweetness modulators, and sweetener enhancers. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 353-380.
39. Tayfur, M. ve Yabancı Ayhan, N. (2015). *Beslenme ve Diyetetik, Güncel Konular-2* (Birinci Baskı). Türkiye: HATİBOĞLU Yayınevi, 1-43.
40. İnternet: Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019). Web: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/additive-046-m1.pdf. adresinden 16.07.2019' da alınmıştır.

41. İnternet: Food and Argiculture Organization of the United Nations (2019). Web:http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monogaph1/Additive-001.pdf adresinden 27.11.2019'da alınmıştır.
42. İnternet: Food and Argiculture Organization of the United Nations (2019). Web:http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/monogaph14/additive-531-m14.pdf adresinden 27.11.2019'da alınmıştır.
43. İnternet: Food and Argiculture Organization of the United Nations (2019). Web:http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monogaph1/additive-399-m1.pdf adresinden 27.11.2019'da alınmıştır.
44. İnternet: Food and Argiculture Organization of the United Nations (2019). Web:http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monogaph1/Additive-294.pdf adresinden 27.11.2019'da alınmıştır.
45. İnternet: Food and Argiculture Organization of the United Nations (2019). Web:http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monogaph1/additive-380-m1.pdf adresinden 27.11.2019'da alınmıştır.
46. İnternet: Food and Argiculture Organization of the United Nations (2019). Web:http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monogaph1/Additive-444.pdf adresinden 27.11.2019'da alınmıştır.
47. Finamor, I., Pérez, S., Bressan, C. A., Brenner, C. E., Rius-Pérez, S., Brittes, P. C. and Pavanato, M. A. (2017). Chronic aspartame intake causes changes in the trans-sulphuration pathway, glutathione depletion and liver damage in mice. *Redox Biology*, 11, 701-707.
48. İnternet: Birleşmiş Milletler Besin Örgütü (2019). Web: <https://www.fda.gov/media/89189/download>. adresinden 17.07.2019' da alınmıştır.
49. İnternet: Birleşmiş Milletler Besin Örgütü (2019). Web: <https://www.fda.gov/media/89219/download>. adresinden 17.07.2019' da alınmıştır.
50. Rother, K.I., Conway, E.M., and Sylvetsky, A.C. (2018). How non-nutritive sweeteners influence hormones and health. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 29(7), 455-467.
51. İnternet: EFSA (2019). Aspartame Web: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/aspartame>. adresinden 16.07.2019' da alınmıştır.
52. Choudhary, A.K., Sundareswaran, L., and Sheela Devi, R. (2016). Aspartame induced cardiac oxidative stress in Wistar albino rats. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 30(1), 29-37.
53. İnternet: World Health Organizatoin (2019). Web: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa/database/chemical.aspx?chemID=62>. adresinden 16.07.2019' da alınmıştır.

54. Durmaz, S.E. and Keser, A. (2018). *Yapay tatlandırıcıların vücut ağırlığı ve insülin direnci üzerine etkileri. Gazi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(2), 8-15.
55. Choudhary, A.K. and Devi, R.S. (2014). Serum biochemical responses under oxidative stress of aspartame in wistar albino rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, 403-410.
56. Iyaswamy, A., Wankhar, D., Loganathan, S., Shanmugam, S., Rajan, R., and Rathinasamy, S. (2017). Disruption of redox homeostasis in liver function and activation of apoptosis on consumption of aspartame in folate deficient rat model. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, 8, 41-50.
57. Ashok, I. and Sheeladevi, R. (2015). Oxidant stress evoked damage in rat hepatocyte leading to triggered nitric oxide synthase (NOS) levels on long term consumption of aspartame. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4), 679-691.
58. İnternet: FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (2017). Steviol Glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni. Web: <http://www.fao.org/3/BU297en/bu297en.pdf>. adresinden 17.07.2019' da alınmıştır.
59. İnternet: Food and Agriculture Organization (2019). Web: <http://www.fao.org/3/x3860e/X3860E40.htm> adresinden 27.11.2019' da alınmıştır.
60. Çınar, A. (2014, 26 Mart). *Stevia ile ilgili genel bilgiler*, 1st Balkan Conference of Stevia. Volos, Yunanistan.
61. Kovačević, D. B., Maras, M., Barba, F. J., Ganato, D., Roohinejad, S., Mallikarjunan, K., and Putnik, P. (2018). Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: A review. *Food Chemistry*, 268, 513-521.
62. Debnath, M., Ashwath, N., Hill, C. B., Callahan, D. L., Dias, D. A., Jayasinghe, N. S., and Roessner, U. (2018). Comparative metabolic and ionic profiling of two cultivars of *Stevia rebaudiana* Bert.(Bertoni) grown under salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 129, 56-70.
63. Fry, J. C. (2012). Natural low-calorie sweeteners. In *Natural Food Additives, Ingredients and Flavours*, 41-75. Woodhead Publishing.
64. İnanç, A.L. ve Çınar, İ. (2009). Alternatif doğal tatlandırıcı: Stevya. *Besin*, 34(6), 411-420.
65. Elnaga, N. A., Massoud, M. I., Yousef, M. I., and Mohamed, H. H. (2016). Effect of stevia sweetener consumption as non-caloric sweetening on body weight gain and biochemical's parameters in overweight female rats. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(1), 155-163.
66. Rotimi, S. O., Rotimi, O. A., Adelani, I. B., Onuzulu, C., Obi, P., and Okungbaye, R. (2018). Stevioside modulates oxidative damage in the liver and kidney of high fat/low streptozocin diabetic rats. *Heliyon*, 4(5), 1-20.

