

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**STREPTOZOTOCİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN  
SIÇANLARDA OKSİDATİF STRES, DİYABET VE TNF-ALFA  
DÜZEYİ ÜZERİNE KROM VE TRİGONELLA FOENUM-  
GRAECUM'UN (FENUGREEK) KORUYUCU ETKİLERİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Arş. Gör. Güzde ATİLA**

**2014**

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

*Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü*

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

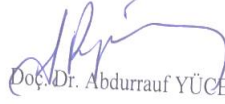


Prof. Dr. Mehmet ÇAY

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek

Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Abdurrauf YÜCE

*Danışman*

*Doktora Smavi Jüri Üyeleri*

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL



Prof. Dr. Mehmet ÇAY



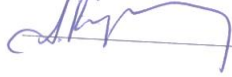
Prof. Dr. Mine ERİŞİR



Prof. Dr. Ebru BEYTUT



Doç. Dr. Abdurrauf YÜCE



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, eğitimime büyük katkıları olan sayın hocam Doç. Dr. Abdurrauf YÜCE'ye sonsuz saygı ve Őükranlarımı sunarım.

Eğitim sürecinde ve tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan, her türlü desteği sağlayan sayın hocalarım Prof. Dr. Mesut AKSAKAL, Prof. Dr. Ebru BEYTUT ve Prof. Dr. Mehmet ÇAY'a katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Yard. Doç. Dr. Hamit USLU, Yard. Doç. Dr. Pınar AKSU, Uzman Dr. Osman İBİŐ'e ve desteklerinden dolayı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, her türlü desteği sağlayan aileme göstermiŐ oldukları sabır ve sevgiden dolayı minnet dolu duygularımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Tablo Listesi	i
Şekil listesi	ii
Kısaltmalar Listesi	iii
<b>1. ÖZET</b>	v
<b>2. ABSTRACT</b>	vii
<b>3. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER</b>	1
3.1. Diyabetes Mellitus'un Tanımı ve Tarihçesi	4
3.2. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması	5
3.2.1. Tip I Diyabetes Mellitus ( İnsüline Bağımlı Diyabet )	5
3.2.2. Tip II Diyabetes Mellitus ( İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet )	8
3.3. Diyabetes Mellitus ve Oksidatif Stres	12
3.4. Streptozotocin	20
3.5. <i>Trigonella Foenum-Graecum</i> ( Fenugreek- Çemen Otu)	24
3.6. Krom	31
3.7. Tümör Nekrozis Faktör	34
<b>4. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	41
4.1. Gereçler	41
4.1.1. Kullanılan Cihazlar	43
4.1.2. Kullanılan Kitler	43
4.1.3. Kullanılan Diğer Malzemeler	44
4.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler	44
4.2. Yöntem	45
4.2.1. Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	45
4.2.1.1. Sodyum sitrat çözeltisi	45
4.2.1.2. Streptozotocin çözeltisi	45
4.2.1.3. Fosfat Tampon Çözeltisi	45
4.2.1.4. <i>Trigonella foenum-graecum</i> Çözeltisi	45
4.2.1.5. Krom Çözeltisi	46
4.2.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	46
4.2.3. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	46
4.2.4. <i>Trigonella foenum-graecum</i> Ekstraktının Hazırlanması	47
4.3. Deney Protokolü	47
4.3.1. Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Belirlenmesi	47
4.3.2. HbA1c Değerlerinin Belirlenmesi	48
4.3.3. Total Oksidan (TOS) Değerlerinin Belirlenmesi	48
4.3.4. Total Antioksidan (TAS) Değerlerinin Belirlenmesi	49
4.3.5. TNF- $\alpha$ Değerlerinin Belirlenmesi	50
4.4. İstatistiksel Analiz	52
<b>5. BULGULAR</b>	53
5.1. Gruplar Arası Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi	53
5.2. Grup İçi Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi	56
5.3. Vücut Ağırlıklarının Zamana Bağlı Olarak Grup İçi Değişimi	59

5.4. HbA1c Düzeyleri	62
5.5. Plazma Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan(TAS) Düzeyleri	63
5.6. Eritrosit Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan(TAS) Düzeyleri	65
5.7. Böbrek Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan (TAS) Düzeyleri	67
5.8. Karaciğer Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan (TAS) Düzeyleri	69
5.9. Plazma ve Karaciğer TNF- $\alpha$ Düzeyleri	71
<b>6. TARTIŞMA</b>	<b>74</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>84</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>98</b>

**TABLO LİSTESİ**

<b>Tablo 1.</b> 100 gr <i>Trigonella foenum-graecum</i> tohumlarındaki kimyasal kompozisyon	25
<b>Tablo 2.</b> TNF'nin yapısı ve özellikleri	37
<b>Tablo 3.</b> TFN'nin fizyolojik ve patolojik etkileri	40
<b>Tablo 4.</b> Sıçan Yemi Bileşimi	42
<b>Tablo 5.</b> Gruplar Arası Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimleri	54
<b>Tablo 6.</b> Grup İçi Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimleri	57
<b>Tablo 7.</b> Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıklarının Grup İçi Günler Arası Değişimleri	60
<b>Tablo 8.</b> Deney Gruplarının HbA1c Düzeyleri	62
<b>Tablo 9.</b> Plazma TOS-TAS Düzeyleri	64
<b>Tablo 10.</b> Eritrosit TOS-TAS Düzeyleri	66
<b>Tablo 11.</b> Böbrek TOS-TAS Düzeyleri	68
<b>Tablo 12.</b> Karaciğer TOS-TAS Düzeyleri	70
<b>Tablo 13.</b> Plazma ve Karaciğer TNF- $\alpha$ Düzeyleri	72

**ŞEKİL LİSTESİ**

<b>Şekil 1.</b> Tip 1 Diyabetes Mellitus'ta insülin yetersizliği	6
<b>Şekil 2.</b> 6. Kromozomda MHC (Major Histocompatibility Complex)	7
<b>Şekil 3.</b> İnsülin Direnci ve GLUT 4'ün Etkisi	10
<b>Şekil 4.</b> Adiponektin ve Sitokinlerin İnsülin Direnci Üzerindeki Etkileri	11
<b>Şekil 5.</b> Oksidatif stres ve diyabet	12
<b>Şekil 6.</b> Non Enzimatik Glikozilasyon	14
<b>Şekil 7.</b> Sorbitol yolu aktivasyonu	15
<b>Şekil 8.</b> Heksozamin yolu	19
<b>Şekil 9.</b> Streptozotocin'in Kimyasal Yapısı	20
<b>Şekil 10.</b> Beta hücrelerinden insülin salınımı	21
<b>Şekil 11.</b> Streptozotocin'in etki mekanizması	22
<b>Şekil 12.</b> Streptozotocin'in ve ksantin oksidaz	23
<b>Şekil 13.</b> 4-Hidroksi İzolösin'in Yapısı	27
<b>Şekil 14.</b> Krom İnsülin İlişkisi	32
<b>Şekil 15.</b> TNF geninin sınıf-1-sınıf-2 MHC gen bölgeleri arasına lokalizasyonu	34
<b>Şekil 16.</b> TNF geninin ekzonları ve intronları	35
<b>Şekil 17.</b> TNF- $\alpha$ 'nın aktif formunun oluşumu	36

**KISALTMALAR LİSTESİ**

- WHO:** Dünya Sağlık Örgütü
- TNF- $\alpha$ :** Tümör Nekrozis Faktör-Alfa
- NPH:** Neutral Protamine Hagedom
- MHC:** Major Histocompatibility Complex
- HLA:** Human Leukocyte Antigen
- IGF-I:** İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
- IDF:** Uluslararası Diyabet Federasyonu
- AGE:** İleri Glikozillenme Son Ürünleri
- NO:** Nitrik Oksit
- GFAT:** Glutamin Fruktoz -6 Fosfat Aminotransferaz
- GlcN-6P:** Glukozamin -6 Fosfata
- GlcN-1P:** Glukozamin -1 Fosfat
- GlcNAc:** N-asetilglukozamine
- UDP-GlcNAc:** Üridin Di Fosfat N Asetilglukozamine
- OGT:** O-N- Asetilglukozamin Transferaz
- DAG:** Diaçilgliserol
- PKC:** Protein Kinaz C
- VEGF:** Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
- STZ:** Streptozotocin
- MDA:** Malondialdehit
- GSH:** Glutathione
- LDL:** Low-Density Lipoprotein
- VLDL:** Very Low-Density Lipoprotein
- HDL:** High-Density Lipoprotein
- HCl:** Hidroklorik Asit



**Cr:** Krom

**GFT:** Glikoz Tolerans Faktör

**ESADDI:** Tahmini Güvenli ve Yeterli Günlük Diyet Alımı

**LPS:** Lipopolisakkarit

**TNF- $\beta$ :** Tümör Nekrozis Faktör-Beta

**IL-2:** İnterlökin-2

**GM-CSF:** Granülosit-Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör

**CSF:** Koloni Stimüle Edici Faktör

**TACE:** Tümör Nekrozis Faktörü Dönüştürücü Enzim

**SOR:** Serbest Oksijen Radikalleri

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen Peroksit

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>:** Nitrojen Dioksit

**MnSOD:** Manganeze Duyarlı Süperoksit-Dismutaz

**TFG:** *Trigonella foenum-graecum*

**TOS:** Total Oksidan Seviyeleri

**TAS:** Total Antioksidan Seviyeleri

**TBARS:** Thiobarbitürik Asit Reaktif Substans

## 1. ÖZET

Bu çalışma, streptozotocin ile Tip I diyabet oluşturulan sıçanlarda krom ve *Trigonella foenum-graecum*'un (TFG) birlikte ve ayrı uygulanmasının oksidatif stres, TNF- $\alpha$  ve diyabet üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yapıldı.

Çalışmada her grupta 10 hayvan olacak şekilde 60 adet, 2-3 aylık dişi *Sprague-Dawley* cinsi sıçan kullanıldı. Kontrol grubuna ip. ve 21 gün oral serum fizyolojik uygulandı. Deneme grubundaki hayvanlara ip. 50 mg/kg tek doz STZ uygulamasıyla diyabet oluşturuldu. Diyabet kontrol (DK) grubuna serum fizyolojik, Trigonella grubuna 150 mg/kg TFG, krom grubuna 30  $\mu$ g/kg krom, kombine gruba 150 mg/kg TFG+30  $\mu$ g/kg krom oral olarak, insülin grubuna ise subkutan 1IU insülin 21 gün uygulandı.

Çalışmanın 0., 3. ve diyabet oluşturulduktan sonraki 7., 14., 21. günlerde açlık kan glikoz değerleri, 21. günde HbA<sub>1c</sub> ile Total Oksidan(TOS), Total Antioksidan(TAS) ve TNF- $\alpha$  değerleri ölçüldü.

DK grubu ile diğer diyabetli grupların 21. gündeki açlık kan glikoz değerleri kıyaslandığında TFG, insülin ile TFG+Cr gruplarında  $p<0,001$ , Cr grubunda  $p<0,01$  düzeyinde azalma olduğu, HbA<sub>1c</sub> değerlerinde ise önemlilik olmadığı belirlendi.

Diyabetli deneme gruplarının plazma, eritrosit ve karaciğer TOS düzeyleri DK grubuna kıyasla önemsiz bir azalma gösterdi. Böbrek TOS düzeylerinde kombine grupta  $p<0,05$  oranında azalış belirlendi. Eritrosit ve karaciğer TAS düzeylerinde önemlilik olmadığı, plazma TAS değerlerinde insülin grubunda, böbrek TAS değerlerinde ise krom grubunda  $p<0,05$  düzeyinde artışlar saptandı.

DK grubu ile diyabetli deneme gruplarının plazma TNF- $\alpha$  değerleri kıyaslandığında krom grubunda  $p<0,05$ , karaciğer TNF- $\alpha$  değerleri karşılaştırıldığında ise insülin grubunda  $p<0,001$  oranında azalma belirlendi.

Sonuç olarak; Tip I diyabette artan hiperglisemi, oksidatif stres ve TNF- $\alpha$ 'nın etkilerinin hafifletilmesinde ve açlık kan glikoz değerlerinde oluşan artışların kontrol altında tutulmasında, eksojen kullanılan *Trigonella foenum-graecum* ve kromun faydalı olduğu ancak insülinle birlikte verilmelerinin daha etkili olacağı kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler;** Diyabet, *Trigonella foenum-graecum*, Krom, TNF- $\alpha$ , Oksidatif Stres.

## 2. ABSTRACT

### **PROTECTIVE EFFECTS OF CHROMIUM AND *TRIGONELLA FOENUM-GRaecUM* (FENUGREEK) ON OXIDATIVE STRESS, DIABETES AND TNF-ALFA LEVEL IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS**

This study was conducted in order to determine the effects of the use of chrome and *Trigonella foenum-graecum* (TFG) both together and individually, on the oxidative stress, TNF- $\alpha$  and diabetes of the rats in which diabetes was caused to occur with streptozotocin.

In the study, 60 female rats of *Sprague-Dawley* was used, all 2-3 months old and being 10 of them in each group. Physiological saline solution was given orally for 21 days to the control group. Diabetes was caused to occur in the experimental group with 50 mg/kg single dose of STZ. Physiological saline solution to the diabetes control group (DC), 150 mg/kg of TFG to the Trigonella group, 30  $\mu$ g/kg of chrome to the chrome group, 150 mg/kg TFG+30  $\mu$ g/kg chrome to the combined group orally and subcutaneous 1IU insulin was given to the insulin group for 21 days.

On the 0<sup>th</sup> and 3<sup>rd</sup> and after diabetes was caused to occur, on the 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, and 21<sup>st</sup> days of the study, preprandial blood glucose counts; and the on 21<sup>st</sup> day, with HbA<sub>1c</sub>, Total Oxidant Status (TOS), Total Antioxidant Status (TAS) and TNF- $\alpha$  numbers were counted.

When the preprandial blood glucose counts of the 21<sup>st</sup> days of the DC group and the other groups with diabetes were compared, it was found that there

was a decrease in the TFG, insulin and TFG+Cr groups by  $p<0.001$ , by  $p<0.01$  in the Cr group; and no significance in the HbA<sub>1c</sub> counts.

The plasma, erythrocyte and liver TOS levels of the experimental groups with diabetes showed an insignificant decrease in comparison to the DC group. A decrease of  $p<0.05$  in the kidney TOS levels of the combined group was determined. It was found out that no significance had been present in the erythrocyte and liver TAS levels, and that there was an increase in the plasma TAS levels of the insulin group and in the kidney TAS levels of the chrome group by  $p<0.05$ .

When the counts of the plasma TNF- $\alpha$  levels of the experimental groups with diabetes were compared to the DC group; a decrease of  $p<0.05$  in the chrome group and when the liver TNF- $\alpha$  levels were compared, a decrease of  $p<0.001$  in the insulin group was found out.

In conclusion, it has been established that the exogenous use of *Trigonella foenum-graecum* and chrome are useful in the control of the increases in the levels of preprandial glucose and in the struggle to ease the effects of increasing hyperglycemia, oxidative stress and TNF- $\alpha$ ; however, that the medication of the two together with insulin would be more effective.

**Keywords:** Diabetes, *Trigonella foenum-graecum*, Chrome, TNF- $\alpha$ , Oxidative Stress.

### 3.GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

*Diyabetes Mellitus* karbonhidrat, yağ, protein metabolizması bozukluklarıyla ortaya çıkan kronik metabolik bir hastalık olup (1, 2) günümüzde tam olarak tedavi edilemeyip, uygulanan tedavi yöntemleri diyabete bağlı olarak gelişen akut ve kronik komplikasyonları önlemeye yöneliktir.

Dünya sağlık örgütüne (WHO) göre Dünya genelinde ölümlerin % 5'inden fazlası diyabetten kaynaklanmaktadır. 2010 yılında 220 milyon olan diyabetli hasta sayısının, 2025'de 300 milyonu aşması kaçınılmaz görülmektedir (4). Tüm diyabet vakalarının %5-10'unu Tip I *Diyabetes Mellitus* hastaları oluşturmaktadır. Prevalansı toplumlara göre değişmekle birlikte İngiltere, Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Yeni Zellanda, Portekiz gibi ülkelerde oldukça yüksektir (4, 33). Amerika Birlesik Devletleri'nde diyabet ölüm nedenleri sıralamasında yedinci durumdadır ve 15 milyondan fazla diyabetli hasta bulunmaktadır (123). Türkiye'de ise 6,5-7 milyon diyabetli hasta bulunmaktadır (111, 124).

*Diyabetes Mellitus*'un tedavisinde antidiyabetik bileşiklere yeni kaynaklar aranmakla birlikte, pankreas transplantasyonu, adacık transplantasyonu ve kök hücre çalışmaları devam ettirilmesine rağmen pankreas transplantasyonu ile sağlaltımın mümkün olabileceği gösterilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda pankreasın tümü transplantasyonda kullanıldığında vasküler tromboz, pankreas kanalı drenaj güçlükleri ve doku reddi gibi komplikasyonların geliştiği belirtilmektedir. Bu nedenle şeker hastalarında kronik olarak ortaya çıkan ve yaşam kalitesini düşüren komplikasyonlar ortadan kaldırılamamakta ve hasta ömür boyu diyabet hastası olarak kalmaktadır (5, 7). Ayrıca *Diyabetes Mellitus*

komplasyonlarının tedavisi ÷lke ekonomileri için yüksek maaliyetlere neden olmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık direkt (160) ve indirekt diyabet harcamalarının 174 milyar dolardan daha fazla olduğu belirlenmiştir (6).

*Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) ve diğer bitkiler son zamanlarda diyabet tedavisi için yeni antidiyabetik bileşiklere bir kaynak olarak araştırılmaktadır. Baklagiller familyasına ait, anavatanı Hindistan olan ve Asya, Afrika ÷lkelerinde yaygın bir şekilde çeşni olarak kullanılan *Trigonella foenum-graecum*'un besleyici ve onarıcı özellikleri bulunmaktadır (8, 9). *Trigonella foenum-graecum* tohumları sapogeninler, trigonellin, alkaloidler, fosfat, potasyum, bakır, protein, kolin, vitamin C, beta- karoten, nikotinic asit ve folik asit bakımından oldukça zengindir (10). *Trigonella foenum-graecum* tohumları ve yaprakları kullanılarak yapılan klinik çalışmalarda bitkinin; antihiperglisemik, hipoglisemik, hipokolesterolemik ve antioksidan etkiler meydana getirdiği rapor edilmiştir (11, 12). Bu etkilerin biyokimyasal mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen *Trigonella foenum-graecum* tohumlarında bulunan yeni bir amino asitin pankreas langerhans adacıklarında bulunan beta hücrelerini uyarması ile hipoglisemik etkisini, sapogeninler ile ise kolesterol düşürücü etkisini meydana getirdiği düşün÷lmektedir (13).

Üç değerlikli krom diyetdeki esansiyel minerallerdendir, karsinojenik olarak bilinen altı değerlikli bütün formları toksik olup kullanılmaması önerilmektedir (14). Kromun etki mekanizması hala araştırılmakla birlikte, karbonhidrat ve lipit metabolizmasında rol oynayan ve insülinin normal fonksiyon göstermesi için gerekli olan esansiyel minerallerden biridir (15). Yapılan çalışmalarda yüksek kan glikozuna maruz kalındığında, krom takviyelerinin

tümör nekrozis faktör-alfa'nın (TNF- $\alpha$ ) ve oksidatif stresin artmasını engellediği tespit edilmiştir (16).

Bu tez çalışması, deneysel olarak Streptozotocin ile Tip I diyabet oluşturulan sıçanlarda krom ve *Trigonella foenum-graecum'un* birlikte ve ayrı ayrı uygulanmasının oksidatif stres, TNF- $\alpha$  ve diyabet üzerindeki etkilerini belirlemek amacı ile yapıldı.



### 3.1. *Diyabetes Mellitus*'un Tanımı ve Tarihçesi

*Diyabetes mellitus*; insülinin yetersiz ya da hiç salgılanmadığı durumlarda veya salgılanan insülinin etkilediği hedef hücrelerde insülin reseptörlerinin sayıca azalması ya da postreseptör düzeyde insülin etkinliğinin azalması ile gelişen karbonhidrat, yağ, protein metabolizması bozukluklarıyla ortaya çıkan kronik metabolik bir hastalıktır (1, 2, 3).

Tarihçesi çok eski yıllara dayanan *Diyabetes Mellitus*, millattan önce 1500 yılında Mısır'da Papiruslar da fazla idrar yapmakla kendini gösteren bir hastalık olarak tanımlanmıştır (125). Millattan sonra 130-200 yıllarında Kapodokya'da yaşayan Romalı bir hekim olan Arateus kişilerin sürekli ağırlık kaybetmesi nedeniyle eriyip giden anlamına gelen "*Diabetes*" kelimesini ilk olarak kullanmıştır (17). 980-1037 yıllarında İbni Sina ayaklarda görülen diyabetik gangreni ilk kez tanımlamıştır. Şeker hastalarının idrarını tadarak tatlı olduğunu belirleyen Thomas Willis 1764 yılında bu hastalığa ilk kez şekerli diyabet anlamına gelen *Diyabetes Mellitus* adını vermiştir (17, 126).1775 yılında Mathew Dobson şeker hastalarının idrarında şeker varlığını belirlemiştir, 1850 yılında idrarda kantitatif şeker arama metodunu Fehling tarif etmiştir (126). 1869 yılında Paul Langerhans pankreas hücrelerinde iki farklı sistem olduğunu belirlemiş ve langerhans adacıklarını tanımlamıştır. 1889 yılında Mering ve Minkowski pankreatomi yapılan köpekte diyabet geliştiğini belirterek pankreasla hastalığın ilişkisini belirlemiştir (18, 19). 1921 yılında Dr. Frederick Banting ve ona yardım eden tıp öğrencisi Charles Best, pankreasın belirli yerlerinden insülin salındığını tespit etmişlerdir (127). 1925 yılında Erich Frank, *guanidenin* kan şekerini düşürdüğünü gösterdikten sonra, 1926 da keşfettiği sentetik *synthaline* maddesi ile

oral yoldan kan şekerinin kontrol edebileceğini ortaya koymuş ve oral antidiyabetik kullanımına öncülük etmiştir (20).

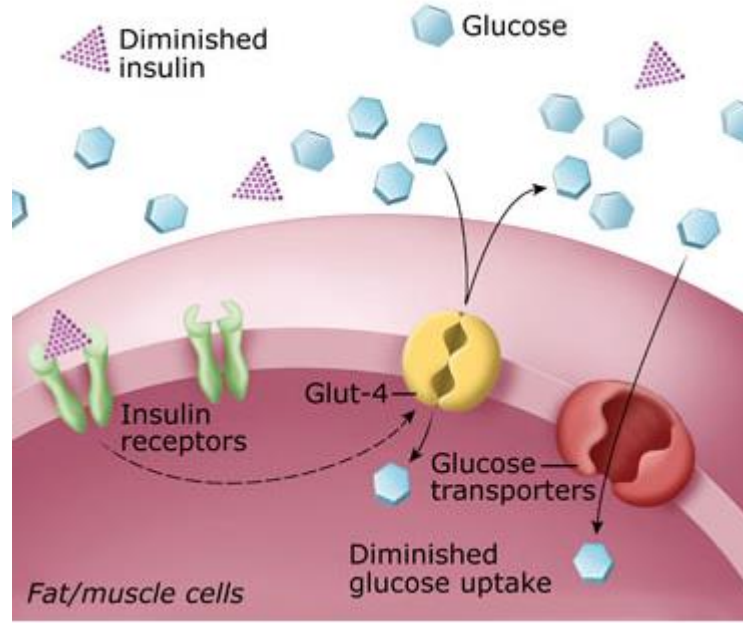
*Diyabetes Mellitus*'un tedavisinde ilk önceleri domuz ve sığır pankreasından elde edilen insülinler kullanılmış olup 1936 yılında Protamin-Zinc insülin, 1946 NPH ( Neutral Protamine Hagedom ), 1951 yılında Lente ailesi insülinleri, 1980'li yıllarda rekombinant DNA teknolojisi ile insan insülinleri üretildi. 1966 yılında Richard Lilehei ve William Kelley tarafından ilk pankreas nakli yapıldı (21).

