



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
İLAÇ VE FARMASÖTİK TEKNOLOJİ UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
(KTÜ İLAFAR)



T.C.
AKÇAABAT BELEDİYE BAŞKANLIĞI
AKÇABEL TİCARET ANONİM ŞİRKETİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

Araştırma Projesi Sözleşmesi

“Akçaabatta Yetiştirilen Aronya Meyvesinin Glisemiye Etkisinin *in vivo* Diyabet Modelinde İncelenmesi”

1. Dayanak

İş bu Araştırma Projesi Sözleşmesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi ile Akçaabat Belediye Başkanlığı arasında 6 Şubat 2023 tarihinde imzalanan iş birliği protokolüne istinaden hazırlanmıştır.

2. Projenin amacı

Planlanan çalışma kapsamında, Akçaabat bölgesinde yetiştirilen aronya (*Aronia melanocarpa*) meyvesinden elde edilen meyve suyunun diyabetik deney hayvanı (fare) modelinde glisemiye etkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

3. Projenin kapsamı

Halk arasında süper meyve olarak bilinen, diyabet hastalarında kan şekerini düşürücü etkileri olduğu düşünülen ve bilimsel literatürde de bununla ilgili verilerin bulunduğu *Aronia melanocarpa*'nın Akçaabat bölgesinde yetiştirilen meyvesinin diyabet modeli oluşturulan farelerde açlık kan şekeri üzerine etkisi *in vivo* deneylerle araştırılacaktır.

4. Projenin yaygın etkisi

Proje sonucunda, Akçaabatta yetiştirilen aronya (*Aronia melanocarpa*) meyvesinin diyabetik farelerde açlık kan şekeri üzerine etkisi tespit edilmiş olacaktır. Proje çıktılarının yeni projelere öncülük etme etkisi yüksektir. Literatürle uyumlu bir sonuç bulunduğu takdirde bir sonraki aşamada bu türün meyve suyunun içeriği analiz edilerek, aronya tedavisi ile diyabetin ve diğer bazı kronik hastalıkların çeşitli komplikasyonlarının önlenmesi konusunda deneysel araştırmalar yapılacaktır. Beklenen etkinin görülmesi durumunda elde edilen bulgular bölgemizde yetiştirilen aronya türünün ürüne dönme potansiyelini güçlendirecek; bu sayede ilaç ve takviye edici gıda endüstrisine katkı yapılmasına olanak sağlayacaktır.

5. Proje işleyiş/süreç

Proje 3 iş paketinden oluşup süresi 6 ay olarak planlanmıştır. İş paketleri ile ilgili detaylar ve deneysel yöntem Ek-1 de belirtilmiştir.

6. Bütçe

Bütçe detayları Ek-1'de verilmiştir.

7. Proje ekibi

Proje yürütücüsü: Arş. Gör. Dr. İrem ÇAVUŞOĞLU NALBANTOĞLU (İLAFAR- Yürütücü)

Araştırmacılar: Berkay DEMİRÇİ (İLAFAR-Araştırmacı), Elif GÜN (İLAFAR-Araştırmacı), İlyas AY (İLAFAR-Araştırmacı), Serhat SEVGİ (KTÜ Eczacılık Fakültesi-Araştırmacı), Zain KALHA (KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Araştırmacı)

Proje sorumlusu: Prof. Dr. F. Sena SEZEN (İLAFAR Müdürü)

8. Diğer hususlar

- Proje başlama tarihi: Eylül 2024
- Proje kapsamındaki çalışmalarda resmi makamlardan izin alınması gereken durumlarda oluşabilecek gecikme proje süresine dâhil edilmeyecektir.
- Proje kapsamındaki çalışmaların yürütülmesi için gereken madde/malzeme/deney hayvanları ücretlerinden oluşan proje bütçesi ve araştırma projesinde kullanılacak *Aronia melanocarpa* türüne ait meyve suyu T.C. AKÇAABAT BELEDİYE BAŞKANLIĞI AKÇABEL TİCARET ANONİM ŞİRKETİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ tarafından karşılanacaktır.

- Proje kapsamındaki çalışmalar İLAFAR ve sorumlu araştırmacıların laboratuvar imkânları kullanılarak yürütülecektir.
- Proje onaylanmasını takiben 1. ve 2. iş paketleri kapsamında deney hayvanları ile çalışmaların ilgili etik kurul izin başvuruları İLAFAR tarafından yapılacaktır.
- Proje süresince taraflar, 06/02/2023 tarihinde Akçaabat Belediye Başkanlığı ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Rektörlüğü arasında imzalanan protokol hükümlerine uymakla yükümlüdür.