67. İnternet: Food and Agriculture Organization (2008). Steviol Glycosides. Web: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/monograph10/additive-442-m10.pdf. adresinden 17.07.2019' da alınmıştır.
68. Jeppesen, P. B., Gegersen, S., Poulsen, C. R., and Hermansen, K. (2000). Stevioside acts directly on pancreatic β cells to secrete insulin: Actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate—sensitivie K^+ -channel activity. *Metabolism*, 49(2), 208-214.
69. Ramos-Tovar, E., Flores-Beltrán, R. E., Galindo-Gómez, S., Camacho, J., Tsutsumi, V. and Muriel, P. (2019). An aqueous extract of *Stevia rebaudiana* variety Morita II prevents liver damage in a rat model of cirrhosis that mimics the human disease. *Annals of hepatology*, 18(3), 472-479.
70. Ramos-Tovar, E. and Muriel, P. (2019). Phytotherapy for the Liver. In *Dietary Interventions in Liver Disease*, 101-121. Academic Press.
71. Boonkaewwan, C., Toskulkao, C., and Vongsakul, M. (2006). Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of stevioside and its metabolite steviol on THP-1 cells. *Journal of Agicultural and Food Chemistry*, 54(3), 785-789.
72. Zhao, L., Yang, H., Xu, M., Wang, X., Wang, C., Lian, Y. and Dai, H. (2019). Stevia residue extract ameliorates oxidative stress in d-galactose-induced aging mice via Akt/Nrf2/HO-1 pathway. *Journal of Functional Foods*, 52, 587-595.
73. Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456-80.
74. Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan içeren bazı besinler ve oksidatif stres. *Journal of Inonu University Medical Faculty*, 17(2), 143-153.
75. Çaylak, E. (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 73-83.
76. Dündar, Y. (2000). Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. *Afyon: Kocatepe Üniversitesi Yayınları*, 29-95.
77. İnternet: Emecen, Ö. (2009). Astımlı hastalarda serum total oksidan/antioksidan status ve ECP düzeylerinin değerlendirilmesi. Web: http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/biyokimya/dr_omer_emecen.pdf adresinden 18.11.2019 tarihinde alınmıştır.
78. Erçim, R.E. (2018). *Hemodiyaliz Hastalarında Diyetin Besin Ögesi İçeriği ve Total Antioksidan Kapasitesi ile Serum Oksidatif Stres İndeksi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi* (Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi, 2018), 78.
79. Hıncal, F. ve Ataçeri, N. (1989). Selenyum'un İnsan Sağlığındaki Rolü. *FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi*, 14, 23-38.
80. Annagür, A. (2011). *Yenidoğan sepsisinde total antioksidan seviye, total oksidan seviye ve serum paraoksonaz-1 düzeyleri*. (Yan Dal Uzmanlık Tezi, Meram Tıp Fakültesi, 2011), 42.