### **3.2. *Diyabetes Mellitus*'un Sınıflandırılması**

*Diyabetes Mellitus* yaygın olarak insüline bağımlı Tip I diyabet ve insüline bağımlı olmayan Tip II diyabet olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Ayrıca hipofizer diyabet, adrenal diyabet, pankreatik diyabet olarak da sınıflandırılmaktadır.

#### **3.2.1. Tip I *Diyabetes Mellitus* ( İnsüline Bağımlı Diyabet )**

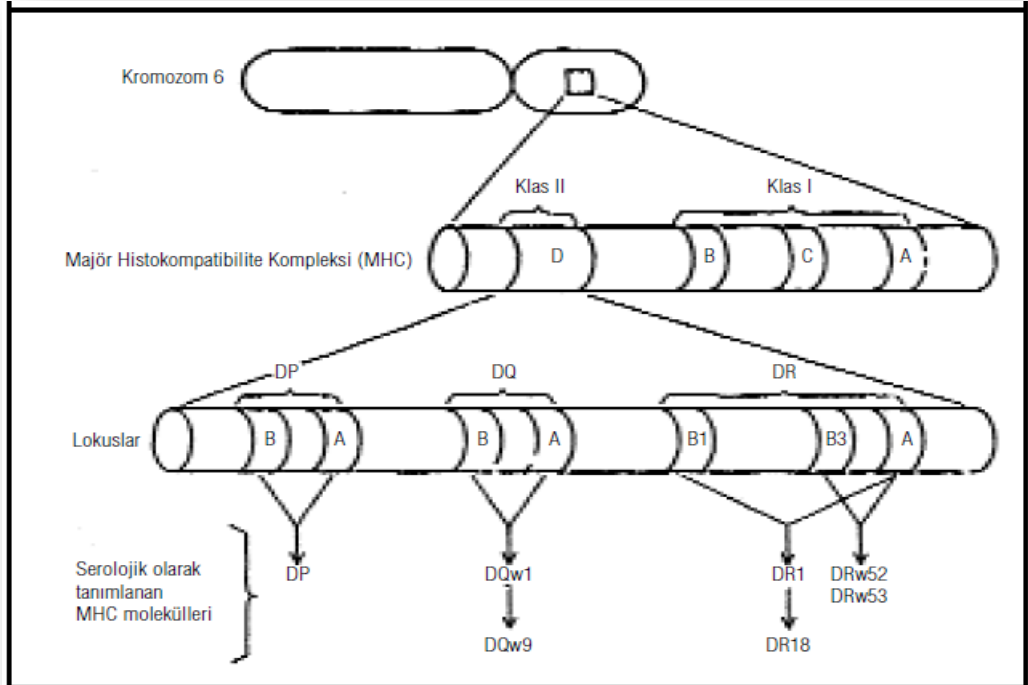
Pankreasın Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinden insülin yapımının bozulması ve beta hücrelerinin kısmen veya tamamen hasarı sonucu şekillenen (Şekil 1), insanlarda genellikle 30 yaş altında özellikle 14-15 yaşlarında görülen ve bu sebep ile **juvenil diyabet** olarak da adlandırılan diyabet türüdür (22).



**Şekil 1.** Tip I *Diyabetes Mellitus*'ta insülin yetersizliği (131).

Tip I *Diyabetes Mellitus*'un şekillenmesinde otoimmünite, genetik faktörler ve viral enfeksiyonlar rol oynamaktadır (23). Otoimmün kaynaklı Tip I *Diyabetes Mellitus* pankreastaki beta hücrelerinin haraplanması ve ortamdaki sitokinlerin beta hücrelerinden insülin sekresyonunu azaltmaları ile şekillenmektedir (23, 24). Virüsler, toksinler, otoimmün antikorlar beta hücrelerini tahrip ederek insülitis tablosunun gelişmesine sebep olmaktadır. İnsülitis gelişmesini takiben lenfositlerden salınan TNF- $\alpha$  ve interlökin-1 sitokinleri, nitrik oksit sentetaz aracılığıyla L-arjinin- nitrik oksit yolunun uyarılmasına neden olur ve hücre içinde nitrik oksit yapımını hızlandırır (26). Aşırı ve kontrolsüz nitrik oksit sentezi, oksidatif fosforilasyonu ve glikolizi arttırmakta ayrıca TCA siklusunun demir içeren bazı enzimlerini inhibe etmekte ve DNA kırılmalarına neden olarak hücre ölümüne ve otoimmün diyabete neden olmaktadır (25).

Tip I diyabetli kişilerin birinci derece akrabalarında diyabet gelişme riskinin 15-20 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir (27). Genetik faktörler Tip I diyabete yatkınlığın 1/3' den sorumludur. 6.kromozomun kısa kolunda yer alan MHC'in de (*Major Histocompatibility Complex*) klas I ve klas II bölgelerinde HLA (Human Leukocyte Antigen) antijenleri bulunmaktadır (Şekil 2). Klas I antijenler HLA-A B C serileridir. Klas II antijenler HLA DR, DQ ve DP serileridir. HLA-DR3-DQ2 ve HLA-DR4-DQ8 haplotipleri Tip I *Diyabetes Mellitus* gelişmesinde önemli rol oynarken, HLA-DR2 ve DR5'in Tip I *Diyabetes Mellitus* gelişmesinde koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır (27, 28). HLA-DR3 veya HLA-DR4 antijeni bulunduran kişilerde Tip I *Diyabetes Mellitus* gelişme riskinin 2-3 kat, HLA-DR3 ve HLA-DR4 antijeninin her ikisinin varlığında 7-10 kat arttığı tespit edilmiştir (27, 29).



**Şekil 2.** 6. Kromozomda MHC (*Major Histocompatibility Complex*) (113).

Virüsler hem direkt sitotoksik etkileri ile hücre hasarı meydana getirerek hem de otoimmunityi tetiklemek suretiyle Tip I *Diyabetes Mellitus* gelişmesine sebep olmaktadır. Bu şekilde insülitis tablosuna yol açan virüslerin başında; rubelle, suçiçeği, koksaki, kabakulak, sitomegalovirüs ( CMV) gelmektedir (30).

Tip I *Diyabetes Mellitus* genellikle çocukluk çağında ortaya çıkan önemli kronik hastalıklardan biridir. Tip I *Diyabetes Mellitus* epidemiyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda dünya nüfusunun sadece % 5'ine ait veriler elde edilmiştir. Tip I *Diyabetes Mellitus*'un Tip II *Diyabetes Mellitus*'a göre görülme oranı daha az olsada Tip I *Diyabetes Mellitus*'un görülme oranı her yıl yaklaşık % 3 artmaktadır (31, 32).

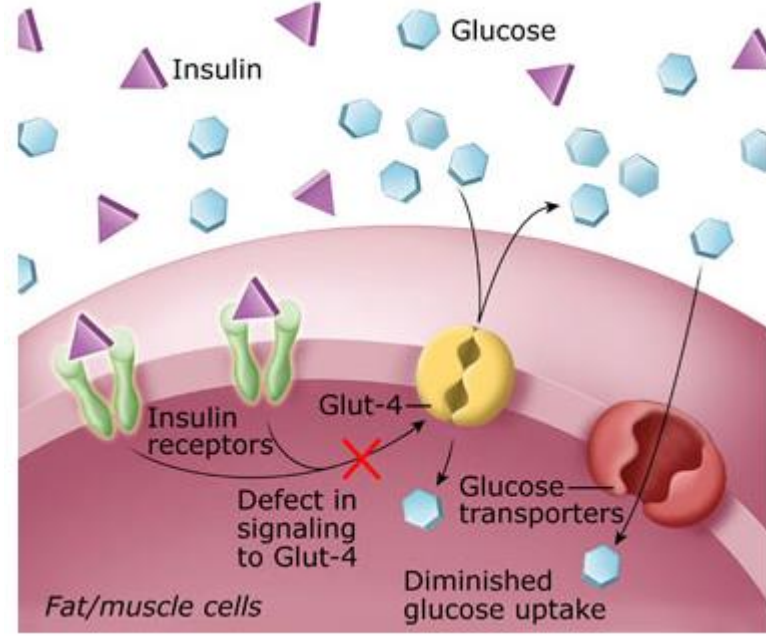
Tip I *Diyabetes Mellitus*'un prevalansı hem topluluklar arasında hem de aynı topluluk içinde genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle farklılık göstermektedir. Özellikle İngiltere, Kanada, Amerika Birlesik Devletleri, Yeni Zellanda, Portekiz gibi ülkelerde Tip I *Diyabetes Mellitus*'un prevalansı oldukça yüksek olup, yapılan çalışmalarda Tip I *Diyabetes Mellitus*'un prevalansının beyaz ırkta daha yüksek olduğu bulunmuştur (4, 33).

### 3.2.2. Tip II *Diyabetes Mellitus* ( İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet )

Pankreas langerhans adacıklarının beta hücrelerinden salgılanan insülinin etkilediği hedef hücrelerde reseptör sayısının azalması ve postreseptör düzeyde insülin etkinliğinin azalması ile şekillenen insülin direnci (Şekil 3), Tip II *Diyabetes Mellitus*'un ortaya çıkmasındaki temel nedenlerdendir. Tip II *Diyabetes Mellitus* insanlarda genellikle 40 yaş civarında ortaya çıktığı için **erişkin tipi diyabet** olarak adlandırılmaktadır (1, 2).

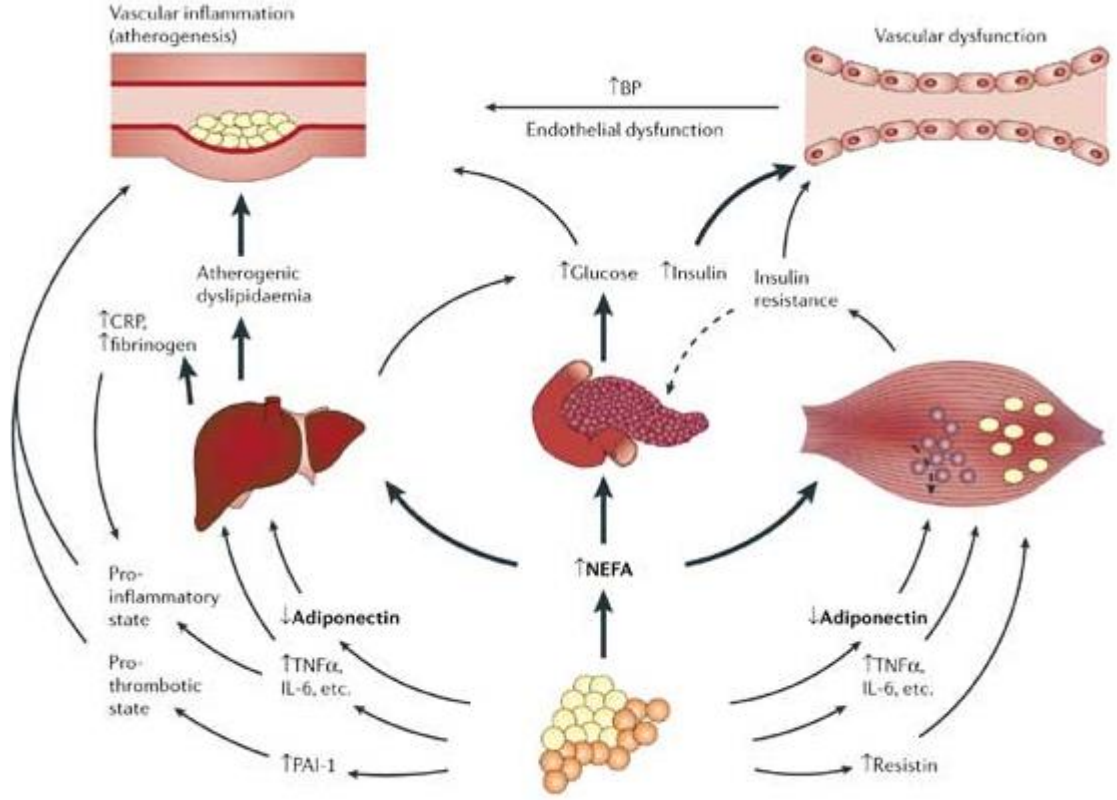
Tip I *Diyabetes Mellitus*'un aksine Tip II *Diyabetes Mellitus*'un erken dönemlerinde insülin sekresyonu ve plazma insülin konsantrasyonunda artış gözlenmekte ancak hastalığın ilerleyen evrelerinde artmış insülin sekresyonu pankreas beta hücrelerinin yıpranmasına yol açmakta ve kan glikoz düzeyini düşürmek için gereken miktarda insülin salgılanamamaktadır (1, 34).

Tip II *Diyabetes Mellitus*'un şekillenmesinde insülin direnci, hipertrigliseridemi, hipertansiyon, obezite, kalıtsal faktörler rol oynamaktadır. İnsülin direncini hiperinsülinemi, obezite ve hipertansiyon takip etmektedir (34). İnsülin bilindiği gibi glikojenoliz ve glikoneogenezi baskılamakta, perifer dokularda glikoz kullanımını artırmakta, lipaz enzimini inhibe ederek de lipolizi baskılamaktadır (1). İnsülin direncinin gelişmesiyle birlikte hepatik glikoz üretiminde artma, perifer dokular tarafından glikoz alınımında azalma meydana gelmekte bunun sonucunda artan kan glikoz seviyesini düşürmek için beta hücrelerinden salgılanan insülin miktarında artma meydana gelmekte ve hiperinsülinemi tablosu ortaya çıkmaktadır. Ancak hastalığın ilerleyen evrelerinde artmış insülin sekresyonu pankreas beta hücrelerinin yıpranmasına yol açmakta ve beta hücrelerinin tahrip olmasına neden olmaktadır (1, 35, 36).



**Şekil 3.** İnsülin Direnci ve GLUT 4'ün Etkisi (129).

Yağ dokusundan; leptin, resistin, TNF- $\alpha$ , adiponektin, adipsin, interlökin-6, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), prostoglandin-I<sub>2</sub> gibi çok sayıda protein salgılandığı ve endokrin bir organ gibi görev yaptığı tespit edilmiştir (37, 38). Yağ dokusunda salgılanan, insülin duyarlılığı ve insülin reseptörlerinin tirozin fosforilasyonunu arttıran adiponektinin obezlerde ve Tip II *Diyabetes Mellitus* gelişenlerde azaldığı tespit edilmiştir (39). Adiponektinin IL-6, TNF- $\alpha$  salınımını inhibe edici, IL-1 ve IL-10 reseptör agonistlerini stimüle edici etkileri bulunmaktadır. Obezite de azalan adiponektin sonucunda TNF- $\alpha$  düzeyinde artma meydana gelmekte, artan TNF- $\alpha$  insülin reseptör sayısını azaltarak ve GLUT mRNA sentezini inhibe ederek insülin direnci gelişmesine neden olmaktadır (Şekil 4) (40).



**Şekil 4.** Adiponektin ve Sitokinlerin İnsülin Direnci Üzerindeki Etkileri (130).

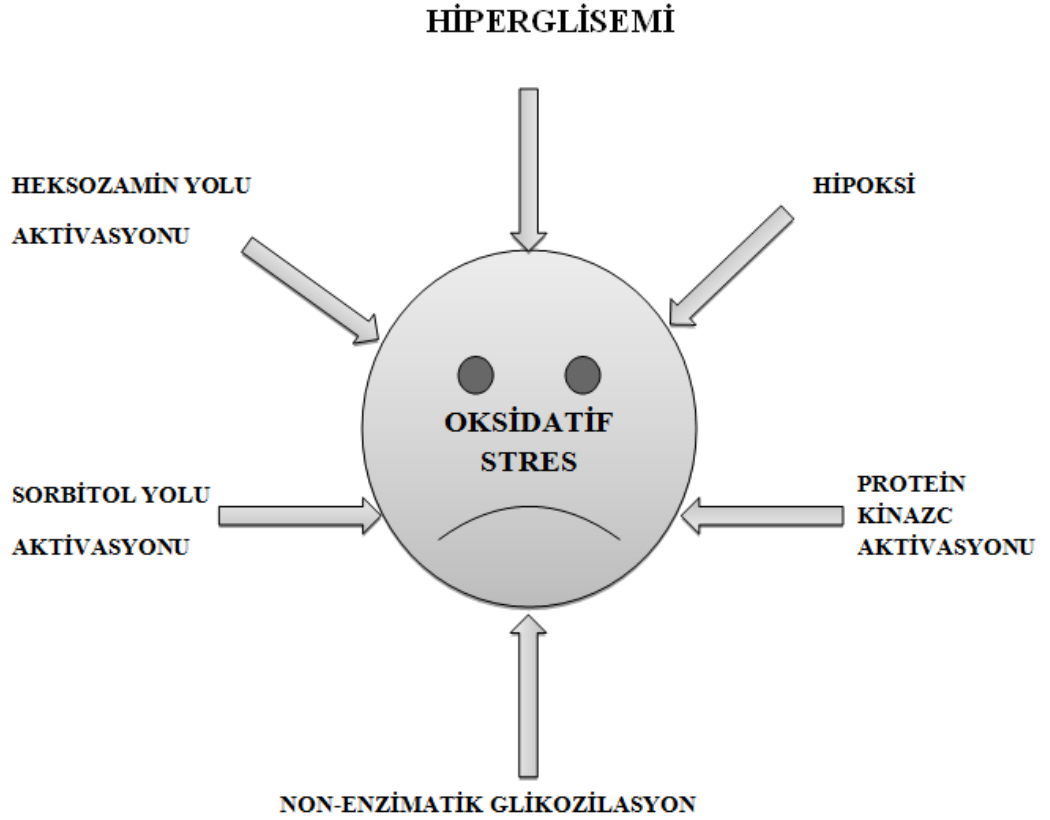
Tip II *Diyabetes Mellitus*'da genetik faktörlerin etkinliği hala araştırılmakla birlikte Tip II *Diyabetes Mellitus*'un MHC ile bağlantısı bulunamamıştır (41). Ancak Rabson Mendenhall ve Donohue (Leprechaunism) sendromlarında insülin reseptör geninin homozigot veya heterozigot mutasyonuna bağlı olarak herediter bir insülin direnci geliştiği tespit edilmiştir (41, 42).

Tip II *Diyabetes Mellitus*'un prevalansı hem toplumlar arasında hem de aynı toplum içinde genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle farklılık göstermektedir (112). 2007 yılında IDF (Uluslararası Diyabet Federasyonu) üyesi ülkelerdeki 20 - 79 yaşlarındaki erişkinlerin %7.3'ünün diyabet olduğu tahmin edilmektedir. Batı Pasifik Bölgesi ve Avrupa Bölgesinin en yüksek diyabetli popülasyonuna sahip olduğu ve diyabet sıklığının ise en yüksek Kuzey Amerika



(%9.2) ve daha sonra Avrupa (%8.4) Bölgesinde mevcut olduğu tespit edilmiştir (4). Ülkemizde İstanbul Tıp Fakültesi tarafından Sağlık Bakanlığı'nın işbirliği ile yapılan Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması'nın (TURDEP-II) sonuçlarına göre, 1997-98 yılları arasında yapılan ilk çalışmada %7.2 bulunan diyabet oranının, son yapılan çalışmada %13.7'ye yükseldiği tespit edilmiştir (111).

### 3.3. *Diyabetes Mellitus* ve Oksidatif Stres

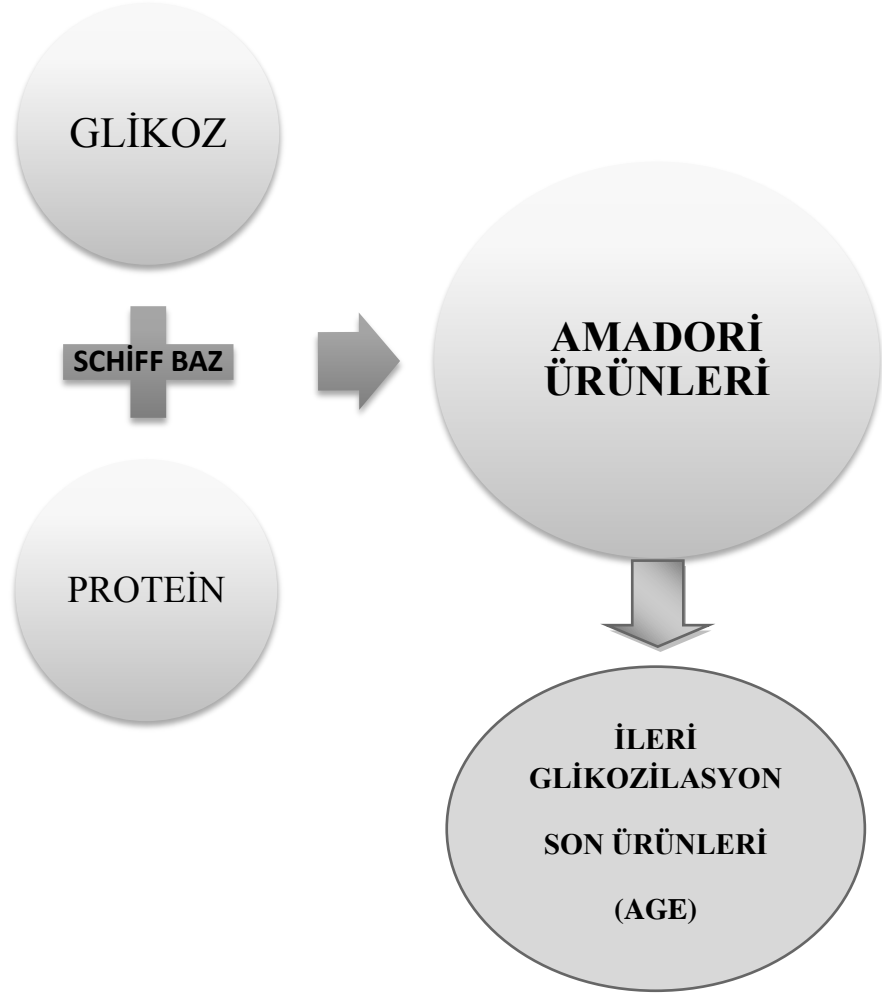


**Şekil 5.** Oksidatif stres ve diyabet

*Diyabetes Mellitus* karbonhidrat, yağ, protein metabolizması bozukluklarıyla ortaya çıkan kronik metabolik bir hastalık olmakla beraber aynı zamanda non-enzimatik glikozilasyon, sorbitol yol aktivitesi, heksozamin yolu aktivitesi, oksidatif glikozilasyon, protein kinaz C aktivitesi ve enerji metabolizmasındaki değişiklikler ile artmış bir oksidatif stres durumudur (43, 44).