Bu proje sözleşmesi **toplam 6 (altı) sayfadan (Ek-1 dâhil)** ibaret olup, işbu sözleşme "AKÇAABAT BELEDİYE BAŞKANLIĞI, AKÇABEL TİCARET ANONİM ŞİRKETİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ" ile "KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ, İLAÇ VE FARMASÖTİK TEKNOLOJİ UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ (İLAFAR)" arasında 2 nüsha olarak düzenlenmiş ve **26/08/2024** tarihinde taraflarca imzalanarak yürürlüğe girmiştir.


Osman Nuri EKİM
Akçaabat Belediye Başkanı


Prof. Dr. Hamdullah ÇUVALCI
KTÜ Rektörü

İŞ PAKETLERİ, YÖNTEM, BÜTÇE

Tablo 1: İş paketleri	Sorumlu kurum	Süre
1. a) Deney hayvanlarının temini ve uygun koşullarda barındırılması	İLAFAR	1-2 ay
b) Deney hayvanlarında Streptozotosin (STZ) ile diyabet modelinin oluşturulması	İLAFAR	1-2 ay
2. a) Diyabet kabul edilen deney hayvanlarının 28 gün boyunca aronya meyve suyu ile beslenmesi	İLAFAR	4 ay
b) 28. günün sonunda açlık kan glikoz seviyelerinin ölçülmesi		4 ay
3. Elde edilen verilerin istatistiksel analizinin yapılması, raporun hazırlanması	İLAFAR	1-3 hafta

Tablo 2: İş paketi takvimi	1. ay	2. ay	3. ay	4. ay	5. ay	6. ay
İş paketi-1						
1a						
1b						
İş paketi-2						
2a						
2b						
İş paketi-3						

İŞ PAKETİ: 1-3

a. Gerekçe

Açlık kan şekeri yüksekliği ile karakterize edilen diyabet, günümüzde yaygın görülen kronik metabolik bir hastalıktır (Lovic vd, 2020). Hastalığın akut komplikasyonlarının önlenmesi ve uzun vadeli komplikasyon (retinal, renal, nöral, kardiyak, periferik vasküler ve serebral) riskinin azaltılmasına yönelik etkili tedavi ve yaklaşımlar geliştirilmesi için çalışmalar devam etmektedir (Li vd, 2023). Çeşitli aronya türlerinin meyve sularının uzun süreli tüketiminin, açlık plazma glikozu dâhil olmak üzere metabolik parametreler üzerinde olumlu etkileri rapor edilmiştir (Hawkins vd, 2021; Yamane vd, 2016). Aronya meyvelerinin glikoz metabolizmasını etkili bir şekilde iyileştirdiği gösterildiğinden diyabet tedavisinde bir seçenek olabileceği belirtilmektedir (Banjari vd, 2017). *A. melanocarpa*'nın içeriğindeki polifenolik bileşikler, kan şekeri seviyelerinin azaltılmasında ve postprandiyal hiperglisemiye kontrol ederek diyabetin başlamasının önlenmesinde yararlı etkilere sahip olabileceği belirtilmiş bir türdür (Bräunlich vd, 2013; Christiansen vd, 2023). Farklı türlere sahip olan aronya meyvesinin halk arasında açlık kan şekeri düzeylerini düşürdüğü kabul edilmektedir. Ancak bu konuda sistematik bilimsel araştırmalar kısıtlıdır. Ayrıca Akçaabat bölgesinde yetiştirilmeye başlanan ve başta meyve suyu olmak üzere çeşitli ürünleri geliştirilen aronya meyvesini etkileri bilinmemektedir. Aronya meyvesinden hazırlanan meyve suyunun açlık kan şekeri düzeyine olan etkisini araştırmak amacıyla planlanan çalışmanın metodu ve malzeme listesi aşağıda belirtilmiştir.