81. Erel, O. (2005), A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
82. Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 50-59.
83. İnternet: Altınışik, M. (2000). Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. <https://www.mustafa-altinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf> adresinden 18.11. 2019 tarihinde alınmıştır.
84. Altiner, A., Atalay, H., and Bilal, T. (2018). Free radicals and the relationship with stress. *Balikesir Health Sciences Journal*, 7(1), 51-55.
85. Matough, F. A., Budin, S. B., Hamid, Z. A., Alwahaibi, N. and Mohamed, J. (2012). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 12(1), 5.
86. Nimse, S.B. and Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986-28006.
87. Güneş, H. (1999). Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. *Turkish Journal of Biology*, 23, 283-292.
88. İnternet: Mayer, G. (2016). Sitokinler ve İmmünoregülasyon. Web: <https://www.microbiologybook.org/Turkish-immunol/immunolchapter13turk.htm>. adresinden 13.10.2019' da alınmıştır.
89. Stenken, J.A. and Poschenrieder, A. J. (2015). Bioanalytical chemistry of cytokines--a review. *Analytica Chimica Acta*, 853, 95-115.
90. Zhang, J. M. and An, J. (2007). Cytokines, inflammation and pain. *International Anesthesiology Clinics*, 45(2), 27.
91. Güner, I., Özmen, D., ve Bayindir, O. (1997). Sitokinler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 17(2), 65-74.
92. Nair, A.B. and Jacob, S. (2016). A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 7, 27-31.
93. Sharma, R., Yadav, R., and Manivannan, E. (2012). Study of effect of Stevia rebaudiana bertonii on oxidative stress in type-2 diabetic rat models. *Biomedicine & Aging Pathology*, 2(3), 126-131.
94. Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277-285.
95. Kılıç, E., Toprak, A. E., Ayhan, S. K., Baş, A., ve Duruyen, S. (2015). Şizofrenik Hastaların Atak ve Remisyon Dönemlerinde Oksidatif Stress. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 7(4), 286-298.

96. İnternet: American Diabetes Association (2019). Web: <https://www.diabetes.org/diabetes/type-2/symptoms>. adresinden 19.11.2019' da alınmıştır.
97. Onaolapo, A.Y., Onaolapo, O.J., and Nwoha, P.U. (2016). Alterations in behaviour, cerebral cortical morphology and cerebral oxidative stress markers following aspartame ingestion. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 78, 42-56.
98. Hall, W.L, Millward D.J, Rogers, P.J, and Morgan L.M. (2003). Physiological mechanisms mediating aspartame-induced satiety. *Physiology & Behavior*, 78, 557–62.
99. Steinert, R.E., Frey, F., Töpfer, A., Drewe, J., and Beglinger, C. (2011). Effects of carbohydrate sugars and artificial sweeteners on appetite and the secretion of gastrointestinal satiety peptides. *British Journal of Nutrition*, 105(9), 1320-1328.
100. Holvoet, P., Rull, A., García-Heredia, A., López-Sanromà, S., Geeraert, B., Joven, J., and Camps, J. (2015). Stevia-derived compounds attenuate the toxic effects of ectopic lipid accumulation in the liver of obese mice: a transcriptomic and metabolomic study. *Food and Chemical Toxicology*, 77, 22-33.
101. Wu, T., Bound, M. J., Standfield, S. D., Bellon, M., Young, R. L., Jones, K. L., Horowitz M., and Rayner, C. K. (2013). Artificial sweeteners have no effect on gastric emptying, glucagon-like peptide-1, or glycemia after oral glucose in healthy humans. *Diabetes Care*, 36(12), 202-203.
102. Lebda, M.A., Tohamy, H.G., and El-Sayed, Y.S. (2017). Long-term soft drink and aspartame intake induces hepatic damage via dysregulation of adipocytokines and alteration of the lipid profile and antioxidant status. *Nutrition Research*, 41, 47-55.
103. Gerozissis, K. (2004). Brain insulin and feeding: a bi-directional communication. *European Journal of Pharmacology*, 490, 59–70.
104. Dyrskog, S. E. U., Jeppesen, P. B., Colombo, M., Abudula, R., and Hermansen, K. (2005). Preventive effects of a soy-based diet supplemented with stevioside on the development of the metabolic syndrome and type 2 diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Metabolism*, 54(9), 1181-1188.
105. Toskulkao, C. and Sutteerawattananon, M. (1994). Effects of stevioside, a natural sweetener, on intestinal glucose absorption in hamsters. *Nutrition Research*, 14(11), 1711-1720.
106. Ilić, V., Vukmirović, S., Stilinović, N., Čapo, I., Arsenović, M., and Milijašević, B. (2017). Insight into anti-diabetic effect of low dose of stevioside. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 216-221.
107. Ahmad, U. and Ahmad, R. S. (2018). Antidiabetic property of aqueous extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves in Streptozotocin induced diabetes in albino rats. *Complementary and Alternative Medicine*, 18: 1-12. doi:org/10.1186/s12906-018-2245-2.
108. Latha, S., Chaudhary, S., and Ray, R. S. (2017). Hydroalcoholic extract of *Stevia rebaudiana* bert. leaves and stevioside ameliorates lipopolysaccharide induced acute liver injury in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 1040-1050.