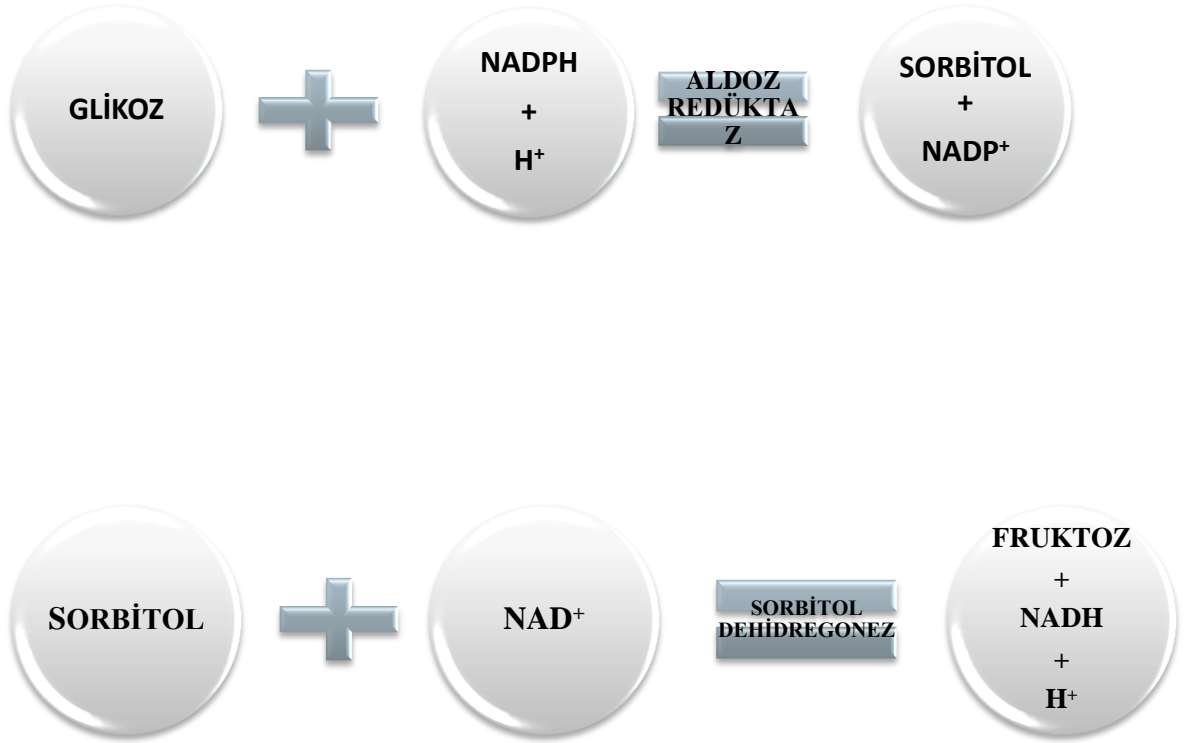
Non-enzimatik olarak proteinlerin N-terminal amino asitlerine ve lizin amino asitlerine galaktoz, mannoz veya glikozun serbest karbonil gruplarının Schiff bazı ile bağlanması non enzimatik glikozilasyon olarak adlandırılmaktadır. Stabil olmayan bu yapı yeniden düzenlenme reaksiyonuna girer, aldoz formdan ketoz forma dönüşür ve amadori ürünleri oluşur bu reaksiyon amadori yeniden düzenlenmesi olarak adlandırılır (48). Ömürleri kısa olan proteinler üzerinde ketoamin yapıları amadori ürünleri 'erken glikozillenme ürünleri', ömürleri daha uzun olan kollojen proteinleri üzerinde ise ileri glikozillenme son ürünlerinin (AGE) oluştuğu tespit edilmiştir (Şekil 6) (43). AGE ürünleri; bazal membran, endotel hücreleri ve glomeruluslarda TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi sitokinler aracılığıyla tip IV kollojen sentezini arttırarak, endotel hücrelerinde NO (Nitrik Oksit) inaktivasyonuna ve serbest oksijen radikallerinde artışa neden olarak arteroskleroz ve nefropati patogenezinde önemli rol oynarlar (51). Non enzimatik glikozilasyona uğrayan proteinlerden biride hemoglobindir. Hemoglobinin non enzimatik glikozilasyonu ile HbA<sub>1a</sub>, HbA<sub>1b</sub>, HbA<sub>1c</sub> olmak üzere üç minör komponenti meydana gelmektedir. Normalde non enzimatik glikozilasyon reaksiyonu çok yavaş gelişmekte ve eritrositlerin ömrü boyunca devam etmektedir (45). *Diyabetes Mellitus* sonucu şekillenen hiperglisemiye bağlı olarak minör hemoglobin komponentlerinden HbA<sub>1c</sub>'nin 2-3 kat arttığı tespit edilmiştir.

Glikozile hemoglobin düzeyinin kısa süreli kan glikoz düzeylerinden, egzersizden etkilenmemesi ve 3-4 haftalık kan glikoz değerlerinin belirlenmesinde yardımcı olması bakımından *Diyabetes Mellitus*'un prognozu ve uygulanan tedavinin izlenmesinde önemli bir parametredir (46). 2008 yılında yapılan bir çalışmada *Diyabetes Mellitus*'lu köpekleri 7 ay boyunca takip etmişler ve insülin takviyeleri yapılmışlardır. Bu periyot boyunca HbA<sub>1c</sub> düzeyleri sağlıklı hayvanlarda % 3.5'den düşük bulunurken, *Diyabetes Mellitus*'lu hayvanlarda ise % 3.5 - 6.8 arasında tespit edilmiştir (47).



**Şekil 6.** Non Enzimatik Glikozilasyon

Glikoz alımı için insüline gerek duymayan eritrosit, kornea ve sinir dokusunda hücre içi glikoz konsantrasyonu kan glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. *Diyabetes Mellitus*'la artan kan glikoz seviyesine bağlı olarak aldoz redüktaz enzimi aktifleşerek sorbitol yolunu (poliol yolunu) uyarmaktadır (Şekil 7) (49). Sorbitol yolunun aktif hale gelmesiyle glikoz; aldoz redüktaz enzimi aracılığıyla sorbitole, sorbitol; sorbitol dehidrogenaz enzimi aracılığıyla fruktoza dönüşmektedir (50).



Şekil 7. Sorbitol yolu aktivasyonu

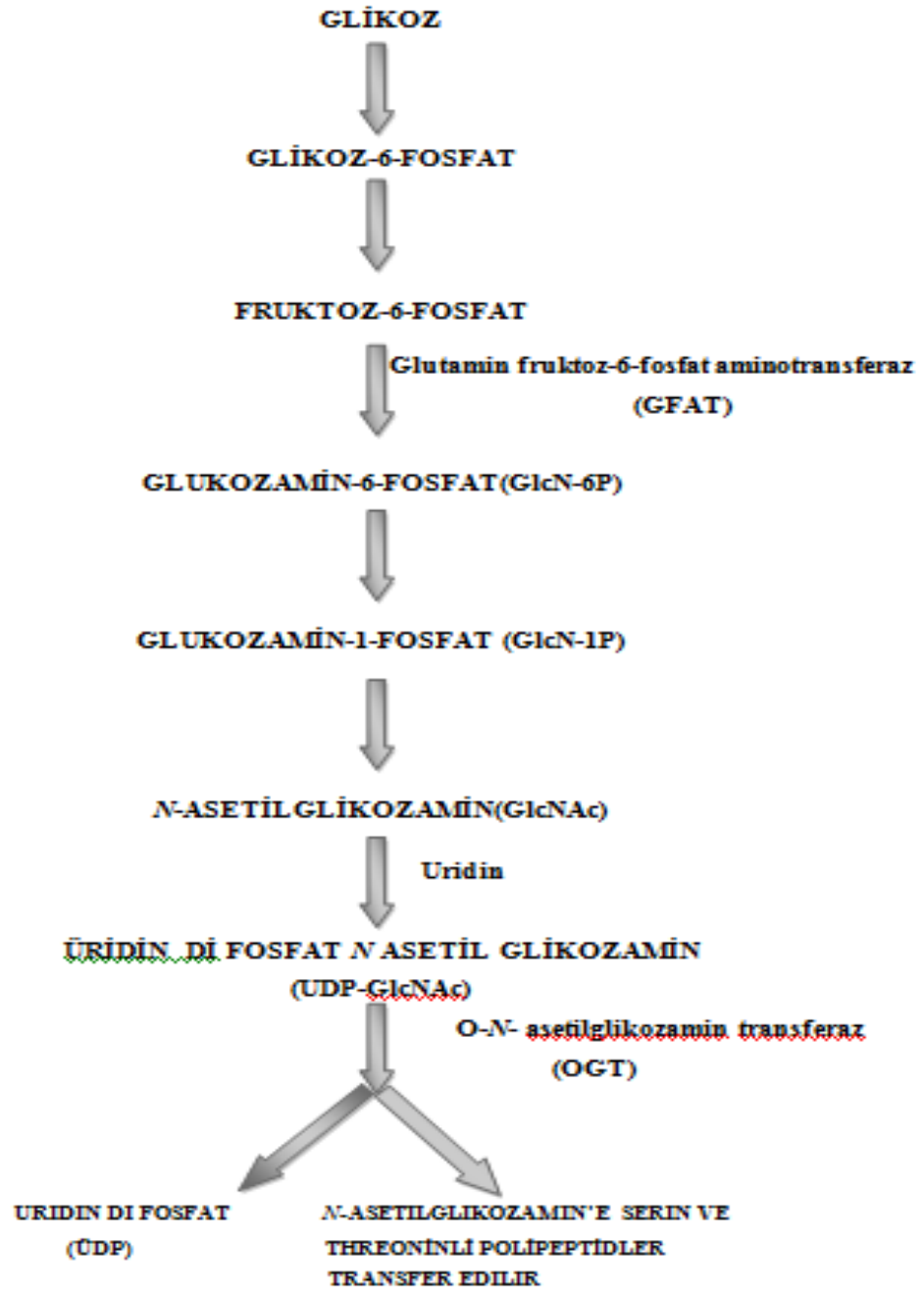
Poliol yolunun aktif hale gelmesi ile hücre içinde sorbitol ve fruktoz birikiminde artma meydana gelmektedir. Güçlü su çekici özelliği olan sorbitol ve fruktoz hücrelerde hidropik dejenerasyonun gelişmesine yol açmakta ayrıca artan sorbitol üretimi NADPH kullanımında artmaya sebep olmakla birlikte, NADPH 'ı enerji olarak kullanan ve antioksidan savunma mekanizmasının önemli bir parçası olan glutatyon metabolizmasının bozulmasına ve serbest oksijen radikallerinin oluşmasında artışa neden olarak oksidatif stres tablosunun oluşmasına yol açmaktadır (52). Dahası hücre içinde sorbitol ve fruktoz birikimi membran fosfolipitlerinin önemli bir parçası olan miyoinositol'un azalmasına neden olmaktadır, azalan miyoinositol ise Na- K ATPaz aktivitesinin azalmasına ve hücre içinde Na birikmesine yol açarak, diyabetik retinopati ve nöropatinin patogenezinde önemli rol oynamaktadır (53, 54). Yapılan in vitro çalışmalarda nedeni tam olarak bilinmeyen fosfokinaz aktivitesi tarafından sorbitol ve fruktozdan direkt olarak üretilen fruktoz-3 fosfat ve sorbitol-3 fosfat metabolitlerinin diyabetik durumlarda arttığı tespit edilmiştir (55, 56). Aldoz redüktaz inhibitörlerinin; nöropati, retinopati, nefropati gibi diyabetik komplikasyonları önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir. Yapılan in vitro çalışmada normal tavşanlardan elde edilen retinal tabakada, diyabetik tavşanlardan elde edilen retinal tabakaya oranla sorbitol seviyesi 6 kat daha az bulunmuştur ve polioliol yolunun diyabetik retinopati oluşmasında önemli rolü olduğu, aldoz redüktaz inhibitörlerinin bu komplikasyonları önlemede yararlı olduğu tespit edilmiştir (57). İn vitro yapılan başka bir çalışmada aldoz redüktaz inhibitörü olan ONO-2235'in yüksek glikoz konsantrasyonuna maruz kalan insan eritrositleri ve

tavşan retinasında sorbitol artışını azalttığı ancak insülininin böyle bir etki yapmadığı tespit edilmiştir (58).

Heksozamin yolu diyabetik komplikasyonların ve oksidatif stresin oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Normal koşullar altında glikozun % 3 kadarı heksozamin yolunu kullanmaktadır. Hiperglisemi sonucu heksozamin yolu aktivasyonunda artma meydana gelmektedir (59, 61). Heksozamin yolunda, glutamin fruktoz-6 fosfat aminotransferaz (GFAT) tarafından, glutaminden amido grubu fruktoz-6 fosfata transfer edilerek glukozamin-6 fosfata (GlcN-6P) dönüştürülmektedir. GlcN-6P da glukozamin-1 fosfat'a (GlcN-1P) , GlcN-1P da *N*-asetilglukozamine (GlcNAc) dönüşmektedir. GlcNAc ise üridin di fosfat *N* asetilglukozamine (UDP-GlcNAc), UDP-GlcNAc, *O-N*- asetilglukozamin transferaz (OGT) tarafından katalizlenen *O*-bağlı glikozilasyon ile GlcNAc'e serin ve threoninli proteinler transfer edilir ayrıca Üridin di fosfat oluşur (Şekil 8) (59). Hiperglisemi ile artan heksozamin yolu aktivasyonu sonucu GlcNAc seviyesinde artış meydana gelmekte, artan GlcNAc'in ise artan oksidatif strese bağlı olarak beta hücrelerini tahrip ettiği, artan GFAT'ın ise hidrojen peroksit seviyesinde artışa, insülin salınımını, glikoz transporter 2 ve glikokinaz geninde ise azalmaya yol açarak diyabet komplikasyonlarının gelişmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (60).

Diyabet de şekillenen hiperglisemiye bağlı olarak artan diaçilgliserol (DAG), protein kinaz C (PKC) aktivasyonunda artışa sebep olmaktadır. Artan PKC retinal kan akımında azalma meydana getirmekte, retinal kan akımının azalmasıyla lokal hipoksi gelişmekte ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), TNF- $\alpha$ , endotelin-1 seviyelerinde artma meydana gelmektedir. Bu

olayların sonucunda gelişen neovaskülarizasyon ve makula ödemi diyabetik retinopatinin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (62). Ayrıca PKC aktivasyonunun artması ile anjiotensin aktivitesinde artma meydana gelmekte bu da glomerular filtrasyon basıncının artmasına sebep olmaktadır. Glomerular filtrasyon basıncının artmasındaki en önemli faktör ise özellikle afferent arteriyollerdeki direncin azalmasıdır (63, 64).

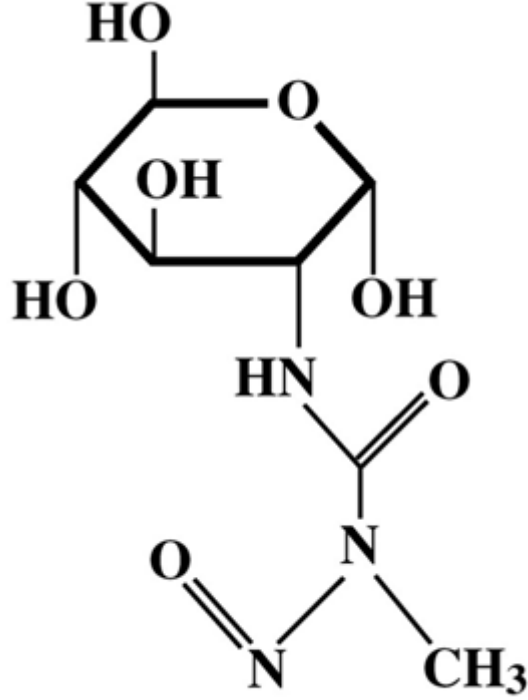


Şekil 8. Heksozamin yolu (78).



### 3.4. Streptozotocin

*Streptomyces achromogenes* türünden veya sentetik yollarla elde edilen Streptozotocin (2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose, STZ) önceleri dar spektrumlu bir antibiyotik olarak kullanılırken (Şekil 9), sonraları Rakieten ve arkadaşları tarafından (65, 66) diyabetojenik etkisi tespit edilen Streptozotocin, deneysel diyabet modeli oluşturmak için sıkça kullanılmaya başlanmıştır.

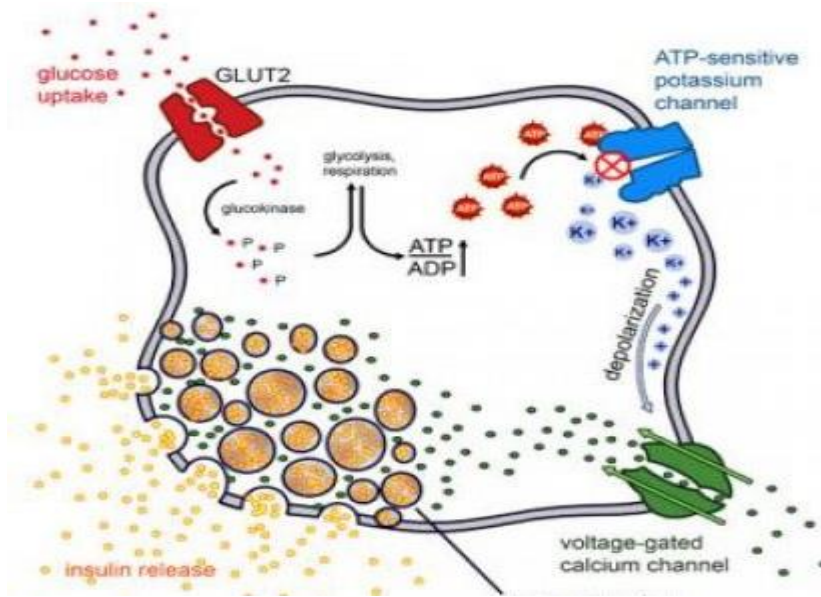


Şekil 9. Streptozotocin'in Kimyasal Yapısı (114).

Tip I diyabet modeli oluşturmada sıkça kullanılan STZ sıçanlara genellikle 40-60 mg/kg dozunda intraperitoneal veya intravenöz olarak tek doz uygulanmakta olup 40 mg/kg dozun altında tek doz uygulandığı zaman etkili olmayabilmektedir (67).

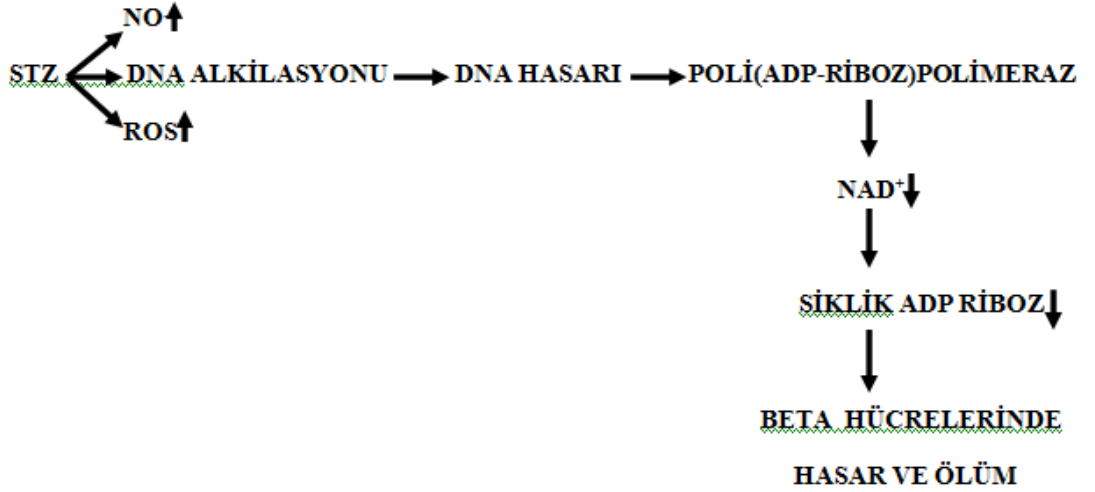
STZ verilmesinden sonra hem kan glikoz hem de insülin konsantrasyonlarının da üç evreye ayrılan bir değişim gözlenmektedir. 1. evrede; STZ uygulamasından 2 saat sonra kan insülin seviyesinin düşmesi ile birlikte hiperglisemi 2. evrede; STZ uygulamasından 6 saat sonra yüksek kan insülin seviyesi ile birlikte hipoglisemi 3. evrede ise beta hücrelerinde meydana gelen kalıcı hasar ve hücre kayıpları ile kan insülin seviyesinde düşme ve kalıcı hiperglisemi gelişmektedir (68).

Diyabetojenik ajan olan STZ, *N*-metil-*N*-nitroz üre'nin 1-d-glikopiranoz türevidir (69). STZ'nin yapısında bulunan ve kimyasal olarak glikoza benzeyen 2-deoksiglikoz komponenti ile düşük affiniteye sahip GLUT2 aracılığı ile beta hücreleri içerisine taşındığı (Şekil 10) ve pankreatik beta hücrelerindeki spesifik toksitesini bu şekilde gerçekleştirdiği düşünülmektedir (70). İnsülin salgılayan hücrelerde GLUT2'nin ifade edilmediği durumlarda STZ toksitesine karşı direnç geliştiğinin gözlenmesi ile bu hipotez desteklenmektedir (71).



Şekil 10. Beta hücrelerinden insülin salınımı (133).

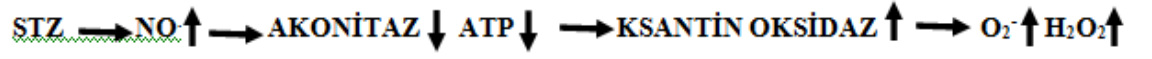
STZ'nin beta hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini ise 3 yolla gerçekleştirdiği düşünülmekle birlikte temel sebebin DNA alkilasyonu olduğu tespit edilmiş olup STZ'nin alkilasyon aktivitesinin ise özellikle guaninin O<sup>6</sup> pozisyonundaki nitrozüre kısmı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (72). Ayrıca STZ nitrik oksit ve reaktif oksijen türleri oluşumunu arttırarak DNA hasarı (Şekil 11) ve diğer zararlı etkilere sebep olmaktadır (73). Hem DNA alkilasyonu hem de nitrik oksit ve reaktif oksijen türleri oluşumundaki artış sonucu meydana gelen DNA hasarı sonucu DNA tamir enzimi olan poli (ADP-riboz) polimeraz enzimi aktif hale gelmekte ve hücre içinde NAD<sup>+</sup> 'in seviyesinde düşme meydana gelmektedir. NAD<sup>+</sup> 'in azalması ise siklik ADP riboz seviyesinin azalmasına ve insülin sekresyonu başta olmak üzere beta hücre fonksiyonlarının bozulmasına yol açmaktadır (74,75).



**Şekil 11.** Streptozotocin'in etki mekanizması (79).

STZ'nin krebs siklusunu inhibe ettiği, mitokondrilerde ATP üretimini güçlü bir şekilde sınırladığı ve beta hücrelerinde ATP'nin tükenmesine sebep

olarak hücre hasarına yol açtığı tespit edilmiştir (76). STZ uygulamasından sonra ksantin oksidaz enzim düzeyinde artma meydana gelmekte ve hem artan ksantin oksidaz hem de STZ'nin mitokondri üzerindeki aktivitesi sonucu süperoksit anyonu oluşumunda artma meydana gelmektedir (Şekil 12) (77).



Şekil 12. Streptozotocin'in ve ksantin oksidaz (79).

### 3.5. *Trigonella Foenum-Graecum* ( Fenugreek- Çemen Otu)



**Resim 1.** *Trigonella foenum-graecum* tohumları

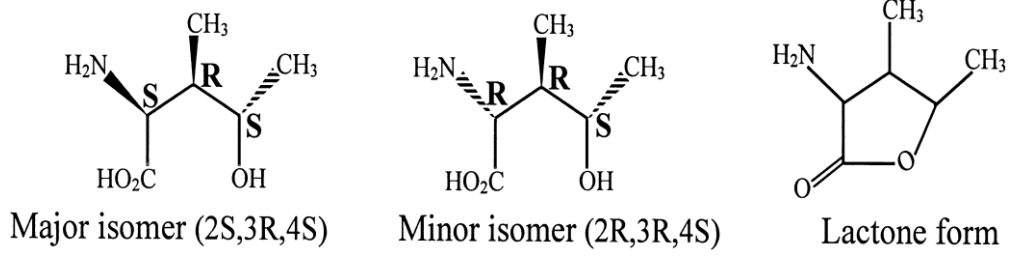
Baklagiller familyasına ait olan *Trigonella foenum-graecum*'un (Fenugreek) ana vatanı Hindistan olup özellikle Asya, Akdeniz ve Kuzey Afrika bölgelerinde yaygın bir şekilde yetiştirilmektedir (8, 9). Elliye yakın tür içeren tek yıllık bir bitki olan çemen otunun Türkiye' de kırk beşe yakın türü bulunmaktadır ve Akdeniz, Marmara, Güneydoğu Anadolu bölgelerinde *Trigonella foenum-graecum* L. türünün kültürü yapılmaktadır (80). *Trigonella foenum-graecum* baharat ve çeshni olarak kullanılmakla birlikte besleyici ve onarıcı özellikleri olduğu kabul edilmekte olup uzun yıllardan beri halk hekimliğinde (ateş, karın

ağrısı, apse, diyabet vb durumlarda) kullanılmaktadır (81). *Trigonella foenum-graecum* tohumlarının sapogeninler, trigonellin, alkaloidler, fosfat, potasyum, bakır, protein, kolin, C vitamini, beta- karoten, nikotinik asit ve folik asit bakımından oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir (10).