b. Yöntem

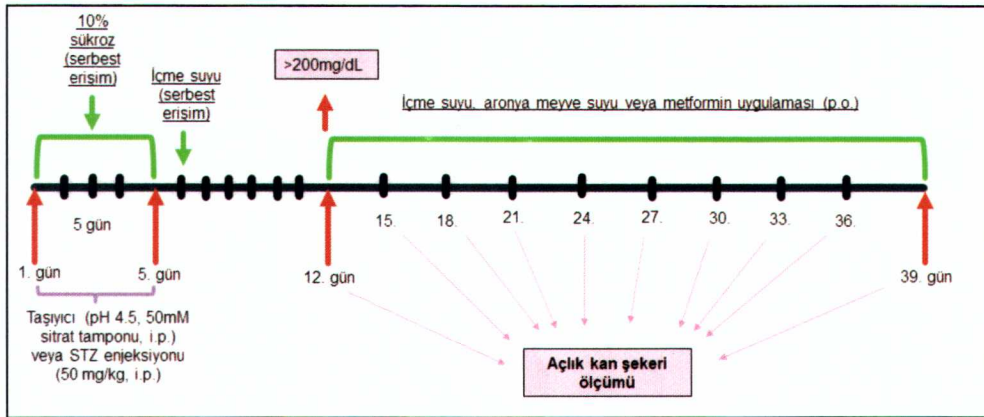
Deney hayvanı: Çalışmamızda 8-12 haftalık (20-25 g ağırlığında) erkek ve dişi C57BL/6 fareler kullanılacaktır. KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınacaktır. Fareler deney gününe kadar sıcaklığı 22±2 °C olan 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortamda sınırsız yem ve su erişimi sağlanarak barındırılacaktır. Deney süresince yem ve su tüketimini gözlemlenmek amacıyla deney başlangıcından sonuna kadar farelere belli miktar yem (6 g/fare) ve su (15 mL/fare) erişimi sağlanacaktır (Üner, 2009; Çalışkaner vd, 1999). Deney protokolü süresince hayvanların beslenme ve su tüketim miktarları düzenli olarak kontrol edilecektir.

Deneysel diyabet modelinin oluşturulması: Farelerde STZ ile diyabet modeli oluşturulacaktır. STZ, 50 mM sodyum sitrat (pH=4.5) tamponunda çözündürülecektir. Çözöldükten sonra 15 ila 20 dakika içinde bozunduğundan, STZ solüsyonu kullanımdan hemen önce hazırlanacak ve çözöldükten sonra 5 dakika içinde enjekte edilecektir (Furman, 2021).

Sodyum sitrat tamponunda çözöndürölen STZ, diyabet gruplarındaki farelere 5 gün boyunca intraperitonel (i.p.) olarak 50 mg/kg dozda uygulanacaktır. Kontrol grubu farelerine de eşit hacimde taşıyıcı (sitrat tamponu) enjekte edilecektir. İlk STZ veya taşıyıcı enjeksiyonunun yapıldığı günden itibaren 5 gün boyunca hayvanların içme suyu %10'luk sükröz çözeltisi ile değıştirilecek, 6. gün ise tekrar normal içme suyuna erişimleri sağlanacaktır. Son STZ uygulamasından 1 hafta sonra 6 saat boyunca aç bırakılan farelerin kuyruk venlerinden kan örneğı alınarak kan glikozu ölçüm cihazı ve ölçüm stripleri ile kan glikoz düzeyleri tespit edilecektir (Furman, 2021). Açlık kan glikoz düzeyleri >200 mg/dl (>11 mmol/L) olan fareler diyabetik olarak kabul edilecektir (Mao vd, 2022).

Aronya meyve suyu ve metformin uygulanması: Metformin, %0.5 karboksimetil selöloz sodyum (CMC-Na) içerisinde çözöndürölererek hazırlanacaktır (Mao vd, 2022). Aronya meyve suyu, Akçaabat Belediyesi Akçabel Ticaret Anonim Şirketi Genel Müdürlüğü tarafından temin edilecektir.

Diyabet indüksiyonundan sonra, farelere 28 gün boyunca oral gavaj (p.o.) yoluyla içme suyu, aronya meyve suyu (0.10 ml/10 mg/gün) veya pozitif kontrol grubu olarak oral antidiyabetik ilaç metformin (200 mg/kg/gün) uygulanacaktır (UBC Animal Care Committee, 2021; Mao vd, 2022). Deney süresince her üç günde bir olmak üzere, bir gece aç bırakılan farelerin kuyruk venlerinden kan örneğı alınarak kan glikozu ölçüm cihazı ve ölçüm stripleri ile kan glikoz düzeyleri ölçülecek ve aynı zamanda vücut ağırlığı takibi yapılacaktır (Jeon vd, 2018; Yamane vd, 2016). Aronya ve ilaç uygulama süresi daha önceki deneysel çalışmalara dayanarak belirlenmiştir (Furman, 2021; Yamane vd, 2016; Mao vd, 2022). Deneysel protokol Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Deneysel protokol

Deney grupları: Çalışma toplam 5 deney grubundan oluşmaktadır. Randomize olarak deney gruplarına ayrılan farelerin bilgileri bir etikete kaydedilerek kafeslere yerleştirilecektir. Grup başına düşen hayvan sayıları daha önce yapılan bir deneysel çalışma referans alınarak n=8 olarak tasarlanmıştır (Jeon vd, 2018). Deney grupları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 3: Deney grupları	n (hayvan sayısı)
Grup 1. Kontrol + İçme suyu	8
Grup 2. Kontrol + Aronya meyve suyu (0.10 ml/10 mg/gün, p.o.)	8
Grup 3. Diyabet + İçme suyu	8
Grup 4. Diyabet + Aronya meyve suyu (0.10 ml/10 mg/gün, p.o.)	8
Grup 5. Diyabet + Metformin (200 mg/kg/gün, p.o.)	8
Toplam	40

İstatistiksel analiz: Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulacaktır. Veriler, One-Way ANOVA post hoc Tukey veya Bonferroni test aracılığı ile Graph Pad Prism 5.0 programı kullanılarak analiz edilecektir. Ortalamalar arası p<0,05 ise anlamlı kabul edilecektir.