109. Jeppesen, P. B., Gregersen, S., Alstrup, K. K., and Hermansen, K. (2002). Stevioside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phytomedicine*, 9(1), 9-14.
110. Benton, D. (2005). Can artificial sweeteners help control body weight and prevent obesity?. *Nutrition Research Reviews*, 18(1), 63-76.
111. Lailerd, N., Saengsirisuwan, V., Sloniger, J. A., Toskulkao, C., and Henriksen, E. J. (2004). Effects of stevioside on glucose transport activity in insulin-sensitive and insulin-resistant rat skeletal muscle. *Metabolism*, 53(1), 101-107.
112. Saleh, A. S, A. (2015). Anti-neuroinflammatory and antioxidant effects of N-acetyl cysteine in long-term consumption of artificial sweetener aspartame in the rat cerebral cortex. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 72, 73-80.
113. Casas-Grajales, S., Ramos-Tovar, E., Chávez-Estrada, E., Alvarez-Suarez, D., Hernández-Aquino, E., Reyes-Gordillo, K., Cerda-Garcia-Rojas, C.M., Camacho, J., Tsutsumi, V., Lakshman, M.R., and Muriel, P. (2019). Antioxidant and immunomodulatory activity induced by stevioside in liver damage: In vivo, in vitro and in silico assays. *Life Sciences*, 224, 187-196.
114. Alavala, S., Sangaraju, R., Nalban, N., Sahu, B. D., Jerald, M. K., Kilari, E. K., and Sistla, R. (2019). Stevioside, a diterpenoid glycoside, shows anti-inflammatory property against Dextran Sulphate Sodium-induced ulcerative colitis in mice. *European Journal of Pharmacology*, 855, 192-201.
115. Onaolapo, A.Y., Abdusalam, S.Z., and Onaolapo, O.J. (2017). Silymarin attenuates aspartame-induced variation in mouse behaviour, cerebrocortical morphology and oxidative stress markers. *Pathophysiology*, 24(2), 51-62.
116. Simon, B. R., Parlee, S. D., Learman, B. S., Mori, H., Scheller, E. L., Cawthorn, W. P., Ning, X., Gallagher, K., Tyrberg, B., Assadi-Porter, F.M., Evans, C.R., and MacDougald, O. (2013) Artificial sweeteners stimulate adipogenesis and suppress lipolysis independently of sweet taste receptors. *Journal of Biological Chemistry*. 288, 32475–32489.





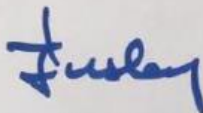
EKLER

EK-1. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu katılım sertifikası

**XX.** DENEY HAYVANLARI
UYGULAMA VE ETİK KURSU
23-31 Mayıs 2017
KATILIM SERTİFİKASI

Sayın, Merve PEHLİVAN

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı ile Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi tarafından, 23-31 Mayıs 2017 tarihleri arasında düzenlenen "XX. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu"na katılarak, Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlamış ve bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.


Prof. Dr. İbrahim USLAN
REKTÖR


Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
ETİK KURUL BAŞKANI

Sertifika no: 2017/2C -36

EK-2. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 15/02/2019-E.21595



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Doç. Dr. Eda KÖKSAL
Beslenme ve Diyetetik Bölüm Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Daha önce 17.11.2018 tarih ve E.152913 sayılı yazımız ile onay alan G.Ü.ET-18.078 kod numaralı *"Tip 2 Diyabetli Ratlarda Doğal ve Yapay Tatlandırıcıların Glukoz İntoleransı, Karaciğer Enzimleri ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi"* başlıklı çalışmanız ile ilgili vermiş olduğunuz 03.01.2019 tarih ve E.978 sayılı dilekçeniz Kurulumuzun **08.02.2019** tarih ve **01** sayılı toplantısında incelenmiş olup,

Çalışmanız ile ilgili uygun görülen 36 adet ratın çalışma ile ilgili yeterli olmayacağı, bu nedenle hayvan sayısının 60 rat olarak tamamlanması amacıyla 24 adet daha rat talebinizin uygun görülmesine oybirliği ile karar verilmiş, karara ilişkin imza çizelgesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek: 1 Liste