**Tablo 1.** 100 gr *Trigonella foenum-graecum* tohumlarındaki kimyasal kompozisyon (136).

Kimyasal Kompozisyon	Miktar
Protein	30 gr
Yağ	7,5 gr
Fibrin	50 gr
Sapogenin	2 gr
Trigonellin	380 mg
Kalsiyum	160 mg
Magnezyum	160 mg
Fosfor	370 mg
Demir	14 mg
Sodyum	19 mg
Potasyum	530 mg
Bakır	33 mg
Kükürt	16 mg
Klor	165 mg
Mangan	1,5 gr
Çinko	7 mg
Bakır	0,1 mg
Kolin	50 mg
Vitamin C	43 mg
B- Karoten	96 µg
Tiyamin	340 µg
Riboflavin	290 µg
Nikotinik Asit	1,1 mg
Folik Asit	84 µg

*Trigonella foenum-graecum* tohumlarının ve yapraklarının hipoglisemik, hipokolesterolemik, antioksidan, antiülser ve immunmodülatör etkileri olduğu rapor edilmiş olup, *Trigonella foenum-graecum* ve diğer bitkilerin (*Momordica charantia*, *Ganoderma lucidum*, *Mirabilis jalapa* L vb. ) diyabet tedavisi için yeni antidiyabetik bileşiklere kaynak olabileceği görüşü nedeniyle son zamanlarda araştırmalar yaygınlaşmıştır. (11, 12, 84). *Trigonella foenum-graecum* tohumlarının deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçan, fare, köpeklerde, Tip 1 ve Tip 2 diyabet hastalarında ve sağlıklı bireylerde hipoglisemik etki gösterdiği ileri sürülmüştür (82, 83). Hipoglisemik etkisinin biyokimyasal mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, *Trigonella foenum-graecum*'un tohumlarında tespit edilen steroid saponinlerinin (diösgenin, trigonellin ve alkaloidlerin) in vitro olarak bağırsaklardan glikoz alınımını inhibe ettiği ve yapısında bulunan diyet fibrinlerinin mide boşalmasını geciktirmek suretiyle kan glikoz seviyesini düşürdüğüne inanılmaktadır (13, 85). Ayrıca *Trigonella foenum-graecum* tohumlarından izole edilen yeni bir amino asit olan 4- hidroksi izolösin'in (Şekil 13), arjinin ve triptofan amino asitleri gibi antidiyabetik ve hipoglisemik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (86). Bu amino asitin hem sıçan ve insan pankreas beta hücrelerinde glikoza bağımlı olarak insülin salınımını stimüle ettiği hem de Tip 2 diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlarda, normal sıçanlarda ve köpeklerde glikoz toleransı geliştirdiği tespit edilmiştir (13). Broca ve ark (90) tarafından yapılan çalışmada izole edilen sıçan pankreasına 8.3 mM glikoz varlığında perfüze edilen (2S, 3R, 4S) 4-hidroksi izolösin'in insülin sekresyonunu uyardığı ve çalışılan farklı yapıda diğer 12 amino asit içinde en güçlü insülinotropik etkiye sahip ajan olduğu gösterilmiştir.



**Şekil 13.** 4-Hidroksi İzolösün'in Yapısı (90).

Ancak Haeri ve ark (89) yapmış olduğu çalışmada STZ ile diyabet oluşturulan ve 50 mg/kg/gün dozunda (2S, 3R, 4S) 4-hidroksi izolosin ile entübe edilen sıçanlar da kan glikoz seviyeleri 500 mg/dl'den 330 mg/dl'e düşmesine rağmen, diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman plazma insülin seviyelerinin artmadığı, kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman ise plazma insülin seviyelerinin % 65 oranında azaldığını tespit etmişlerdir ve (2S, 3R, 4S) 4-hidroksi izolosin'in insülinotropik aktiviteye sahip olmadığı iddia edilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara 6 hafta boyunca 440 mg/kg, 870 mg/kg, 1740 mg/kg dozunda distile suda hazırlanan *Trigonella foenum-graecum* tohum ekstraktı uygulanmış ve diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman hem açlık glikoz değerlerinde hem de glikozile hemoglobin seviyelerinde önemli oranda azalma olduğu, ekstrakt verilen gruplar kendi aralarında kıyaslandığında ise doza bağlı önemlilik olduğunu belirlemişlerdir (87). STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara Eidi ve ark (88) 100 mg/kg, 250 mg/kg, 500 mg/kg dozunda *Trigonella foenum-graecum* tohumlarının etanol ekstraktını 14 gün boyunca oral olarak uygulamış ve 250 mg/kg- 500 mg/kg dozunda ekstrakt ve glibenclamide verilen gruplar ile diyabet kontrol grubunu kıyaslandıkları zaman kan glikoz değerlerinin önemli ölçüde azaldığını, insülin seviyesinin ise arttığını tespit etmişlerdir. Alloksan ile diyabet oluşturulan farelere ise *Trigonella foenum-*



*graecum* tohumunun %40, %60, %80 dekoksasyonu, 200 mg/kg ve 400 mg/kg etanol ekstraktı, 200 mg/kg Tolbutamide uygulanmış ve serum fizyolojik verilen diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman madde verilen gruplarda kan glikoz değerlerinin önemli ölçüde azaldığı ifade edilmiştir (92). *Trigonella foenum-graecum* yapraklarından elde edilen suda hazırlanan ekstrakt intraperitoneal (i.p) ve oral olarak uygulanmış, i.p ekstrakt uygulanan hem normoglisemik sıçanlarda hem de alloksan ile hiperglisemi oluşturulan sıçanlarda, kan glikoz konsantrasyonlarında azalma olduğu, ekstrakt oral uygulandığında ise sadece hiperglisemi gelişmiş sıçanların kan glikoz konsantrasyonunda azalma meydana geldiği, alkolde hazırlanan ekstraktın ise sadece hiperglisemik sıçanlarda 2. ve 24. saatlerde kan glikoz konsantrasyonunu düşürdüğü bundan dolayı alkol ekstraktının kan glikoz seviyesini azaltmada daha düşük eğilime sahip olduğu gösterilmiştir (11).

*Trigonella foenum-graecum* tohumlarının hipokolesterolemik etkileri olduğu öne sürülmüş olup hem normal hem de diyabetik köpeklerde yapılan çalışmada yağsız ekstraktın, kan glikoz ve plazma kolesterol seviyelerini düşürdüğü ancak lipit bulunan ekstraktın kan glikoz seviyesi ve plazma kolesterol seviyesini düşürmede etkili olmadığı belirtilmiştir (93). *Trigonella foenum-graecum* tohumlarının hipokolesterolemik etkilerini yapısında bulunan diosgenin ve tigogenin sapogeninleri ile gerçekleştirdiği, bu iki sapogeninin özellikle karaciğer kolesterol metabolizmasında etkili olduğu düşünülmektedir (94). Ayrıca sapogenin içeren bitki lifleri safra asidini absorbe edip, fekal atılım ile safra kaybında artış meydana getirmekte olup, bu kayıp ise karaciğer tarafından kolesterolün safra asidine dönüştürülmesindeki artış ile dengelenmekte olup,

tohumun bu şekilde hipokolesterolemik etkisini gösterdiği ileri sürülmüştür (95). Tip I diyabetik hastalarda yapılan çalışmada kontrol grubuna izokalorik diyet, diğer gruba ise yağsız *Trigonella foenum-graecum* tohum tozu eklenen diyet verilmiş ve *Trigonella foenum-graecum* eklenmiş diyet verilen grupta kan glikoz seviyesinin, serum Low-density lipoprotein (LDL), Very Low-density lipoprotein (VLDL), total kolesterol ve trigliserit değerlerinin önemli ölçüde azaldığı, High-density lipoprotein (HDL) seviyesinde ise değişiklik olmadığı tespit edilmiştir (96). Yapılan bir başka çalışmada, normal ve diyabetik sıçanlara 3 hafta boyunca *Trigonella foenum-graecum* tohumlarından elde edilen steroid saponinler uygulanmış ve sonuçlar kontrol grupları ile kıyaslandığı zaman steroid saponin uygulanan hem normal hem de diyabetik sıçanlarda plazma total kolesterol, VLDL-LDL kolesterol seviyelerinde azalma, plazma trigliserit ve HDL seviyelerinde ise değişiklik olmadığı gösterilmiştir (97).

Güçlü bir antioksidan olduğu düşünülen *Trigonella foenum-graecum* tohumlarının (98) diyabetin sebep olduğu oksidatif stres tablosunu düzeltmede etkili olabileceği düşünülmektedir. Alloksan ile diyabet oluşturulan tavşanlara oral olarak trigonellin ve Irak çemen tohumunun etanol ekstraktı uygulanmış ve 4 hafta sonunda diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığında plazma MDA (malondialdehit) seviyesinin önemli ölçüde azaldığı, plazma GSH (Glutathione) seviyesinin ise arttığı tespit edilmiş olup çemen otu tohumunun oksidatif stres parametrelerinin iyileşmesinde etkili olduğu ortaya konmuştur (99). Yapılan başka bir çalışmada 21 gün boyunca alloksan ile diyabet oluşturulan sıçanlara insülin, vanadate ve *Trigonella foenum-graecum* tohumu (%5 pelete eklenerek) uygulanmış, uygulama yapılan gruplarda kan glikoz değerlerinin kontrol grubuna

yakın bir değerde olduğu ayrıca diyabetik sıçanların dokularında meydana gelen antioksidan enzim seviyelerindeki değişimin (karaciğerde SOD, CAT, GP<sub>x</sub> değerlerinin azaldığı, böbrekte CAT ve SOD azaldığı, GP<sub>x</sub> değerlerinin ise arttığı gibi) normalleştiği belirtilmiştir (100).

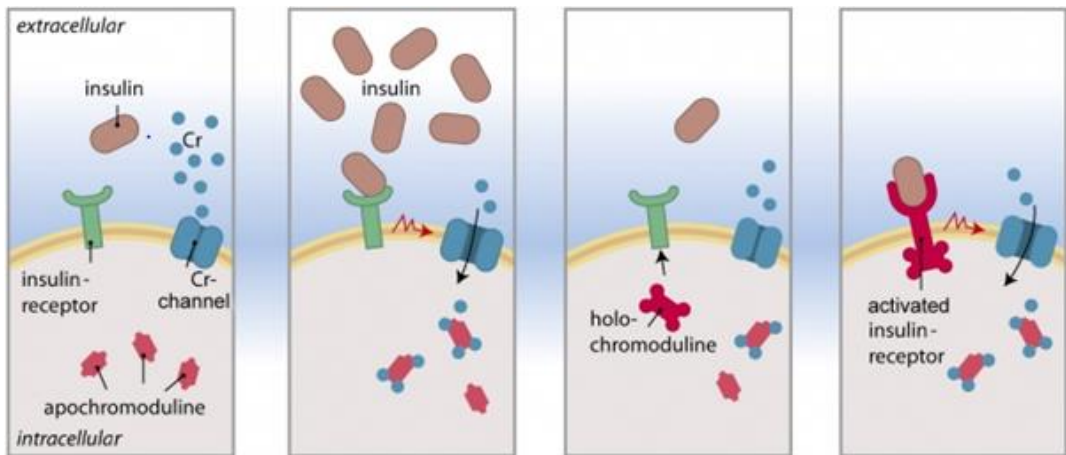
*Trigonella foenum-graecum*'un antiülser etkisini göstermek için yapılan çalışmada, sıçanlarda HCl (hidroklorik asit)- etonal karışımı ile gastrik ülser oluşturulmadan önce *Trigonella foenum-graecum* tohumunun sulu ekstraktı (1, 2, 3 ml/rat), *Trigonella foenum-graecum* tohumundan elde edilen eriyebilir jel fraksiyonu (500, 600, 700 mg/rat) ve omeprazol (10 mg/kg, güçlü bir proton pompa inhibitörü) uygulanarak ön tedavi yapılmış ve çalışmanın sonunda ülser oluşturulan ratların midelerinde hiperemi, submukozal ödem, damarlarda şiddetli konjesyon, pepsin aktivitesinde, mide protein içeriğinde ve mide suyu hacminde önemli ölçüde artma olduğu ancak ön tedavi uygulanan gruplarda ülser şiddetinin, pepsin aktivitesinin, protein içeriği ve mide suyu hacminin anlamlı ölçüde azaldığı tespit edilmiş olup yapılan bu çalışma ile *Trigonella foenum-graecum*'un oluşturulan mide hasarına karşı doza bağımlı olarak koruyucu etkileri olduğu tespit edilmiştir (101). Bu antiülser özelliğinde (91) ise yapısında bulunan flavonoidlerin etkili olduğu belirtilmiştir (102).

### 3.6. Krom

24
<b>Cr</b>
51,9961

Krom (Cr); atom numarası 24, kütle numarası 51,996 olan kristalize yapıda bir metal olup oksidasyon sayısı -2 ile +6 arasında değişmektedir (103). Üç değerlikli krom diyet de esansiyel minarellerden olup, krom asetat, krom aspartat, krom şelat, krom klorür, krom triklorür ve krom sitrat gibi formları bulunmaktadır. Altı değerlikli kromun bütün formları yükseltgen bir ajan olup, toksik ve karsinogenik özelliklerinden dolayı kullanılmaması önerilmektedir (14). Kromdan glikoz tolerans faktörü (GFT) olarak bahsedilsede, GFT yapısında glisin, sistein, glutamik asit ve iki molekül nikotinic aside bağlı krom içeren kompleks bir yapıdır ancak krom bu kompleks yapının aktif bileşenlerinden biridir (122). Normal diyet ile günlük krom ihtiyacı karşılanmasına rağmen, yüksek dozda şeker alımı, rafine karbonhidratlar, ağır egzersiz, gebelik, fiziksel, metabolik ve çevresel stres krom eksikliğine sebep olabilmektedir (119). Stres durumunda insülin antagonisti olan kortizol hormonu salınımında artış ile eş zamanlı olarak glikoz metabolizmasında artış meydana gelmektedir. Bunun sonucunda kan glikoz değerlerinde yükselme ve vücut depolarından kromun mobilizasyonunda artış, mobilize olan kromun ise geri dönüşümsüz olarak idrarla kaybı meydana gelmektedir (119, 120). ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından belirlenen kromun referans dozu, Tahmini Güvenli ve Yeterli Günlük Diyet Alımının (ESADDI) belirlediği dozun (200 µg) 350 katı üst sınır olarak kabul edilmiştir (158). Anderson ve ark (159) tarafından krom klorür ve krom picolinatın, insanlar için tahmini güvenli ve yeterli günlük diyet alımınının

belirlediği üst sınırın 1000 kat fazlasının sıçanlarda toksisiteye sebep olmadığını göstermişlerdir. Karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasında etkili esansiyel minarellerden biri olan kromun etki mekanizması hala araştırılmaktadır (104, 105, 117, 157). Kromun kas ve yağ dokusu gibi hedef dokularda, insülin ve reseptör arasındaki etkileşimi kolaylaştırdığı düşünülmektedir (118). Krom eksikliğinin ise *Diyabetes Mellitus*'un sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir (121). Ayrıca hem diyabetik hayvanlarda hem de diyabetik insanlarda yapılan çok sayıda çalışmada krom takviyelerinin kan glikoz değerlerini, glikozile hemoglobin seviyelerini, kolesterol değerlerini ve insülin gereksinimini azaltılmada yardımcı olabileceği belirtilmiştir (105, 106). Kromun diyabet üzerindeki etki mekanizmasında iki yol üzerinde durulmaktadır. Birincisi, kromun beta hücrelerindeki insülin uyarımını artırması (107), ikincisi kromun transferine bağlı olarak kanda taşınıp daha sonra apokromoduline transfer olup, inaktif olan apokromodulini aktif halokromoduline dönüştürerek insülin reseptör aktivitesini artırması (Şekil 14) (108) ve fosfotirozin fosfataz enzimini inhibe edip tirozin kinaz enzim aktivitesini artırarak insülin reseptör fosforilasyonu ve insülin duyarlılığını artırmasıdır (109).



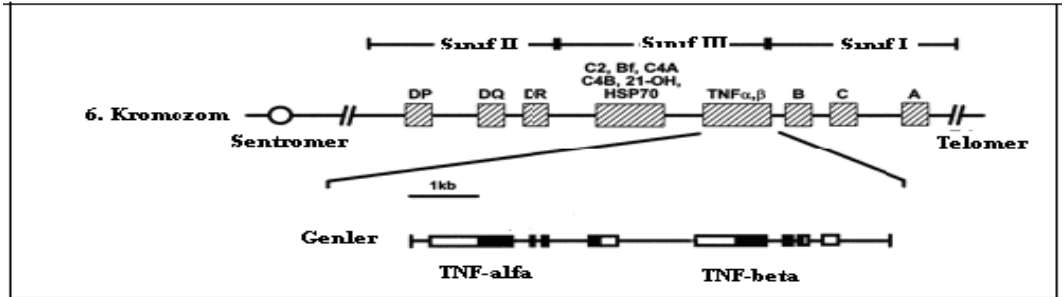
Şekil 14. Krom İnsülin İlişkisi (110).

STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara 5 hafta boyunca oral olarak 80 µg/kg dozunda krom pikolinat uygulanmış ve çalışmanın sonunda diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman krom verilen diyabetli sıçanlarda insülin seviyelerinde önemli bir artış, HbA<sub>1c</sub> seviyelerinde ise önemli bir azalış olduğu tespit edilmiştir (107). Yapılan bir başka çalışmada 10 gün boyunca krom pikolinat 200 µg/kg dozunda uygulanmış ve krom pikolinatın hem Tip I hem de Tip II diyabet hastalarında insülin duyarlılığını önemli ölçüde arttırdığı ve bu hastalarda insülinin dozunun ya da oral antidiyabetik ilaçların dozunun azaltılabileceği belirtilmiştir (115). Yedi hafta boyunca oral gavaj ile 400 µg/kg dozunda krom pikolinat ve krom niacinate STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara uygulanmış, çalışmanın sonunda diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman krom niacinate uygulanan grupta glikozile hemoglobin miktarının azaldığı, krom pikolinat verilen grupta ise değişiklik olmadığı ve diyabetik sıçanlarda artan TNF- $\alpha$ , IL-1 seviyelerinin ve lipit peroksiyonunun hem krom pikolinat hem de krom niacinate verilen diyabetik sıçanlarda önlendiği tespit edilmiştir (116). Tip 2 diyabet hastalarında yapılan bir başka çalışmada ise krom ve krom ile birlikte E ve C vitaminleri 6 ay boyunca uygulanmış çalışmanın sonunda, uygulama yapılan her iki grupta da açlık kan glikoz ve HbA<sub>1c</sub> değerleri ile insülin direncinin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (128).

### 3.7. Tümör Nekrozis Faktör

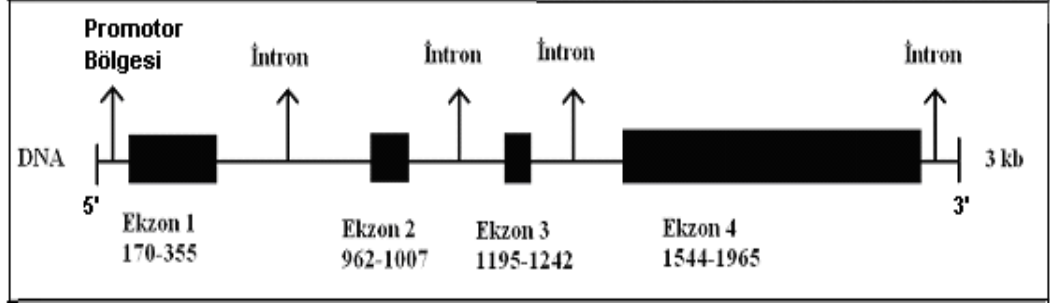
Tümör dokusunda nekroza sebep olduğu için tümör nekrozis faktör (TNF) olarak adlandırılan sitokin, gram negatif bakterilerin aktif hücre duvarı maddesi olan lipopolisakkaritlerin (LPS) uyarımı ile salgılanmaktadır (188). TNF ilk olarak 1975 yılında Carswell ve arkadaşları tarafından Bacillus Calmette Guerin (BCG) ile muamele edilmiş farelere lipopolisakkarit verilmesinden sonra alınan serumlarda tespit edilmiştir (190, 191). TNF'nin polipeptid yapılı tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) ve glikoprotein yapılı tümör nekrozis faktör-beta (TNF- $\beta$ ) olmak üzere iki formu bulunmaktadır (189). Kaşektin olarak da adlandırılan TNF- $\alpha$ , T lenfositler ve makrofajlar tarafından oluşturulan birçok inflamatuvar ve immun cevapta rol oynamaktadır. Monosit, makrofaj, T ve B lenfositleri, NK hücreleri, endotoksin veya mikrobiyal ürünlerle uyarılan diğer hücreler tarafından da salgılanan bir sitokindir (192). Lenfotoksin olarak da adlandırılan TNF- $\beta$  ise aktive olmuş yardımcı T hücreleri (Th) tarafından salgılanmaktadır (193).

TNF'nin insanlarda 6. kromozom, farelerde ise 17. kromozomun sınıf-1, sınıf-2 MHC gen bölgeleri arasında lokalize olduğu bilinmektedir (188, 189).



**Şekil 15.** TNF geninin sınıf-1-sınıf-2 MHC gen bölgeleri arasında lokalizasyonu (195).

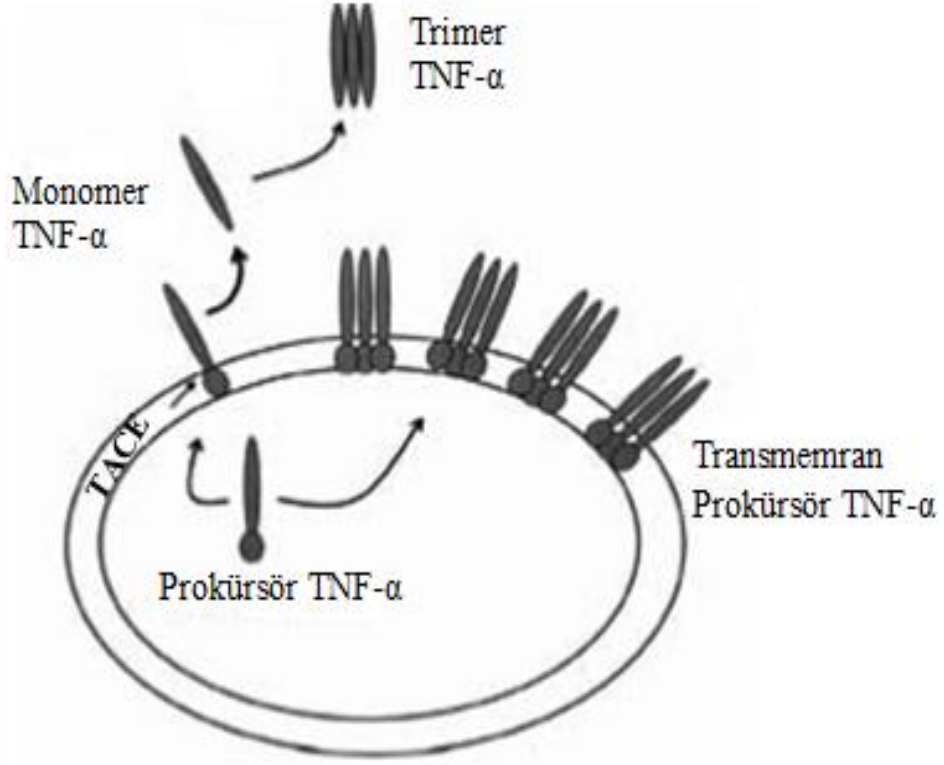
TNF geninin baz dizisinde 170-355, 962-1007, 1195-1242, 1544-1965 bölgelerini oluşturan diziler ekzonları, bu bölgenin haricindeki diziler ise intronları meydana getirmektedir (Şekil 16) (194).



Şekil 16. TNF geninin ekzonları ve intronları (194).

TNF'nin sentez ve salınımını başlatan birçok uyarıcı vardır, bunların başında LPS gelir ayrıca gram negatif bakteriler, mantarlar, parazitler, virusler, kompleman aktivasyon ürünleri, enfekte eritrositler, X ışınları, urat kristalleri, vitamin D<sub>3</sub>, IFN- $\gamma$ , interlökin-2 (IL-2), granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), koloni stimüle edici faktör (CSF) hatta TNF'nin kendisi de bir TNF uyarıcısı olarak görev yapmaktadır (196). Transmembran prekürsör protein olarak sentezlenen TNF'nin sitoplazmik kuyruğu, metalloproteaz özellikte bir enzim olan tümör nekrozis faktörü dönüştürücü enzim (TACE) tarafından parçalanıp (199) çözünmesiyle TNF monomerleri açığa çıkmaktadır. Üç TNF monomeri birbirine non-kovolen bağlarla bağlanarak asıl aktif yapı olan homotrimer TNF'yi oluştururlar (Şekil 17) (192, 196, 197, 198, 204).