(Handwritten signatures)

BÜTÇE: GEREKLİ MADDE/MALZEME/DENEY HAYVANI

Tablo 4: Madde, malzeme listesi ve bütçe	Fiyat- TL (YAKLAŞIK)
Aronya meyve suyu (1 litre)	-
Metformin	-
CMC-Na	-
STZ- 1g	25.000
Sodyum sitrat- 1kg	4.900
Sitrik asit- 1 kg	4.500
Kan glikozu ölçüm stripleri	1.500
Sarf malzeme (steril enjektör, eldiven vb.)	3.500
Deney hayvanı – 40 fare (bakım/yem dâhil)	9.000
%20 KDV	9.680,00
TOPLAM	58.080,00

KAYNAKLAR

- Lovic D, Piperidou A, Zografou I, Grassos H, Pittaras A, Manolis A.(2020). The Growing Epidemic of Diabetes Mellitus. *Curr Vasc Pharmacol.* 18(2):104-109. doi: 10.2174/1570161117666190405165911.
- Li Y, Liu Y, Liu S. et al. (2023). Diabetic vascular diseases: molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Sig Transduct Target Ther* 8, 152. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01400-z>
- Hawkins J, Hires C, Baker C, Keenan L, Bush M. (2021). Daily supplementation with aronia melanocarpa (chokeberry) reduces blood pressure and cholesterol: a meta analysis of controlled clinical trials. *J Diet Suppl.* 18(5):517-530. doi: 10.1080/19390211.2020.1800887.
- Yamane T, Kozuka M, Konda D, Nakano Y, Nakagaki T, Ohkubo I, Ariga H.(2016). Improvement of blood glucose levels and obesity in mice given aronia juice by inhibition of dipeptidyl peptidase IV and α -glucosidase. *J Nutr Biochem.* 31:106-12. doi: 10.1016/j.jnutbio.2016.02.004.
- Banjari I, Misir A, Šavikin K, Jokić S, Molnar M, De Zoysa HKS, Waisundara VY. (2017). Antidiabetic Effects of Aronia melanocarpa and Its Other Therapeutic Properties. *Front Nutr.* 6;4:53. doi: 10.3389/fnut.2017.00053.
- Christiansen CB, Jeppesen PB, Hermansen K, Gregersen S. (2023). Aronia in the Type 2 Diabetes Treatment Regimen. *Nutrients.* 28;15(19):4188. doi: 10.3390/nu15194188.
- Bräunlich M, Slimestad R, Wangensteen H, Brede C, Malterud KE, Barsett H. (2013). Extracts, anthocyanins and procyanidins from Aronia melanocarpa as radical scavengers and enzyme inhibitors. *Nutrients.* 5(3):663-78. doi: 10.3390/nu5030663.
- Üner AG. (2009). Farelerde leptinin lenfosit alt tipleri üzerine in vivo etkileri (Order No. 31162146). Available from ProQuest Dissertations & Theses Global. (3073246626). Retrieved from <https://www.proquest.com/dissertations-theses/farelerde-leptinin-lenfosit-alt-tipleri-üzerine/docview/3073246626/se-2>
- Çalışkaner Ş, Konca Y, Ceylan N, Çördük M, Demirel R, Ceyhan K, Mamak M. (1999). Sıvı Parafin Vasatında Geliştirilmiş Tek Hücre Proteini (Paprin) Üzerinde Biyolojik Bir Araştırma(1). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry,* 23(1), 125 - 131.
- Furman BL. (2021). Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc.* 1(4):e78. doi: 10.1002/cpz1.78.
- Mao W, Fan Y, Wang X, Feng G, You Y, Li H, Chen Y, Yang J, Weng H, Shen X. (2022). Phloretin ameliorates diabetes-induced endothelial injury through AMPK-dependent anti-EndMT pathway. *Pharmacol Res.* 179:106205. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106205.
- Jeon YD, Kang SH, Moon KH, Lee JH, Kim DG, Kim W, Kim JS, Ahn BY, Jin JS. (2018). The Effect of Aronia Berry on Type 1 Diabetes In Vivo and In Vitro. *J Med Food.* 21(3):244-253. doi: 10.1089/jmf.2017.3939.
- UBC Animal Care Committee (2021) TECH 09a - Oral Dosing (Gavage) in Adult Mice SOP.