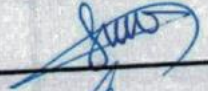
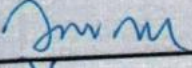
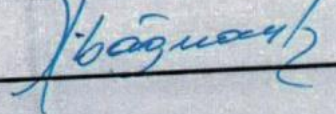
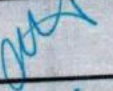
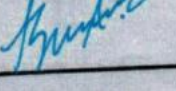


Ankara
Tel: 0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks: 0 (312) 202 38 76
e-Posta : hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi : http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için : Nursel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No: 202 20 57

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-2. (devam) Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ	
TOPLANTI TARİHİ :08.02.2019	TOPLANTI SAYISI : 01
ADI-SOYADI	İMZA
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	KATILAMADI
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Doç.Dr.İpek SÜNTAR	KATILAMADI
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	KATILAMADI

EK-3. Rat yemi temel besin maddeleri

Çizelge E.1. Rat yemi temel besin maddeleri

Temel besin maddeleri	
Ham yağ	%3,15
Ham kül	%6,39
Lizin	%1,33
Fosfor	%0,98
Ham protein	%23,50
Ham selüloz	%5,91
Metionin	%0,43
Kalsiyum	%0,86
Sodyum	%0,05

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : PEHLİVAN ZENGİN, Merve
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 02.07.1991, ANKARA
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0530 067 76 00
 e-mail : pehlivan.merve@hotmail.com



Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi/ Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Başkent Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı	2015
Lisans	Başkent Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2013
Lise	Yıldırım Beyazıt Anadolu Lisesi	2009

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014-devam ediyor	Kırklareli Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2017-2018	Gazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

A. Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler: (SCI Tarafından Taranan Makaleler)

1. Şanlıer, N., Pehlivan, M., Sabuncular G., Bakan S., İşgüzar Y. (2018). Determining the relationship between body mass index, healthy lifestyle behaviors and social appearance anxiety. *Ecology of Food and Nutrition*, 57(2), 124-139., Doi: 10.1080/03670244.2017.1419343 (Yayın No: 3957592)

B. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında (Proceedings) Basılan Bildiriler

1. Pehlivan, M. ve Çakmak, G. (2018). *Sağlıklı Yetişkinlerde Uygulanan Glütensiz Diyetin Makro ve Mikro Besin Ögesi Yetersizlikleri Üzerine Etkisi*. 1st International Health Science and Life Congress (IHSLC 2018) (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4326453)
2. Pehlivan, M. ve Akdevelioğlu, Y. (2018). *Polikistik over sendromu ve insülin direnci arasındaki ilişki*. 1st International Health Science and Life Congress (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4279311)
3. Pehlivan, M. ve Köksal, E. (2017). *Vitamin D ve Depresyon Arasındaki İlişki*. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongesi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3648844)
4. Köksal, E. ve Pehlivan, M. (2017). *Genç Bireylerde Obezite Belirleyicisi Antropometrik Parametrelerin Kan Basıncı ile İlişkisi*. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongesi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3648549)
5. Tatar T., Tek, N., Akbulut, G., Pehlivan, M. (2017). *Yenilebilir Mantarların Besin Bileşimi ve Sağlık Faydaları*. Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongesi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3493959)
6. Pehlivan, M., Tek, N., Akbulut, G., Karaçıl Ermumcu, M. Ş. (2017). *Effects Of Capsaicin On Energy Metabolism*. Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongesi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3493891)
7. Tatar, T., Tek, N., Akbulut, G., Pehlivan, M. (2017). *Nutritional Composition and HeALT düzeyih Benefits Of Edible Mushrooms*. 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3745933)
8. Pehlivan, M., Tek, N., Akbulut, G., Ağagündüz, D. (2017). *Capsaicin And Its Effects On Appetite*. Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongesi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3493903)

C. Yazılan Uluslararası Kitaplar

1. Pehlivan, M., Sabuncular, G., Mermer, M., Akbulut, G. (2017). *Tıbbi Beslenme Tedavisinde Güncel Uygulamalar-XI: Böbrek HAST düzeyialıklarında Tıbbi Beslenme Tedavisi*. Ankara Nobel Tıp Kitapevleri, Editör: Akbulut G, Basım sayısı:1, ISBN:978-605-9215-25-1, Türkçe(Bilimsel Kitap), (Yayın No: 3441728).

D. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Pehlivan, M., Aksoydan, E. (2012). Yetişkin kadınlarda vücut ağırlığının mental sağlığa etkisi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 40(1), 12-21. (Kontrol No: 4326452)

Hobiler

Kitap okumak



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...