**Şekil 17.** TNF- $\alpha$ 'nın aktif formunun oluşumu (200).

TNF- $\alpha$ 'nın proformu 233 aminoasitten, aktif formu 157 aminoasitten (17.400 D) oluşurken; TNF- $\beta$ 'nin proformu 204 aminoasitten, aktif formu ise 171 aminoasitten (20.000 D) oluşmaktadır (197).

**Tablo 2.** TNF'nin yapısı ve özellikleri

ÖZELLİK	TNF
Kromozom	6
<u>Proform</u>	233 aminoasit-----TNF- $\alpha$ 204 aminoasit-----TNF- $\beta$
<u>Matur Form</u>	157 aminoasit-----TNF- $\alpha$ 171 aminoasit-----TNF- $\beta$
Hücre Kaynakları	<u>Makrofajlar</u> T ve B Lenfositleri, <u>Keratinositler</u> , <u>Fibroblastlar</u> <u>Endotel Hücreleri</u> <u>Astrositler</u> (TNF- $\alpha$ için) T Lenfositler (TH1 alt grubu), EBV B hücre dizileri (TNF- $\beta$ )
Reseptör	80-K Da <u>glikoprotein</u> Kd: 1/10000000000 mol/L 1.000-10.000 bölge/hücre

Araştırmalar sonucunda TNF'nin farklı reseptörleri olduğu bulunmuş olup, bu reseptörler TNF-R<sub>1</sub>, TNF-R<sub>2</sub> olarak isimlendirildiği gibi (196, 200), Tip I, Tip II şeklinde ya da moleküler ağırlıklarına göre p55 ve p75 olarak da isimlendirilmektedir (205, 211). TNF-R1 pek çok hücrede mevcutken, TNF-R2 miyeloid hücrelerde bulunur. TNF-R2'nin TNF- $\alpha$  bağlama affinitesi TNF-R1'den on kat daha fazladır. TNF-R1 sitotoksik aktivite ve endotoksik şoktan sorumluyken, TNF-R2 lenfosit proliferasyonunu yönlendirir. TNF-R1 ve TNF-R2'ye ek olarak TNF reseptörlerinin çözünebilir formları da (sTNFR) mevcuttur. sTNFR'lerin en önemli özelliği TNF ile yarışması ve onun etkilerini bloke etmesidir (201). TNF spesifik reseptörlere bağlandıktan sonra TNF-reseptör kompleksi oluşur. Oluşan TNF-reseptör kompleksi G protein sistemi aracılığıyla fosfolipaz ve protein kinazları aktive eder. Fosfolipaz ve

protein kinazlar; araşidonik asit, inozitol fosfat, triaçil gliserol, fosfatidik asit ve türevlerinin oluşumunu sağlar. Bu medyatörler ya doğrudan ya da aracı haberciler ile mitokondride serbest radikal oluşumunu harekete geçirerek sitotoksiteye sebep olurlar (202).

Vücuttaki hücreler, TNF'ye dirençli, TNF'nin sitotoksik etkisine duyarlı ve TNF'nin öldürücü etki yaptığı hücreler olmak üzere üç kısma ayrılmaktadır. Sitotoksik etkiye duyarlı hücreler: neoplastik hücreler, viruslarla enfekte hücreler ve bazı parazitler sayılabilir (202). TNF; kompleman sistemini, serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşumunu ve araşidonik asit metabolitlerinin üretimini uyarmak suretiyle tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterir (203, 207). TNF sitotoksik etkisini biri doğrudan diğeri dolaylı yoldan olmak üzere iki şekilde gerçekleştirir. Birinci yolda TNF doğrudan etkisini serbest radikaller oluşturarak gerçekleştirir (206). TNF süperoksit yol ağını kullanarak  $O_2^-$  hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve miyeloperoksidaz oluşumunu artırırken; L-arjinine bağlı nitrik oksit (NO) yolağını kullanarak da nitrojen dioksit ( $NO_2^-$ ) oluşumuna sebep olur (206, 208). TNF ile karşılaşmayı izleyen dakikalar içinde mitokondriden manganeye duyarlı süperoksit-dismutaz (MnSOD) enzimi sentezlenir. MnSOD salgılamaya başlayan hücre TNF'ye direnebilmektedir. MnSOD gibi 28 kD ağırlığındaki sıcak şok proteini de benzer etkiye sahiptir; invitro olarak sıcağa maruz bırakılan hücreler daha sonra TNF etkisine duyarsız kalmaktadır (201, 206) TNF inflamatuvar cevapta merkezi role sahip olan sınıf-I MHC'yi doğrudan, sınıf-II MHC'yi IFN- $\gamma$  aracılığıyla artırır (202). TNF sadece uyarılmış lenfositleri etkileyebilir, çünkü uyarılmamış lenfositler TNF

reseptörleri taşımazlar. TNF; IL-1, IL-2 ve IL-7 varlığında B ve T lenfositlerin olgunlaşmasını sağlar ayrıca NK hücrelerinden IFN- $\gamma$  salınımını da artırır (188, 201). TNF; IL-1, IL-6, kemokinler ve TNF'nin kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri, diğer hücre tiplerini uyarır ve vasküler endotel hücrelerini etkileyerek IL-1 ve IL-6'nın dolaşıma salınmasını uyarır (209, 210).

TNF'nin toksik etki gösterebildiği tek normal hücre pankreatik  $\beta$  hücresidir, bu etkinin oluşabilmesi için IL-1 ve IFN- $\gamma$ 'nın katkısı şarttır (202). Bu nedenle son zamanlarda Tip I diyabetin patogenezisinde TNF- $\alpha$ 'nın önemli bir sitokin olduğu düşünülmektedir. TNF- $\alpha$  uygulanan adipositlerde insüline bağlı glikoz taşınmasında ve GLUT4 translokasyonunda azalma meydana geldiği bilinmekle birlikte (171), Tip I diyabette GLUT4 translokasyonu ve restorasyonunun hipoglisemik etki için oldukça önemli olduğu da ileri sürülmüştür (142.). Ayrıca TNF; leptin salınımında artışa ve lipoprotein lipazın inhibisyonuna yol açarak hepatik ve periferik insülin direncini artırıp katabolik süreci hızlandırmakta ve bu tüm olayların net sonucu olarak kaşeksi tablosu oluşmaktadır (202).

**Tablo 3.** TNF'nin fizyolojik ve patolojik etkileri

<b>TNF'İN FİZYOLOJİK ETKİLERİ</b>	<b>TNF'İN PATOLOJİK ETKİLERİ</b>
Bazı hücrelerden koloni stimüle edici faktörlerin salınımını etkileme.	İntravasküler koagülasyona neden olarak doku perfüzyonunu azaltır.
Bazı serbest radikaller ve non - radikaller aracılığıyla vasküler permabiliteyi artırma.	iNOS enzimini aktive etmesiyle sentezlenen NO myokard kasılabilirliğini azaltarak doku perfüzyonunu azaltır.
Viruslara karşı interferon benzeri koruyucu etki gösterme.	Leptin salınımını artırarak iştahın azalmasına, enerji tüketiminin artmasına sebep olarak kilo kaybına yol açmaktadır.
Vasküler hücrelerde fosfolipaz A sentezini artırma.	Gram negatif sepsiste endotoksinler TNF üretimini tetikleyerek septik şok tablosunu oluşmasına sebep olabilirler.
İnflamatuar lökositleri özellikle nötrofilleri mikropları öldürecek şekilde aktive eder.	Proteoglikan sentezini önleyerek kırıldak rezorpsiyonunu arttırdığı gibi osteoklast gelişimini ve aktivitesini stimüle ederek de kemik kaybına yol açar.
Endotel hücre yüzeyini adezyon molekülleri (ICAM-1, NCAM-1, ELAM-1) aracılığı ile daha yapışkan hale getirerek hücrelerin özellikle lökositlere karşı yeni reseptörleri ekspresse etmelerini sağlar.	Ağır metabolik bozukluklara neden olabilirler ( özellikle kas ve yağ dokusunda GLUT 4 translokasyonunu azalmasına sebep olarak insülin direnci gelişmesine yol açabilir)
Mononükleer fagositler ve vasküler endotel hücrelere etki ederek IL-1 ve IL-6'nın dolaşıma salınmasını uyarır.	TNF, damar düz kaslarını gevşeterek kan basıncını ve doku perfüzyonunu azaltır.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1. Gereçler

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Denepleri Etik Kurulu Başkanlığı'nın 08.11.2012 tarihli ve 104 sayılı izni ile yapıldı. Çalışmada hayvan materyali olarak Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Ünitesi'nden temin edilen 60 adet, 2-3 aylık dişi Sprague-Dawley cinsi ( $220 \text{ g} \pm 30 \text{ g}$ ) sıçan kullanıldı ve araştırma Fırat Üniversitesi Hayvan Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Sıçanlar standart şartlarda ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$  sabit ısı, % 60-65 düzeyinde nem ve havalandırılmalı odalarda; 12 saat gün ışığı ve 12 saat karanlık olmak üzere) ve her gün altları temizlenen kafeslerde ad-libitum olarak beslendi. Uygulamalara 1 haftalık adaptasyon süresinden sonra başlandı ve uygulamalar her gün 11:00 -12:00 saatleri arasında yapıldı. Hayvanlar her grupta 10, her kafeste 5 hayvan olacak şekilde aşağıda belirtildiği gibi 6 gruba ayrıldı. Deney toplam 25 gün sürdü.

- 1. Grup kontrol (n:10)**, (intraperitoneal (i.p) olarak serum fizyolojik + 21 gün boyunca oral olarak serum fizyolojik uygulandı),
- 2. Grup diyabet (n:10)**, (intraperitoneal (i.p) olarak 50 mg/kg Streptozotocin (STZ), (50 ml sitrik asit + 40 ml disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisinde (pH:4,5) çözüldü + 21 gün boyunca oral olarak serum fizyolojik uygulandı ).
- 3. Grup diyabet + trigonella (n:10)**, (50 mg/kg i.p olarak STZ uygulaması + 21 gün boyunca oral olarak 150 mg/ kg *Trigonella Foenum-Graecum* (TFG) uygulandı),

4. **Grup diyabet + krom (n:10)**, (50 mg/kg i.p olarak STZ uygulaması +21 gün boyunca 30 µg/kg oral krom uygulandı (**Cr**))
5. **Grup diyabet + trigonella + krom (n:10)**, (50 mg/kg i.p olarak STZ uygulaması +21 gün boyunca oral 30 µg/kg krom + 150 mg/ kg *Trigonella Foenum-Graecum* uygulandı (**TFG+ Cr**)),
6. **Grup diyabet + insülin (n:10)**, (50 mg/kg i.p olarak STZ uygulaması +21 gün boyunca subkutan 1IU insulin uygulandı).

Tek doz STZ uygulamasından 72 saat sonra glikometre ile açlık kan glikoz değerleri ölçülecek 200 mg/dl üzerinde olanlar diyabetli olarak kabul edildi, krom, *Trigonella Foenum-Graecum* ve insülin 21 gün uygulandı.

**Tablo 4.** Sıçan Yemi Bileşimi

SIÇAN YEMİ BİLEŞİMİ		KULLANILAN MADDELER
SU	En Çok (%) 12	Buğday, Arpa, Soya Küspesi, Fındık Küspesi, Melas Mayası, Ayçiçeği Tohumu Küspesi, Pamuk Tohumu Küspesi, Mısır Proteini, Rasmol, Balık Unu, Tuz, Mermer Tozu, Melas, Tapiyoka, Sorgum, Kolza Küspesi, Sentetik Lisin, Sentetik Methionin, Premiksler, Kepek, Süt Tozu
HAM PROTEİN	En Az (%) 24	
HAM SELÜLOZ	En Çok (%) 7	
HAM KÜL	En Çok (%) 8	
HCL'de ÇÖZÜLMİYEN KÜL	En Çok (%) 2,0	
NaCl	En Çok (%) 1,0	
KALSİYUM	En Az- En Çok (%) 1,0-2,8	
FOSFOR	En Az (%) 0,9	
SODYUM	En Az- En Çok (%) 0,5-0,7	
METABOLİK ENERJİ	En Az (%) 2,650	
Kcal/kg		

#### **4.1.1. Kullanılan Cihazlar**

1. Spektrofotometre (Spectra Max)
2. Homojenizatör (Wigen Hauser)
3. Hassas terazi (Shimadzu)
4. Deiyonize su cihazı (Nüve)
5. Soğutmalı santrifüj (Hettich)
6. Derin dondurucu (Beko)
7. Buzdolabı (Profilo)
8. Analitik terazi (Precisa)
9. pH metre (Thermo Orion)
10. Etüv (Nüve)
11. Vorteks (Heidolph)
12. Dispenser (Brand)
13. Ayarlanabilir otomatik pipetler (Mikrolit, Brand, Eppendorf, Gilson) (1, 10, 20, 100, 1000  $\mu$ L)
14. Glukometre (Smart Chek)
15. HbA<sub>1c</sub> Ölçüm cihazı (Ceragem)

#### **4.1.2 Kullanılan Kitler**

1. Total oksidan kiti (Rel-Assay)
2. Total antioksidan kiti (Rel-Assay)
3. Sıçan TNF-alfa ELİSA kiti (İnvitrogen)
4. HbA<sub>1c</sub> Test kiti (Ceragem)



**4.1.3. Kullanılan Diğer Malzemeler**

1. Sıçan gavajı
2. Steril enjektör (5, 10 ml) (Hayat)
3. Steril insülin enjektörü (1 ml) (Hayat)
4. EDTA'lı kan tüpü (Venoject)
5. Jelli tüp (Vacutainer)
6. Eppendorf tüp (1,5, 2 ml) (Eppendorf)
7. Otomatik pipet uçları (10, 100 ve 1000 µl) (Isolab)
8. Dispenser uçları (0,1, 0,5, 1 ve 5 ml) (Eppendorf)
9. 96 kuyucuklu plate (Brand)

**4.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

1. Streptozotocin (Sigma)
2. Pentobarbital sodyum (Sigma)
3. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma)
4. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Sigma)
5. Sodyum sitrat (Merck)
6. Hidroklorik asit (Merck)
7. Serum fizyolojik (İzofleks)

8. Krom (GNC)

9. İnsülin (Lilly Humalog)

## 4.2. Yöntem

### 4.2.1. Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

**4.2.1.1. Sodyum sitrat çözeltisi:** 0,294 g sodyum sitrat dihidrat ( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O = 294,1$  g/mol) alınarak, deiyonize su ile hacim 100 ml'ye tamamlandı ve 1 Normal HCl ile pH'sı 4.5'a ayarlandı.

**4.2.1.2. Streptozotocin çözeltisi:** Hazırlanan sodyum sitrat tamponundan 21 mg/ml olacak şekilde alınarak içerisinde STZ çözdürüldü. STZ çözeltisi ışık ve ısıdan etkilenebileceği için renkli tüpde hazırlandı ve enjeksiyon süresince içi buz dolu beher içinde muhafaza edildi ve taze bir şekilde hayvanlara uygulandı. Diyabet oluşturulacak hayvanlara, insülin enjektörü ile hayvanların ağırlıklarına göre tek doz 50 mg/kg STZ i.p olarak verildi. Kontrol grubu hayvanlara ise i.p olarak serum fizyolojik enjekte edildi.

**4.2.1.3. Fosfat Tampon Çözeltisi:** 14.126 g Disodyum hidrojen fosfat ( $Na_2HPO_4$   $M_A=141.96$  g/mol) ile 4.535 g potasyum dihidrojen fosfat ( $KH_2PO_4$   $M_A=136.09$  g/mol) tartıldı. Tartılan  $Na_2HPO_4$  ve  $KH_2PO_4$  ayrı ayrı 500'er ml distile su ile çözdürülerek hazırlandı. Daha sonra bu iki çözelti birbirine eşit oranda karıştırılmak ve pH'sı 6.8'e ayarlandı.

**4.2.1.4. *Trigonella foenum-graecum* Çözeltisi:** 150 mg/kg dozunda *Trigonella foenum-graecum* ekstraktı günlük olarak serum fizyolojikte çözülmek suretiyle hayvanlara oral gavaj yoluyla verildi.

**4.2.1.5. Krom Çözeltisi:** 30 µg/kg dozunda krom günlük olarak serum fizyolojikte çözülmek suretiyle hayvanlara oral gavaj yoluyla verildi.

#### **4.2.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

Deneysel aşamanın sonunda 0,4 ml/kg sodyum pentobarbital ile anestezi altına alınan hayvanlardan daha önceden EDTA ile yıkanmış enjektörlerle a. femoralis'in bifurkasyon bölgesinden girilerek yaklaşık 4-6 ml kan alındı. EDTA'lı kan örnekleri hücre ve plazmalarının ayrılması için 3000 rpm'de 4 °C'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonucunda plazmaları alınan kan örneklerinden eritrosit paketi hazırlamak için her seferinde 3 ml % 0.9'luk NaCl eklenmek ve her santrifüjden sonra süpernatant kısmı atılmak suretiyle üç kez yıkandı. Son olarak eritrositlerden 100 µl alınıp ve üzerine 900 µl deiyonize su eklenerek hazırlanan eritrosit paketleri ve plazmalar analizlere kadar -20 C°'deki deep freeze'de saklandı

#### **4.2.3. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

Kan örneklerinin alınmasını takiben; karaciğer, böbrek dokuları alındı. Doku örnekleri ise laktatlı ringer solüsyonu ile yıkandıktan sonra polietilen poşetlere sarılıp etiketlendi ve analizlere kadar -20 °C'deki derin dondurucuda saklandı. Analizlerin hemen öncesinde karaciğer ve böbrek örneklerinden bir miktar tartılıp üzerine ağırlığının 9 katı fosfat tampon çözeltisi eklenerek (1/10 oranında) homojenizatör yardımı ile analizlerde kullanılan kitlerin prosedürüne uygun şekilde homojenize edildi. Homojenize edilen doku örneklerinden santrifüj yardımıyla ayrılan homojenatlar polietilen tüplere alındı.

#### 4.2.4. *Trigonella foenum-graecum* Ekstraktının Hazırlanması

*Trigonella foenum-graecum* tohumları ince toz haline getirildi. Toz 1:5 oranında su ve etanol (su-etanol 2:8) karışımı ile sulandırılıp (132) oda ısısında 48 saat çalkalama su banyosunda bekletildi. 48 saat sonra filtre kağıdından süzülüp, 50 C°'de indirgenmiş basıç altında evaporatörde, su ve alkol buharlaştırıldı. 250 ml maserasyondan 9 gr ekstrakt elde edildi.



**Resim 2.** *Trigonella foenum-graecum* Ekstraktı

### 4.3. Deney Protokolü

#### 4.3.1. Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Belirlenmesi

Çalışmaya başlanılan gün sıfırncı gün kabul edildi ve 8 saat aç bırakılan hayvanlarda Smart Chek marka glikometre kullanılarak kuyruk ucundan alınan kan örneklerinden açlık kan glikoz seviyeleri tespit edildi. Tek doz STZ uygulamasından 72 saat sonra glikometre ile açlık kan glikoz değerleri ölçüldü ve

200 mg/dl üzerinde olanlar diyabetli olarak kabul edildi, diyabetli olan hayvanlara yukarıda belirtilen prosedüre uygun olarak 21 gün boyunca madde verildi. Madde verildiği süre içinde de 7., 14. ve 21. günlerde 8 saatlik açlık sonrası kan glikoz seviyeleri belirlendi.

#### **4.3.2. HbA<sub>1c</sub> Değerlerinin Belirlenmesi**

Çalışmanın son gününde Ceragem marka HbA<sub>1c</sub> ölçüm cihazı ve test kiti kullanılarak tam kanda HbA<sub>1c</sub> değerleri belirlendi. Testin yapılışında; 5µl kan kapillar tüplere alınıp içinde 25 µl R1 (Reagent 1) bulunan tüplerde iki dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kit içinden çıkan kartuşa 25 µl tüpteki karışım eklendi, daha sonra üzerine 25 µl R2 (Reagent 2) yıkama solüsyonu eklenip kartuş cihaza yerleştirilip okuma yapıldı.

#### **4.3.3. Total Oksidan (TOS) Değerlerinin Belirlenmesi**

Örnekte bulunan antioksidanlar ferröz iyon-o-dianisididine komplekslerini ferrik iyona oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır (**133**). Kit içeriğinde yer alan standart 2 solüsyonundan 50 µL alınarak 10 ml deiyonize su ile karıştırılıp vortekslendi, hazırlanan ilk solüsyondan 50 µL alınarak yeniden 10 ml deiyonize suyla karıştırılıp vortekslenerek standart 2 solüsyonu deiyonize su ile 40.000 kez dilue edilmiş olundu. Hazırlanan solüsyonun konsantrasyonu 20 mikromolar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oldu. Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı. Reagent 1 eklenip üzerine Standart 1-Standart 2-örnek eklenip, 530 nm dalga

boyunda ilk absorbans belirlendi, ilk absorbans belirlendikten sonra üzerlerine Reagent 2 eklenip 10 dakika boyunca oda ısısında inkübe edildi, inkübe edildikten sonra 530 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar belirlendi.

**Hesaplama:**

$$\text{Sonuç} = [ \Delta \text{ABS Örnek} / \Delta \text{ABS Standart 2} ] \times 20 [ \text{Standart 2 değeri} ]$$

$$\Delta \text{ Örnek Absorbansı} = ( \text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı} )$$

$$\Delta \text{ Standart 2'nin Absorbansı} = ( \text{Std 2'nin 2. Absorbansı} - \text{Std 2'nin 1. Absorbansı} )$$

$$\text{Standart 2 Değeri} = 20 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{Equiv./L}$$

**4.3.4. Total Antioksidan (TAS) Değerlerinin Belirlenmesi**

Bu ölçüm yönteminde 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid) radikali (ABTS radikali) kullanılmaktadır. ABTS radikali, antioksidan konsantrasyonuna ve antioksidan kapasiteye göre koyu mavi-yeşil rengini kaybetmektedir. Bu yöntemin esası hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün ABTS<sup>+</sup> molekülüne okside olmasına dayanmaktadır (134). Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı. Reagent 1 eklenip üzerine deiyonize su -Standart -örnek eklenip, 660 nm dalga boyunda ilk absorbans belirlendi, ilk absorbans belirlendikten sonra üzerlerine Reagent 2 eklenip 10 dakika boyunca oda ısısında inkübe edildi, inkübe edildikten sonra 660 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar belirlendi.

### Hesaplama

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta \text{ABS Su}) - (\Delta \text{ABS Örnekte})]}{[(\Delta \text{ABS Su}) - (\Delta \text{ABS Std})]}$$

$\Delta \text{ABS Su} = (\text{Suyun 2. Absorbansı} - \text{Suyun 1. Absorbansı})$

$\Delta \text{ABS Std} = (\text{Standart'ın 2. Absorbansı} - \text{Standart'ın 1. Absorbansı})$

$\Delta \text{Örnek Absorbansı} = (\text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı})$

#### 4.3.5. TNF- $\alpha$ Değerlerinin Belirlenmesi

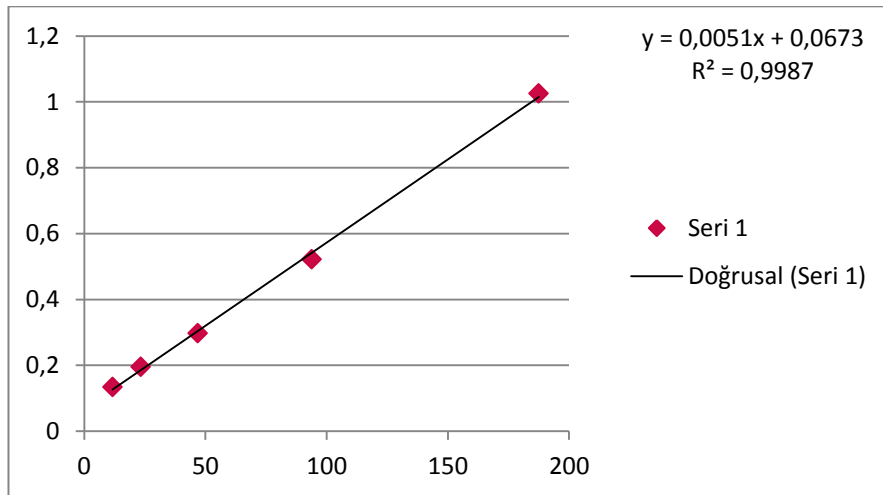
Bu ölçüm yönteminde; ilk inkübasyonda sıçan TNF- $\alpha$  antijeni ve antikoru bağlanarak hareketsiz kalması sağlanır. Yıkandıktan sonra rat TNF- $\alpha$  için spesifik biotinylated monoclonal antikor eklenir ve ikinci inkübasyonda bu antikor ilk inkübasyonda hareketsiz kalan sıçan TNF- $\alpha$ 'sı bağlanır. Fazla ikinci antikor uzaklaştırıldıktan sonra Streptavidin peroksidaz enzimi eklenir ve bu dört faktör sandiviçi tamamlamak için biotinylated antikora bağlanır. İkinci inkübasyondan sonra yapılan yıkama ile bütün serbest enzimler uzaklaştırılır. Substrat solüsyonunun eklenmesiyle bağlı enzimler tarafından renk değişimi başlatılır ve bu renk yoğunluğu numunelerdeki TNF- $\alpha$  konsantrasyonu ile orantılıdır. Plazma numuneleri 1:2 oranında inkübasyon tamponu ile sulandırıldı. 225  $\mu$ l standart ve 375 $\mu$ l standart diluent buffer karıştırıldı ve 750 pg/ml Rt TNF- $\alpha$  mix elde edildi ve 6 tüpe 300  $\mu$ l standart diluent buffer eklenip ( 375-187,5-93,8-46,9-23,4-11,7 pg/ml olacak şekilde) seri dilüsyon yapıldı. Streptavidin-HRP (100X) konsantre solüsyonundan 120  $\mu$ l alınıp 12ml Streptavidin-HRP dilüent ile karıştırıldı. Pleyte

100 µl standart, kontrol ve numuneler eklendi. Pleyt kapatılarak inkübasyon için oda ısısında 2 saat tutuldu. 2 saat sonunda pleyt iyice boşaltılıp yıkama solüsyonu ile 4 kez yıkandı. Sonra 100 µl biotin konjugat ilave edilip pleyt kapatıldı ve inkübasyon için oda ısısında 1 saat tutuldu. 1 saat sonunda pleyt iyice boşaltılıp yıkama solüsyonu ile 4 kez yıkandı. 100 µl Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenip oda ısısında 30 dakika inkübasyon için tutuldu (Buraya kadar yapılan işlemler de kromogen blank kuyucuğu boş tutuldu). 30 dakika sonunda pleyt iyice boşaltılıp yıkama solüsyonu ile 4 kez yıkandı. 100 µl stabilize kromogen her kuyucuğa eklenip 30 dakika oda ısısında karanlıkta inkübe edildi (alüminyum folyo ya da metal içeren polyester kullanılmamalıdır) ve daha sonra 100 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm boyunda okuma yapıldı.

## Hesaplama

### Plazma TNF- $\alpha$ için;

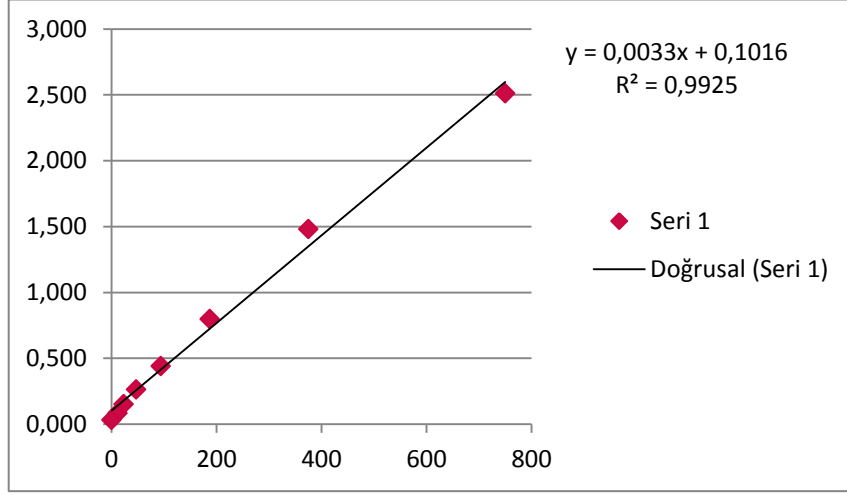
$y = 0,0051x + 0,0673$  formülü kullanıldı.





### Karaciğer TNF- $\alpha$ için;

$y = 0,0033x + 0,1016$  formülü kullanıldı.



#### 4.4. İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen verilerin biyoistatistiksel olarak değerlendirilmesi için SPSS 18 paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki değişkenlerin değerlendirilmesi için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve Tukey testi uygulandı.  $p < 0,05$  olan değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi (135). Araştırma sonuçlarına ait değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi.

## 5. BULGULAR

### 5.1. Gruplar Arası Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi

Çalışmanın 0. ve 3. günleri ile diyabet oluşturulduktan sonraki 7., 14. ve 21. günlerinde tüm grupların açlık kan glikoz değerleri glikometre ile ölçülerek değerlendirildi (Tablo 5). Başlangıçta tüm grupların açlık kan glikoz değerleri 85 – 105 mg/dl arasında belirlenirken, gruplar arasında istatistiksel açıdan herhangi bir önemlilik tespit edilemedi.

STZ uygulamasından 3 gün sonra ve uygulamanın 7., 14., 21. günlerinde yapılan ölçümlerde diyabetli deneme grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında kan glikoz değerlerinin önemli oranda artış ( $p<0,001$ ) gösterdiği saptandı. Ancak STZ uygulamasından 3 gün sonra ve 7. günde diyabetli deneme grupları ile diyabetik kontrol grubu kıyaslandığında bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ). Bununla birlikte 14. gün diyabet kontrol grubuna kıyasla madde verilen diyabetli grupların açlık kan glikoz değerlerinde; TFG, insülin, TFG+Cr gruplarında  $p<0,001$ , Cr verilen grupta ise  $p<0,01$  düzeylerinde bir azalma belirlendi. Ayrıca; TFG, insülin, TFG+Cr verilen grupların açlık kan glikoz değerleri kıyaslandığında da istatistiksel olarak bir önemlilik tespit edilemedi ( $p>0,05$ ). TFG ve insülin grupları ile Cr grubunun kan glikoz değerleri kıyaslandığında ise TFG ve insülin gruplarında  $p<0,05$  düzeyinde bir azalma; sadece Cr ve TFG+Cr verilen grupların glikoz değerleri kıyaslandığında ise istatistiksel olarak herhangi bir önemlilik olmadığı ( $p>0,05$ ) gözlenmedi.

Diyabet kontrol grubu ile madde verilen diyabetli grupların 21. gündeki açlık kan glikoz değerleri kıyaslandığı zaman TFG, insülin ile TFG+Cr

gruplarında  $p<0,001$ , Cr grubunda ise  $p<0,01$  düzeyinde bir azalma olduğu tespit edildi. Aynı zamanda TFG, insülin ile Cr gruplarının açlık kan glikoz değerleri kıyaslandığında; TFG ve insülin gruplarında  $p<0,001$  düzeyinde, Cr ile TFG+Cr gruplarının açlık kan glikoz değerleri karşılaştırıldığında ise  $p<0,01$  oranında bir azalma gösterdiği dikkat çekti.

**Tablo 5.** Gruplar Arası Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimleri (mg/dl), (n=10) (X±SD)

GLİKOZ (mg/dl)	DİYABET		TFG	Cr	TFG+Cr	İNSÜLİN
	KONTROL	KONTROL				
0.GÜN	104,89±4,31	105,20±2,35	104,00±3,56	104,00±3,62	104,00±2,75	102,11±3,79
3.GÜN	86,50±7,39 <sup>a</sup>	384,00±39,29 <sup>b</sup>	357,88±36,42 <sup>b</sup>	381,83±41,15 <sup>b</sup>	371,29±31,6 <sup>b</sup>	379,57±45,64 <sup>b</sup>
7.GÜN	80,20±9,13 <sup>a</sup>	381,11±36,87 <sup>b</sup>	369,75±24,56 <sup>b</sup>	376,67±47,50 <sup>b</sup>	367,00±32,60 <sup>b</sup>	369,71±31,68 <sup>b</sup>
14.GÜN	100,60±4,72 <sup>a</sup>	477,75±39,63 <sup>d</sup>	351,57±44,22 <sup>b</sup>	411,71±37,45 <sup>c</sup>	366,20±39,39 <sup>bc</sup>	355,75±33,20 <sup>b</sup>
21.GÜN	102,88±3,83 <sup>a</sup>	517,44±28,14 <sup>d</sup>	336,67±49,70 <sup>b</sup>	453,40±30,68 <sup>cl</sup>	374,00±29,39 <sup>b</sup>	345,00±28,49 <sup>b</sup>

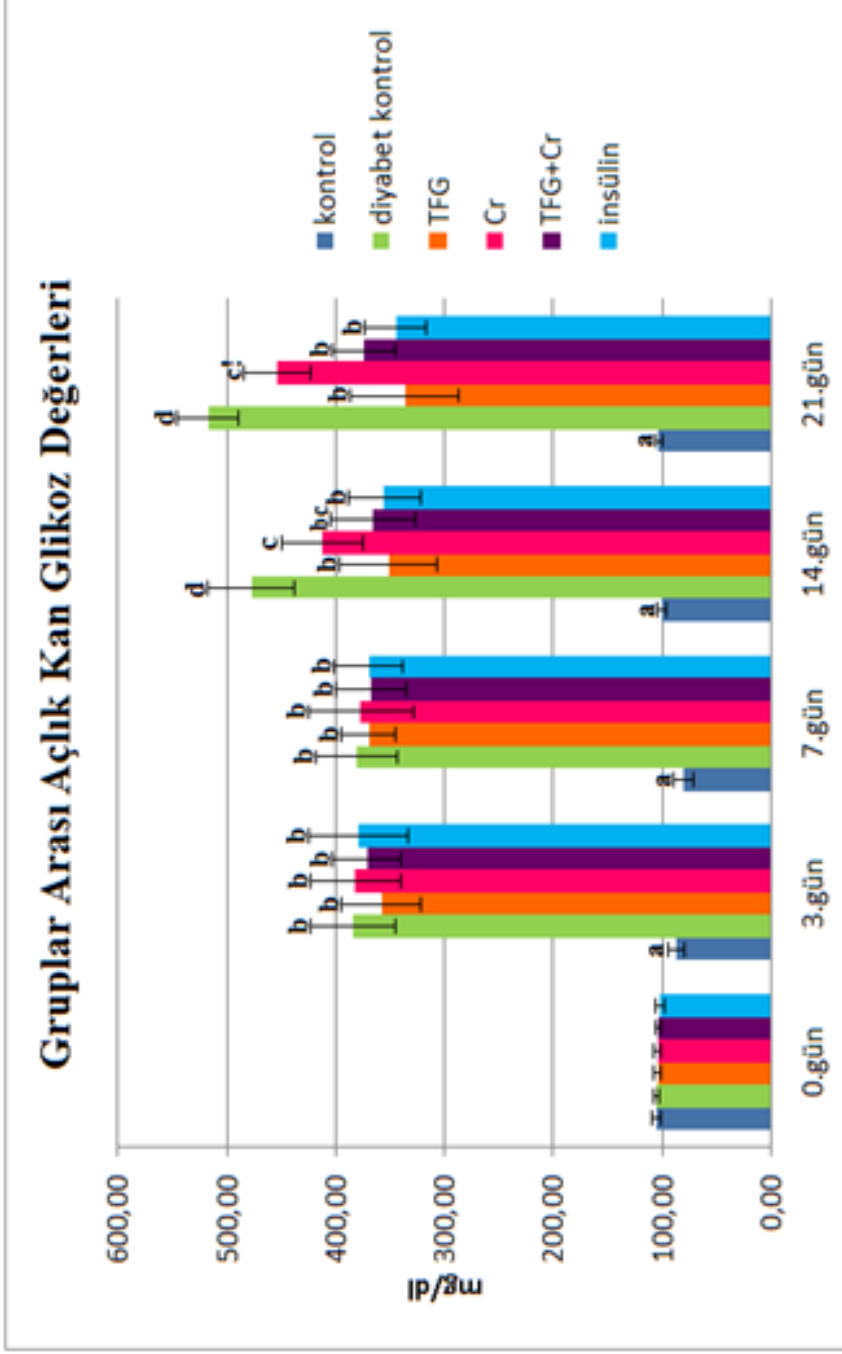
Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-c, a-d, a-bc, a-cl, b-d, bc-d:  $p<0,001$

b-c:  $p<0,05$

c-d, cl-d:  $p<0,01$

b- cl:  $p<0,01$ ,  $p<0,001$  (TFG + Cr - Cr, TFG - Cr ile İnsülin - Cr grupları arasında)



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-c, a-d, a-bc, a-c!, b-d, bc-d:  $p < 0,001$

b-c:  $p < 0,05$

c-d, c!-d:  $p < 0,01$

b- c!:  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  (TFG + Cr - Cr, TFG - Cr ile insülin - Cr grupları arasında)

**Grafik 1.** Gruplar Arası Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimleri (mg/dl)

## 5.2. Grup İçi Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi

Diyabet kontrol, *Trigonella foenum-graecum*, Cr, TFG+Cr ve insülin gruplarının 0. ile 3., 7., 14. ve 21. günlerinin açlık kan glikoz değerleri kıyaslandığında (Tablo 6) istatistiksel olarak  $p<0,001$  düzeyinde oldukça önemli bir artış belirlendi. Diyabet kontrol grubunun 3. ve 7. günleri kıyaslandığında istatistiksel olarak önemlilik olmadığı ( $p>0,05$ ); 14. ve 21. günler ile 3. ve 7. günler kıyaslandığında, 14. ve 21. günler de açlık kan glikoz değerlerinin önemli oranda arttığı ( $p<0,001$ ); 14. ve 21. günler aralarında kıyaslandığında ise istatistiksel olarak önemlilik olmadığı ( $p>0,05$ ) belirlendi.

*Trigonella foenum-graecum*, TFG+Cr ve insülin gruplarının açlık kan glikoz değerleri uygulamanın 3., 7., 14. ve 21. günlerinde aralarında karşılaştırıldığında, en düşük değer 21. günde *Trigonella foenum-graecum* ve insülin grupları arasında gözlenmesine rağmen, belirtilen zaman dilimlerinde grup içi yapılan değerlendirmelerde istatistiksel açıdan bir önemlilik ( $p>0,05$ ) tespit edilemedi.

Krom grubunun, açlık kan glikoz değerleri belirlenen zaman birimlerine göre değerlendirildiğinde: 3. ile 21. günler kıyaslandığında  $p< 0,05$  düzeyinde; 7. gün ile 21. gün kıyaslandığında ise  $p<0,01$  düzeyinde açlık kan glikoz değerlerinde bir artış tespit edildi. Ancak 14. ve 21. günler aralarında kıyaslandığında ise istatistiksel olarak önemlilik olmadığı ( $p>0,05$ ) belirlendi.

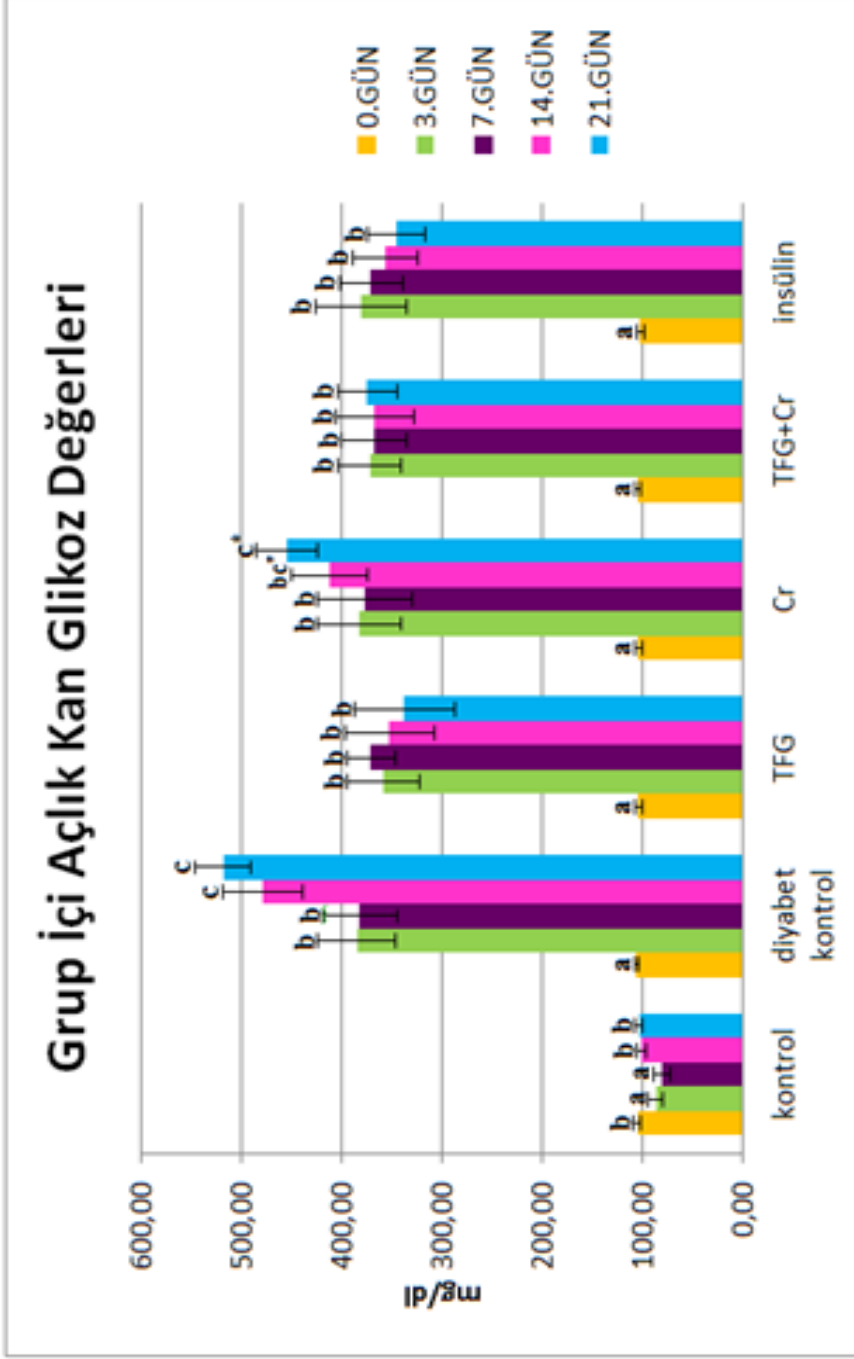
**Tablo 6.** Grup İçi Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimleri (mg/dl), (n=10) (X±SD)

<b>GLİKOZ</b> (mg/dl)	<b>0.GÜN</b>	<b>3.GÜN</b>	<b>7.GÜN</b>	<b>14.GÜN</b>	<b>21.GÜN</b>
<b>KONTROL</b>	104,89±4,31 <sup>b</sup>	86,50±7,39 <sup>a</sup>	80,20±9,13 <sup>a</sup>	100,60±4,72 <sup>b</sup>	102,88±3,83 <sup>b</sup>
<b>DİYABET</b>					
<b>KONTROL</b>	105,20±2,35 <sup>a</sup>	384,00±39,29 <sup>b</sup>	381,11±36,87 <sup>b</sup>	477,75±39,63 <sup>c</sup>	517,44±28,14 <sup>c</sup>
<b>TFG</b>	104,00±3,56 <sup>a</sup>	357,88±36,42 <sup>b</sup>	369,75±24,56 <sup>b</sup>	351,57±44,22 <sup>b</sup>	336,67±49,70 <sup>b</sup>
<b>Cr</b>	104,00±3,62 <sup>a</sup>	381,83±41,15 <sup>b</sup>	376,67±47,50 <sup>b</sup>	411,71±37,45 <sup>bc*</sup>	453,40±30,68 <sup>c*</sup>
<b>TFG+Cr</b>	104,00±2,75 <sup>a</sup>	371,29±31,36 <sup>b</sup>	367,00±32,60 <sup>b</sup>	366,20±39,39 <sup>b</sup>	374,00±29,39 <sup>b</sup>
<b>İNSÜLİN</b>	102,11±3,79 <sup>a</sup>	379,57±45,64 <sup>b</sup>	369,71±31,68 <sup>b</sup>	355,75±33,20 <sup>b</sup>	345,00±28,49 <sup>b</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-c, , b-c, a-c\*: p<0.001

b- c\*: p< 0,05, p<0,01 (3.gün-21.gün, 7.gün-21.gün arasında)



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-c, , b-c, a-c\*:  $p < 0.001$

b- c\*:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  (3.gün-21.gün, 7.gün-21.gün arasında)

**Grafik 2.** Grup İçi Açlık Kan Glikoz Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimleri(mg/dl)

### 5.3. Vücut Ağırlıklarının Zamana Bağlı Olarak Grup İçi Değişimi

Tüm grupların vücut ağırlıkları çalışmanın 0., 3. ve diyabet oluşturulduktan sonraki 7., 14. ve 21. günlerinde ölçüldü (Tablo 7). Kontrol grubundaki sıçanların 0.gün ağırlıkları ile 3., 7., 14. ve 21. günlerdeki ağırlıkları kıyaslandığında tespit edilen artış istatistiksel açıdan önemli bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Diyabet kontrol grubundaki sıçanların 0. gündeki ağırlıkları ile 3. gündeki ağırlıkları kıyaslandığında  $p<0,01$  düzeyinde; 7., 14. ve 21. günlerdeki ağırlıkları ile kıyaslandığında ise  $p<0,001$  düzeyinde azalma olduğu belirlendi. Diyabet kontrol, TFG, Cr ve TFG+Cr gruplarının 3., 7., 14. ve 21. günlerdeki ağırlıkları kıyaslandığında ise istatistiksel olarak herhangi bir önemlilik ( $p>0,05$ ) belirlenemedi.

TFG grubundaki sıçanların 0. gündeki ağırlıkları ile 3. gündeki ağırlıkları kıyaslandığında istatistiksel olarak önemlilik belirlenememekle birlikte ( $p>0,05$ ); 0. gün ile 7. ve 14. günlerdeki ağırlıklar kıyaslandığında ise  $p<0,01$  düzeyinde bir azalma gözlemlendi. Benzer şekilde, aynı grubun 0. ve 21. günlerdeki ağırlıkları kıyaslandığında ise  $p<0,001$  düzeyinde azalma gösterdi.

Krom grubunun ağırlıklarında ise 0. gün ile 3. ve 21. günlerde  $p<0,05$  düzeyinde, 7. günde ise  $p<0,001$  değerinde bir azalma bulundu.

TFG + Cr grubunun 0., 3., 7., 14. ve 21. günlerdeki ağırlıkları kendi aralarında kıyaslandığında istatistiksel önemlilik ( $p>0,05$ ) tespit edilemedi.

İnsülin grubunun hem 0., 3., 14. ve 21. günlerdeki ağırlıkları hem de 3. ile 7. gündeki ağırlıkları aralarında kıyaslandığında istatistiksel bir önemlilik tespit



edilemedi ( $p>0,05$ ). Bununla birlikte 7. gün ile 0. ve 14. günlerdeki ağırlıklar karşılaştırıldığında  $p<0,01$  düzeyinde, 7. ile 21. günde ağırlıklar kıyaslandığında ise  $p<0,05$  düzeyinde artış gösterdiği belirlendi.

**Tablo 7.** Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıklarının Grup İçi Günler Arası Değişimleri (gr), (n=10) ( $X\pm SD$ )

AĞIRLIK (gr)	0.GÜN	3.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	21.GÜN
<b>KONTROL</b>	246,6±18,3	235,7±16,5	239,3±20,7	250,8±14,8	253,2±13,0
<b>DİYABET KONTROL</b>	233,4±6,2 <sup>a</sup>	217±5,8 <sup>b</sup>	208,7±6,5 <sup>b</sup>	213,4±10,9 <sup>b</sup>	209,9±15,6 <sup>b</sup>
<b>TFG</b>	215,0±7,5 <sup>a</sup>	206,1±11,5 <sup>ac</sup>	196,4±10,3 <sup>c</sup>	197,0±11,8 <sup>c</sup>	192,4±14,4 <sup>c</sup>
<b>Cr</b>	232,3±9,3 <sup>a</sup>	217,0±11,5 <sup>d</sup>	209,9±11,3 <sup>d</sup>	221,3±13,3 <sup>ad</sup>	217,3±12,9 <sup>d</sup>
<b>TFG+Cr</b>	198,8±7,1	189,8±7,8	188,2±8,1	199,1±10,9	200,8±17,6
<b>İNSÜLİN</b>	212,6±10,4 <sup>a</sup>	204,7±7,5 <sup>ae</sup>	196,4±5,9 <sup>e</sup>	212,0±5,7 <sup>a</sup>	208,4±12,0 <sup>a</sup>

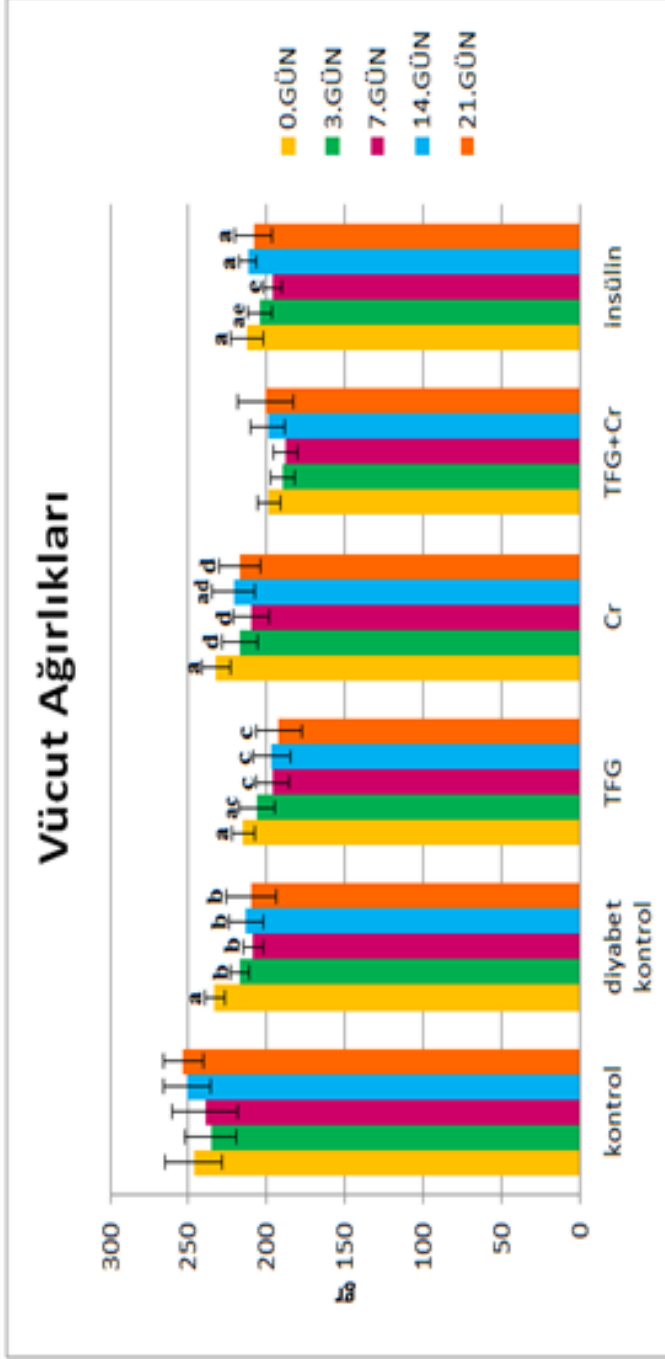
Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir

a-b:  $p<0,01$ ,  $p<0,001$  (3.gün-0.gün, 7.,14.,21.günler ile 0.gün arasında)

a-c:  $p<0,01$ ,  $p<0,001$  (7.,14.günler ile - 0.gün, 21.gün - 0.gün arasında)

a-d:  $p<0,05$ , :  $p<0,01$  (3.,21.günler ile - 0.gün, 7.gün-0.gün arasında )

a-e:  $p<0,05$ , :  $p<0,01$  (21.gün - 7.gün, 0.,14.günler ile - 7.gün arasında)



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b:  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  (3.gün-0.gün, 7.,14.,21.günler ile 0.gün arasında)

a-c:  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  (7.,14.günler ile - 0.gün, 21.gün - 0.gün arasında)

a-d:  $p < 0,05$ , ;  $p < 0,01$  (3.,21.günler ile - 0.gün, 7.gün-0.gün arasında )

a-e:  $p < 0,05$ , ;  $p < 0,01$  (21.gün - 7.gün, 0.,14.günler ile - 7.gün arasında)

**Grafik 3.** Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıklarının Grup İçi Günler Arası Değişimleri (gr).

#### 5.4. HbA<sub>1c</sub> Düzeyleri

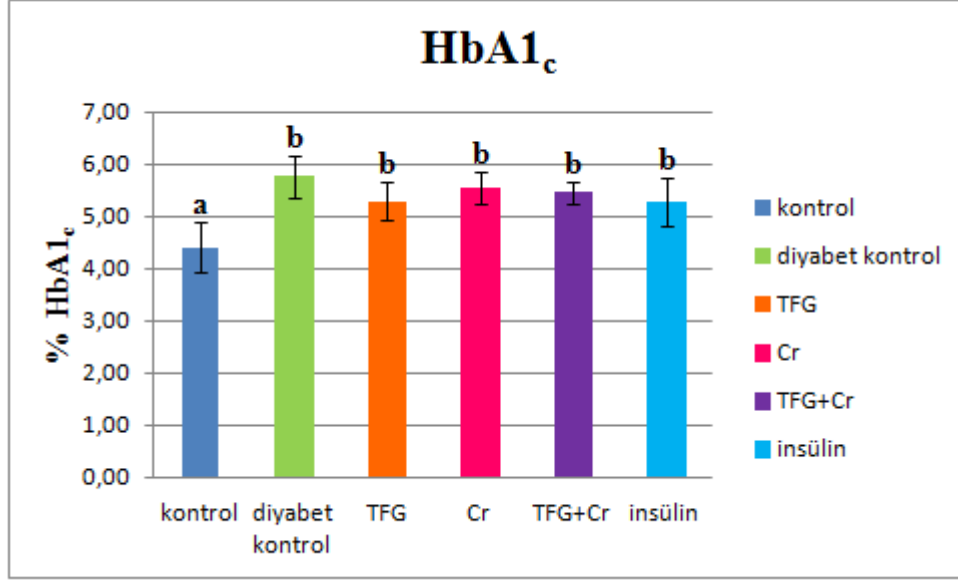
Kontrol grubu ile diyabetli gruplar glikozile hemoglobinin değerleri bakımından karşılaştırıldığında (Tablo 8) diyabetli grupların glikozile hemoglobinin değerlerinde önemli oranda artış ( $p < 0,001$ ) gözlenmiştir. Ancak, diyabetli gruplar kendi aralarında kıyaslandığında en yüksek değer diyabet kontrol grubunda, en düşük değer ise insülin grubunda belirlenmesine rağmen aralarında istatistiksel bir önemlilik ( $p > 0,05$ ) tespit edilemedi.

**Tablo 8.** Deney Gruplarının HbA<sub>1c</sub> Düzeyleri, (n=10) (X±SD)

HbA <sub>1c</sub>	%	mmol/mol
<b>Kontrol</b>	% 4,4± 0,48 <sup>a</sup>	30,1 <sup>a</sup> mmol/mol
<b>Diyabet Kontrol</b>	% 5,76±0,39 <sup>b</sup>	39,4 <sup>b</sup> mmol/mol
<b><i>Trigonella foenum graecum</i></b>	% 5,29±0,36 <sup>b</sup>	36,2 <sup>b</sup> mmol/mol
<b>Krom</b>	% 5,54±0,31 <sup>b</sup>	37,9 <sup>b</sup> mmol/mol
<b>TFG+ Krom</b>	% 5,46±0,21 <sup>b</sup>	37,4 <sup>b</sup> mmol/mol
<b>İnsülin</b>	% 5,27±0,45 <sup>b</sup>	36,1 <sup>b</sup> mmol/mol

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b:  $p < 0,01$



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b:  $p < 0,01$

**Grafik 4.** Tam Kan HbA<sub>1c</sub> Düzeyleri (%)

### 5.5. Plazma Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan(TAS) Düzeyleri

Kontrol grubu ile diyabetli gruplar karşılaştırıldığında plazma TOS düzeylerinin (Tablo 9) diyabetli gruplarda önemli oranda artış gösterdiği gözlemlendi. Bu artış kontrol grubuna kıyasla Cr grubunda  $p < 0,01$  düzeyindeyken, diğer diyabetli gruplarda ise  $p < 0,001$  değerinde saptandı. Bununla birlikte, diyabetli deneme grupları TOS düzeyleri bakımından diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığında, en yüksek TOS düzeyine diyabet kontrol grubunda, en düşük TOS düzeyine ise krom grubunda rastlanılmasına rağmen aralarında herhangi bir istatistiksel önemlilik belirlenemedi ( $p > 0,05$ ). Kontrol grubu ile diyabetli grupların plazma TAS değerleri karşılaştırıldığında (Tablo 9) aralarında istatistiksel bir önemlilik olmadığı ( $p > 0,05$ ); Ancak diyabet kontrol grubu ile

insülin grubu karşılaştırıldığında, insülin grubunun plazma TAS düzeylerinde önemli oranda artış olduğu ( $p < 0,05$ ) belirlendi.

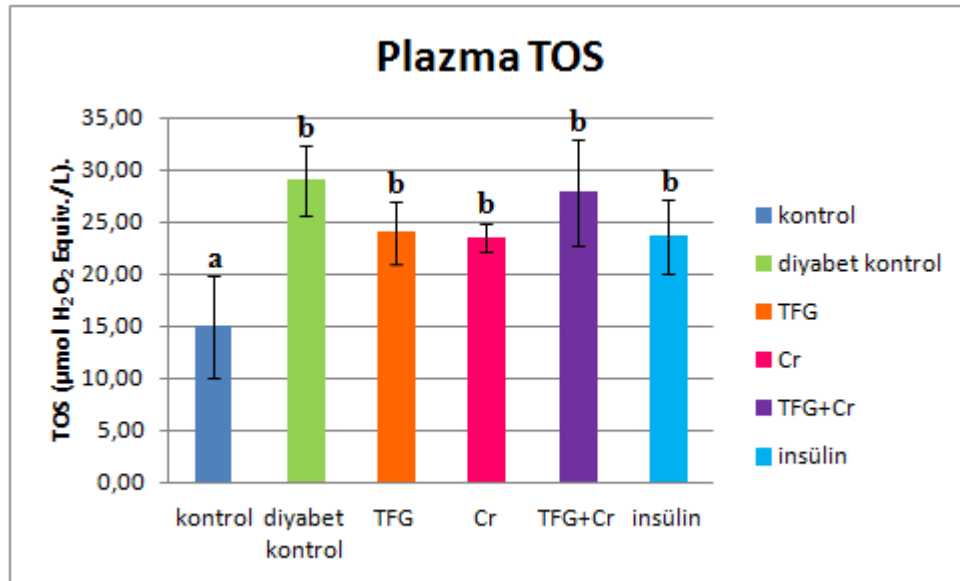
**Tablo 9.** Plazma TOS-TAS Düzeyleri, (n=10) ( $X \pm SD$ )

PLAZMA TOS-TAS	KONTROL	DİYABET KONTROL	TFG	Cr	TFG+Cr	iNSÜLİN
<b>TOS</b> ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L).	14,97 $\pm$ 4,86 <sup>a</sup>	29,00 $\pm$ 3,39 <sup>b</sup>	24,07 $\pm$ 2,98 <sup>b</sup>	23,56 $\pm$ 1,32 <sup>b</sup>	27,85 $\pm$ 5,04 <sup>b</sup>	23,60 $\pm$ 3,53 <sup>b</sup>
<b>TAS</b> (mmol Trolox Equiv./L).	1,05 $\pm$ 0,22 <sup>ab</sup>	0,85 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	1,07 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup>	1,04 $\pm$ 0,06 <sup>ab</sup>	0,96 $\pm$ 0,18 <sup>ab</sup>	1,14 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

**TOS:** a-b:  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  (4.grup - 1.grup, 2.,3.,5.,6.gruplar ile- 1.grup arasında )

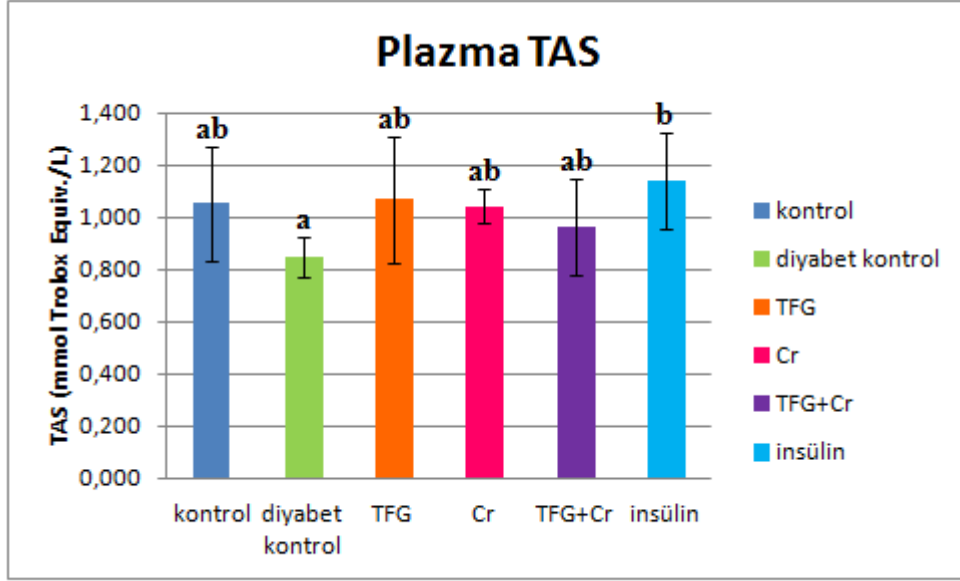
**TAS:** a-b:  $p < 0,05$



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b:  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  (4.grup - 1.grup, 2., 3., 5., 6.gruplar ile- 1.grup arasında )

**Grafik 5.** Plazma Total Oksidan Düzeyleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L.).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b:  $p < 0,05$

**Grafik 6.** Plazma Total Antioksidan Düzeyleri (mmol Trolox Equiv./L).

### 5.6. Eritrosit Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan(TAS) Düzeyleri

Kontrol grubu ile diyabet kontrol grubunun eritrosit TOS düzeyleri karşılaştırıldığında (Tablo 10), diyabet kontrol grubunda önemli oranda artış tespit edildi ( $p < 0,01$ ). Diyabetli gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise en yüksek TOS düzeyine diyabet kontrol grubunda, en düşük TOS düzeyine ise TFG+Cr verilen grupta rastlanılmasına rağmen aralarında herhangi bir istatistiksel önemlilik belirlenemedi ( $p > 0,05$ ). Eritrosit TAS düzeyleri (Tablo 10) bakımından kontrol grubu ile diyabetli gruplar karşılaştırıldığında diyabetli gruplarda önemli oranda artış olduğu tespit edildi ( $p < 0,001$ ). Ancak diyabetli gruplar kendi aralarında kıyaslandığında istatistiksel olarak herhangi bir önemlilik bulunamamasına ( $p > 0,05$ ) rağmen en yüksek TAS düzeyine insülin grubunda rastlanıldı.

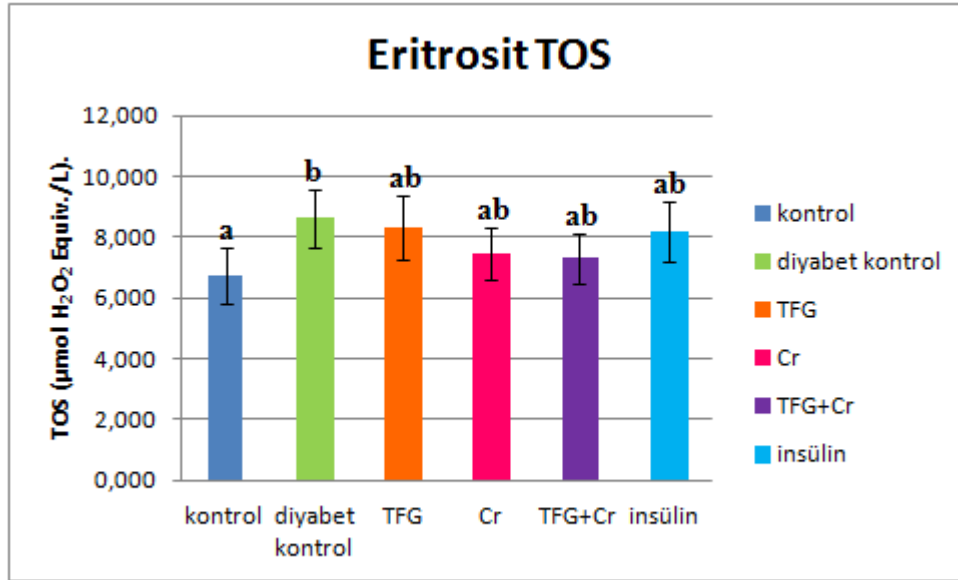
**Tablo 10.** Eritrosit TOS-TAS Düzeyleri, (n=10) (X±SD)

ERİTROSİT TOS-TAS	KONTROL	DİYABET KONTROL	TFG	Cr	TFG+Cr	iNSÜLİN
<b>TOS</b> ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L).	6,76±0,93 <sup>a</sup>	8,62±0,98 <sup>b</sup>	8,31±1,07 <sup>ab</sup>	7,46±0,85 <sup>ab</sup>	7,31±0,83 <sup>ab</sup>	8,19±1,07 <sup>ab</sup>
<b>TAS</b> (mmol Trolox Equiv./L).	1,45±0,23 <sup>a</sup>	2,85±0,25 <sup>b</sup>	2,85±0,15 <sup>b</sup>	2,86±0,15 <sup>b</sup>	2,94±0,12 <sup>b</sup>	3,09±0,21 <sup>b</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

**TOS:** a-b: p<0,01

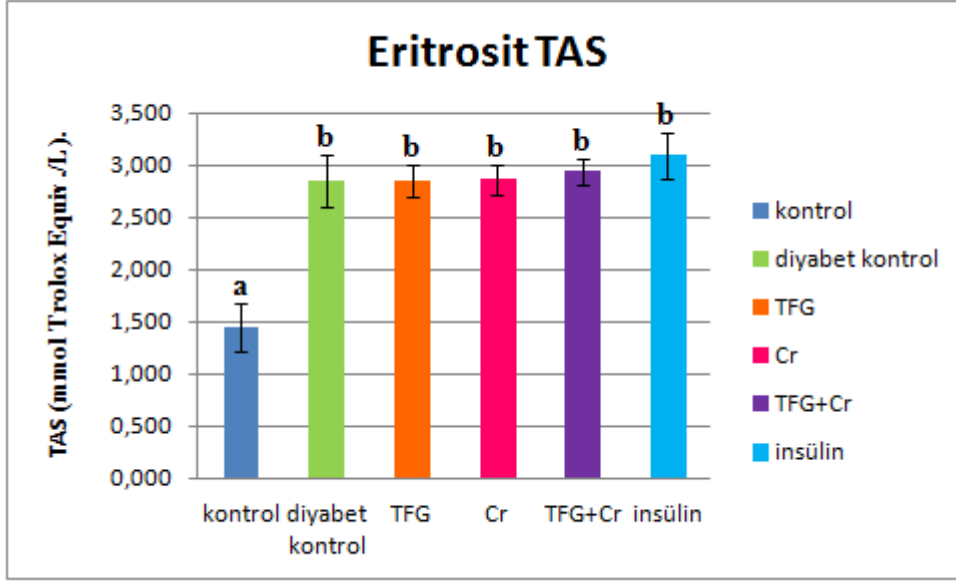
**TAS:** a-b: p<0,001



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b: p<0,01

**Grafik 7.** Eritrosit Total Oksidan Düzeyleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L.).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir

a-b:  $p < 0,001$

**Grafik 8.** Eritrosit Total Antioksidan Düzeyleri (mmol Trolox Equiv./L)

### 5.7. Böbrek Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan (TAS) Düzeyleri

Kontrol grubu ile diyabetli grupların bazılarının (Diyabet kontrol, *Trigonella foenum-graecum*, Krom, İnsülin) böbrek TOS düzeyleri karşılaştırıldığında (Tablo 11) belirtilen diyabetli gruplarda önemli oranda artış gözlemlendi ( $p < 0,001$ ). Bununla birlikte, kontrol grubu ile TFG+Cr grubunun böbrek TOS düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir önemlilik belirlenememesine rağmen ( $p > 0,05$ ), diyabet kontrol grubu ile TFG+Cr verilen grup kıyaslandığında böbrek TOS düzeyinde diyabet kontrol grubuna göre önemli oranda azalış tespit edildi ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubu ile bazı diyabetli grupların (Diyabet kontrol, TFG, TFG+Cr, İnsülin) böbrek TAS düzeyleri karşılaştırıldığında (Tablo 11) istatistiksel olarak bir önemlilik olmadığı ( $p > 0,05$ ); kontrol grubu ile Cr grubu kıyaslandığında ise Cr grubunun böbrek TAS



düzeinin önemli oranda arttığı ( $p<0,01$ ) gözlemlendi. Benzer şekilde, diyabet kontrol grubu ile Cr grubu karşılaştırıldığında ise Cr grubunda böbrek TAS düzeyinin  $p<0,05$  oranında arttığı belirlendi.

**Tablo 11.** Böbrek TOS-TAS Düzeyleri, (n=10) ( $X\pm SD$ )

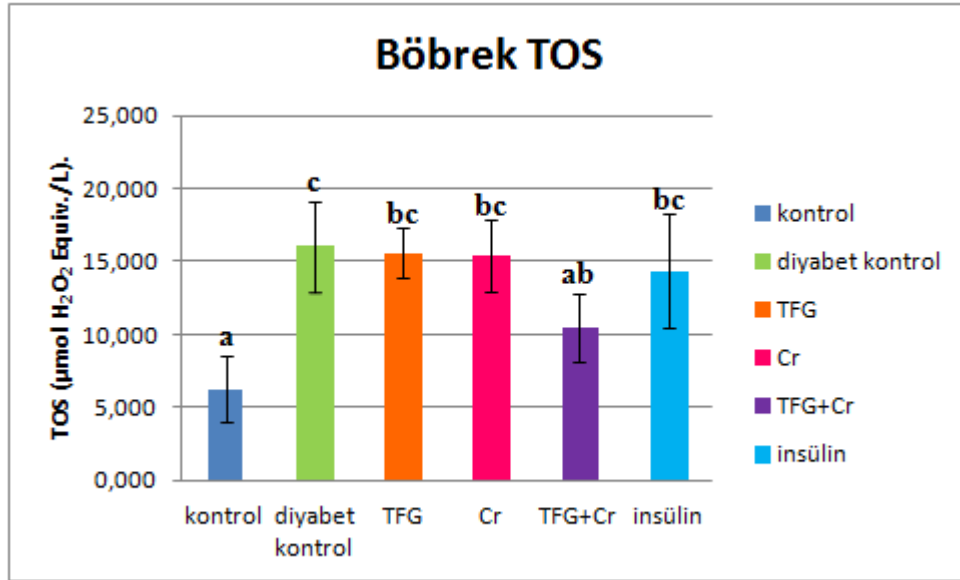
BÖBREK TOS-TAS	KONTROL	DİYABET KONTROL	TFG	Cr	TFG+Cr	iNSÜLİN
<b>TOS</b> ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L).	6,25 $\pm$ 2,29 <sup>a</sup>	16,04 $\pm$ 3,09 <sup>c</sup>	15,57 $\pm$ 1,70 <sup>bc</sup>	15,38 $\pm$ 2,47 <sup>bc</sup>	10,49 $\pm$ 2,37 <sup>ab</sup>	14,37 $\pm$ 3,93 <sup>bc</sup>
<b>TAS</b> (mmol Trolox Equiv./L).	0,98 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	1,03 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	1,14 $\pm$ 0,22 <sup>ab</sup>	1,30 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>	1,13 $\pm$ 0,13 <sup>ab</sup>	1,04 $\pm$ 0,14 <sup>ab</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

**TOS:** a-bc, a-c:  $p<0,001$

ab-c:  $p<0,05$

**TAS:** a-b:  $p<0,05$ , a-b:  $p<0,01$  (1.grup - 4.grup, 2.grup - 4.grup arasında)

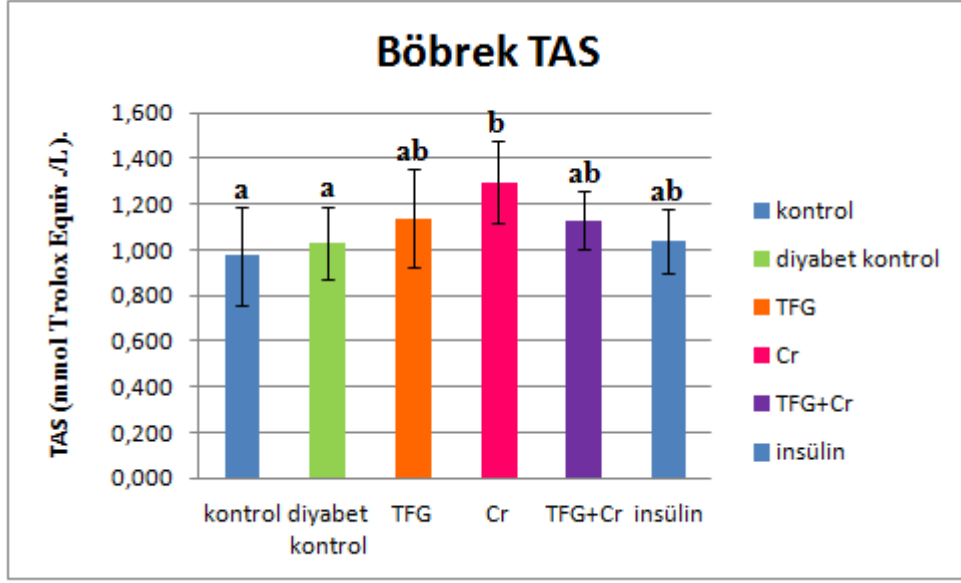


Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir

a-bc, a-c:  $p<0,001$

ab-c:  $p<0,05$

**Grafik 9.** Böbrek Total Oksidan Düzeyleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L.).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir

a-b:  $p < 0,05$ , a-b:  $p < 0,01$  (2.grup - 4.grup, 1.grup - 4.grup arasında)

**Grafik 10.** Böbrek Total Antioksidan Düzeyleri (mmol Trolox Equiv./L.).

### 5.8. Karaciğer Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan (TAS) Düzeyleri

Diyabet kontrol ve Cr grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karaciğer TOS düzeyinin (Tablo 12) önemli oranda arttığı ( $p < 0,01$ ) belirlendi. Ancak TFG, TFG+Cr ve insülin grupları hem kontrol hem de diyabet kontrol grupları ile kıyaslandığında istatistiksel olarak bir önemlilik ( $p > 0,05$ ) belirlenemedi. Karaciğer TAS düzeyleri (Tablo 12) bakımından kontrol grubu ile diyabetli gruplar karşılaştırıldığında ise en yüksek TAS değeri TFG+Cr verilen grupta tespit edilmesine rağmen aralarında istatistiksel olarak önemlilik saptanamadı ( $p > 0,05$ ).

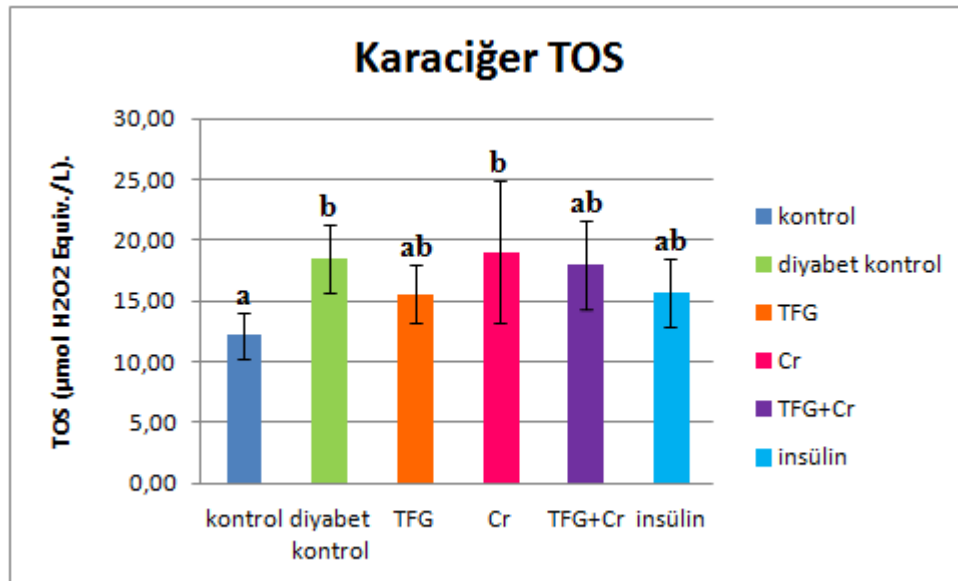
**Tablo 12.** Karaciğer TOS-TAS Düzeyleri, (n=10) (X±SD)

KARACIĞER TOS-TAS	KONTROL	DİYABET KONTROL	TFG	Cr	TFG+Cr	iNSÜLİN
<b>TOS</b> ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L).	12,19±1,86 <sup>a</sup>	18,46±2,78 <sup>b</sup>	15,58±2,44 <sup>ab</sup>	19,02±5,83 <sup>b</sup>	18,02±3,62 <sup>ab</sup>	15,66±2,82 <sup>ab</sup>
<b>TAS</b> (mmol Trolox Equiv./L).	1,25±0,04	1,11±0,08	1,19±0,19	1,25±0,17	1,26±0,18	1,11±0,08

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

**TOS:** a-b: p<0,05

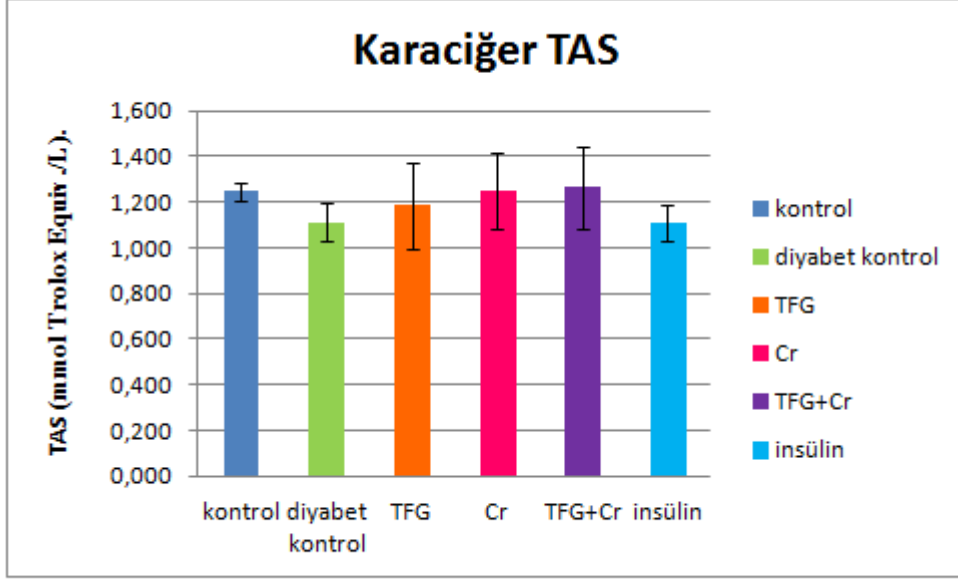
**TAS:** p>0,05



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir

a-b: p<0,05

**Grafik 11.** Karaciğer Total Oksidan Düzeyleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L.).



$p > 0,05$

**Grafik 12.** Karaciğer Total Antioksidan Düzeyleri (mmol Trolox Equiv./L).

### 5.9. Plazma ve Karaciğer TNF- $\alpha$ Düzeyleri

Kontrol grubu ile diyabet kontrol, TFG ve insülin gruplarının plazma TNF- $\alpha$  seviyeleri kıyaslandığında (Tablo 13) diyabetli gruplarda önemli oranda artış belirlenmesine rağmen ( $p < 0,05$ ), kontrol grubu, Cr ve TFG+Cr gruplarının plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak bir önemlilik ( $p > 0,05$ ) belirlenemedi.

Kontrol grubu ile diyabet kontrol grubunun karaciğer TNF- $\alpha$  seviyeleri kıyaslandığında (Tablo 13)  $p < 0,001$ ; TFG, Cr ve TFG+Cr verilen gruplar kıyaslandığında ise  $p < 0,01$  oranında artış tespit edildi. Ancak kontrol grubu ile insülin grubunun karaciğer TNF- $\alpha$  seviyeleri arasında istatistiksel bir önemlilik olmadığı ( $p > 0,05$ ) belirlendi. Keza, insülin grubu ile TFG, Cr ve TFG+Cr

gruplarının karaciğer TNF- $\alpha$  seviyeleri kıyaslandığında ise insülin grubunda  $p<0,05$  oranında bir azalma olduğu belirlendi.

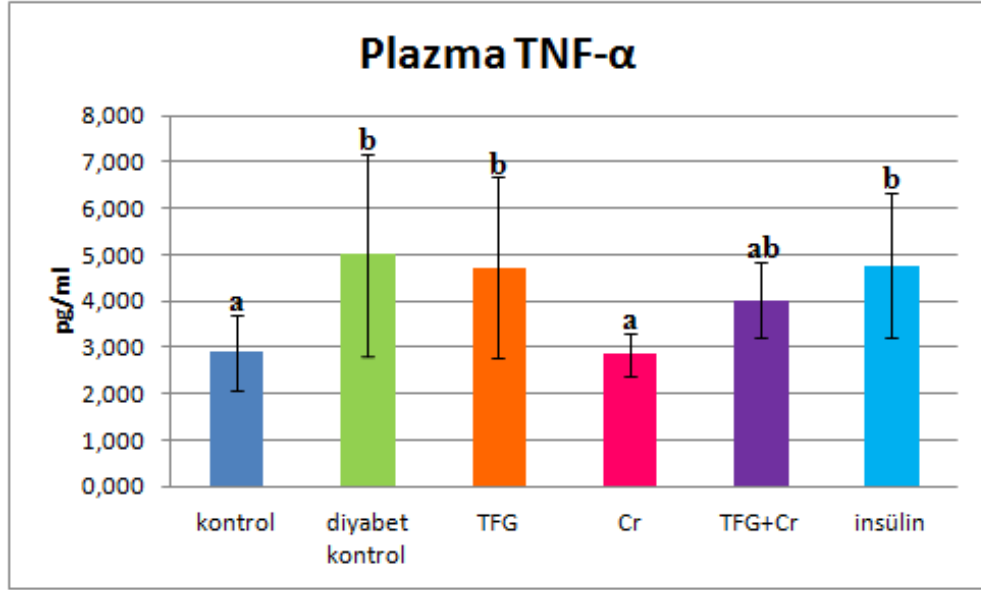
**Tablo 13.** Plazma ve Karaciğer TNF- $\alpha$  Düzeyleri, (n=10) (X $\pm$ SD)

TNF- $\alpha$	KONTROL	DİYABET		Cr	TFG+Cr	İNSÜLİN
		KONTROL	TFG			
<b>PLAZMA</b> (pg/ml)	2,904 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>	5,007 $\pm$ 2,17 <sup>b</sup>	4,731 $\pm$ 1,96 <sup>b</sup>	2,850 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	4,026 $\pm$ 0,82 <sup>ab</sup>	4,759 $\pm$ 156 <sup>b</sup>
<b>KARACİĞER</b> (pg/ml)	391,07 $\pm$ 58,19 <sup>a</sup>	529,48 $\pm$ 39,19 <sup>b</sup>	488,00 $\pm$ 41,22 <sup>b</sup>	502,19 $\pm$ 84,94 <sup>b</sup>	496,92 $\pm$ 57,12 <sup>b</sup>	403,72 $\pm$ 35,28 <sup>a</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

**Plazma TNF- $\alpha$ :** a-b:  $p<0,05$

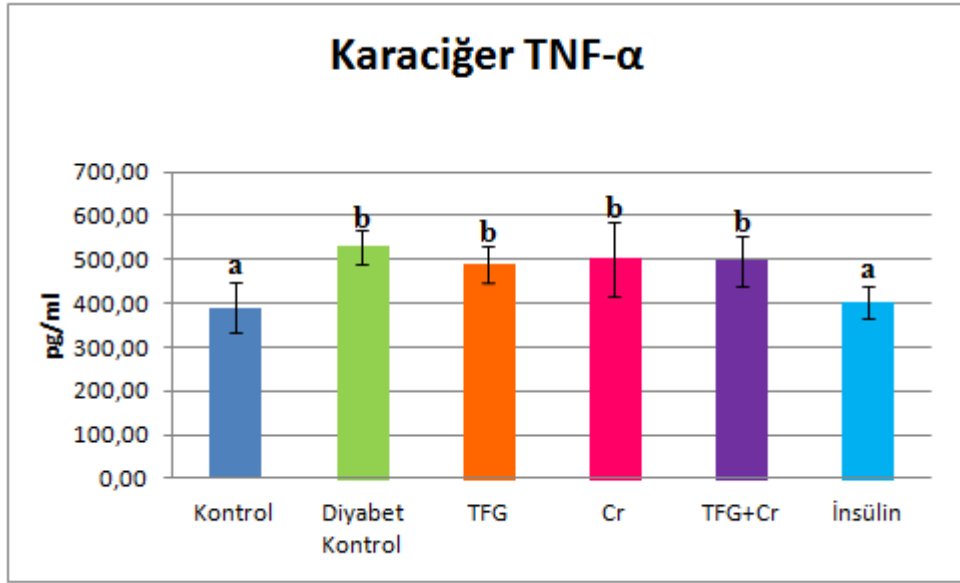
**Karaciğer TNF- $\alpha$ :** a-b:  $p<0,001$ ,  $p<0,01$  (1.grup - 2.grup, 1.grup - 3,4,5.gruplar arasında)



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir

a-b:  $p<0,05$

**Grafik 13.** Plazma TNF- $\alpha$  Düzeyleri (pg/ml)



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir

a-b:  $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$  (1.grup - 2.grup, 1.grup - 3,4,5.gruplar arasında)

**Grafik 14.** Karaciğer TNF- $\alpha$  Düzeyleri (pg/ml)

## 6. TARTIŞMA

Kronik metabolik hastalıkların başında gelen *Diyabetes Mellitus*; non-enzimatik glikozilasyon, sorbitol yol aktivitesi, heksozamin yolu aktivitesi, oksidatif glikozilasyon, protein kinaz C aktivitesi ve enerji metabolizmasındaki değişiklikler ile artmış bir oksidatif stres durumudur (43,44). Oksidatif stresin diyabette özellikle kronik komplikasyonların (nöropati, nefropati, retinopati) gelişmesinde önemli bir aracı olduğu bilinmektedir (182, 183, 184). Tip I *Diyabetes Mellitus*'un tedavisinde insülin enjeksiyonu ile kronik komplikasyonlar önlenmeye çalışılsa da, uzun süreli insülin enjeksiyonlarının başta lipoatrofi olmak üzere çeşitli komplikasyonların gelişmesine sebep olduğu bilinmektedir (181). Bu nedenle günümüzde diyabet tedavisi için yeni antidiyabetik bileşiklere kaynak olarak uzun yıllardan beri halk hekimliğinde kullanılan *Trigonella foenum-graecum* ( *Fenugreek* ), *Momordica charantia*, *Ganoderma lucidum*, *Mirabilis jalapa* L. vb. bitkilerin araştırılması yaygınlaşmıştır (84, 85, 92, 137). *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin tohum ve yapraklarının hipoglisemik, hipokolesterolemik, antioksidan, antiülser ve immunmodülatör etkileri olduğu belirtilmektedir. *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin biyokimyasal mekanizması tam olarak anlaşılacakla birlikte antihiperglisemik etkisini yapısında bulunan trigonellin alkaloidi (13, 86, 138, 139) ve ilk olarak Fowden tarafından izole edilen 4-hidroksi izolosin amino asidi ile (83, 87, 140). antioksidan özelliğini ise yapısında bulunan polifenolik flavonoidler ile gerçekleştirdiği düşünülmektedir (88, 141). Xue ve ark. (87) STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanlara 6 hafta boyunca 440 mg/kg, 870 mg/kg, 1740 mg/kg dozlarda *Trigonella foenum-graecum* tohumunun su bazlı ekstraktını vermiş ve bu

süre sonunda diyabet kontrol grubu ile diğer deneme gruplarını kıyasladıklarında açlık glikoz değerleri ile glikozile hemoglobin seviyelerinde önemli oranda azalış tespit etmişlerdir. Bununla birlikte yukarıda bahsedilen parametrelerdeki bu düşüşün doz artışı ile uyumlu olduğu da ifade edilmiştir.

İnsülin hücre membranında GLUT4 translokasyonunu uyararak (145) kas ve yağ dokusunda glikoz alımını arttırmaktadır. Bu nedenle insülin eksikliğine bağlı oluşan Tip I diyabette GLUT4 translokasyonu ve restorasyonu hipoglisemik etki için oldukça önemlidir (142, 146). Vijayakumar ve ark (143) tarafından yapılan bir çalışmada *Trigonella foenum-graecum* tohum ekstraktının, doza bağımlı olarak hücre yüzeyinde GLUT4 translokasyonuna yol açarak hücre içine glikoz alımını hızlandırdığı, aynı zamanda ekstraktın insülin bağımsız hareket edebilecek faktörler içerdiği özellikle de karaciğer ve adipositlerde insülin reseptörü ve alt sinyal moleküllerini aktive etme yeteneğine sahip olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca Puri ve ark. (144). STZ ile diyabet oluşturulan tavşanlara *Trigonella foenum-graecum* uygulamış ve insülin seviyesinde önemli oranda artışlar gözlemlemişlerdir. Eidi ve arkadaşları da (88) STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara 14 gün boyunca 100 mg/kg, 250 mg/kg, 500 mg/kg dozunda *Trigonella foenum-graecum* tohumlarının etanol ekstraktlarını oral olarak uygulamış, 250 mg/kg - 500 mg/kg doz grupları ile glibenclamide verilen grubun kan glikoz seviyelerinin diyabet kontrol grubuna kıyasla önemli oranda azaldığını, insülin seviyesinin ise arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca Zia ve ark. (147) normoglisemik farelere *Trigonella foenum-graecum* tohumunun hem distile suda hem de metanolde hazırlanan ekstraktlarını 0,5 ve 1 g/kg dozunda uygulamış ve çalışmanın sonunda distile su ekstraktının her iki dozunun, metanolde



hazırlanan ekstraktın ise sadece 1 g/kg dozunun kan glikoz seviyesini düşürdüğünü ve hipoglisemik etki oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Esansiyel minarellerden olan üç değerlikli kromun asetat, aspartat, şelat, klorür, triklorür ve sitrat gibi formları bulunmaktadır. Ancak kromun altı değerliliğinin bütün formları yükseltgen bir ajan olup, toksik ve karsinojenik özelliklerinden dolayı kullanılmamaktadır (14). Stres durumunda insülin antagonisti olarak bilinen kortizol hormonunun salınımında artış olmakla birlikte, eş zamanlı olarak glikoz metabolizmasında da artış meydana gelmektedir. Bunun sonucunda da kan glikoz değerlerinde yükselme ve vücut depolarından kromun mobilizasyonunda artış, mobilize olan kromun ise geri dönüşümsüz olarak idrarla kaybı meydana gelmektedir (119, 120). Bunun yanısıra son zamanlarda yapılan çalışmalar ise kromun hem antioksidan özelliği (148, 149, 150, 151, 152) hem de antihiperglisemik etkisinden dolayı diyabete bağlı oluşabilecek komplikasyonları önleme üzerinde yoğunlaşmıştır (107, 108, 109). Büyükleblebici ve ark. (107) STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanlara oral yolla 80 µg/kg dozunda krom pikolinat uygulamış ve 5 hafta sonunda diyabet kontrol grubuna kıyasla krom grubunun HbA<sub>1c</sub> düzeylerinde önemli oranda düşüş, insülin seviyesinde ise önemli artış belirlemişlerdir. Tip I diyabetli insanlarla yapılan çalışmalarda da krom takviyelerinin kan glikoz seviyelerini düşürmede olumlu sonuç verdiği belirtilmiştir (153, 154, 155). Tip I diyabetli 48 ve Tip II diyabetli 114 hastaya 10 gün boyunca 200 µg dozunda krom pikolinat verilmiş ve çalışmanın sonunda hastalara tedavi amacıyla verilen insülinin % 30 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Sonuçta krom takviyesinin Tip I diyabetlilerde %71, Tip II diyabetlilerde ise %74 oranında olumlu sonuç verdiği ifade edilmiştir (115).

Benzer şekilde, Tip I diyabetli hastalarda yapılan başka bir çalışmada da 3 ay boyunca günde 3 kez verilen 200 µg dozunda krom pikolinatın, glikolize hemoglobin seviyelerini % 11.3'den % 7.9'a düşürdüğü belirtilmiştir (156). Lai (128) tarafından yapılan bir çalışmada da Tip II diyabetli hastalar da krom ve krom+C+E vitamini uygulamalarının açlık kan glikoz değerleri, HbA<sub>1c</sub> düzeyleri ile insülin direnç indekslerinde önemli oranda düşüşe neden olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde, biz de çalışmamızın özellikle 14. ve 21. günlerinde gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde (Tablo 5) TFG, Cr, TFG+Cr ve insülin gruplarının açlık kan glikoz değerlerinin diyabet kontrol grubuna göre önemli oranda azaldığını; HbA<sub>1c</sub> düzeylerinin ise (Tablo 8) diyabet kontrol grubuna kıyasla madde verilen diyabetli gruplar da istatistiksel olarak önemli olmayan bir düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Ancak grup içinde özellikle 3. ve 21. günlerin açlık kan glikoz değerleri karşılaştırıldığında (Tablo 6) diyabet kontrol ve Cr gruplarında önemli oranda artış, TFG, Cr ve insülin gruplarında ise azalış olmasına rağmen istatistiksel önemlilik tespit edilemedi. Bu sonuçlar neticesinde çalışmamızda da tespit edilen zamana bağlı olarak açlık kan glikoz düzeylerinde meydana gelen artışların; *Trigonella foenum-graecum*'un yapısında bulunan barsaklardan glikoz alımını inhibe eden saponin bileşenlerle (diösgenin, alkaloidler ve trigonellinin) (185) ve ilk olarak *Trigonella foenum-graecum* tohumlarından saflaştırılan, beta hücrelerinden insülin salgılanmasını uyaran 4-hidroksi izolösin amino asidi ile (13) kontrol altına alındığı düşünülmektedir. Kromun etki mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, diyabet kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman açlık kan glikoz düzeylerinde zamana bağlı olarak

meydana gelen artışların engellendiği ancak *Trigonella foenum-graecum*'un antihiperglisemik etkinliğinin daha fazla olduğunu söylemek mümkündür.

Oksidatif stresin diyabette kronik komplikasyonların gelişmesinde oldukça önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Bu bilgidan yola çıkarak eksojen olarak verilen antioksidanların bu komplikasyonların hafifletilmesinde ve / veya ortaya çıkmasının engellenmesinde yararlı olabileceği fikri ileri sürülmüştür. Diyabette böbreklerde oluşan hiperfiltrasyon, hiperperfüzyon, glikolize hemoglobin miktarındaki ve glomerulus bazal membranındaki ileri glikozilasyon ürünlerinde meydana gelen artışların nefropati oluşturduğu belirtilmektedir (163). Shetty ve ark. (161) tarafından yapılan çalışmada STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara, *Trigonella foenum-graecum* uygulamasının diyabet esnasında artan glutamin fruktoz-6 fosfat aminotransferaz'ı (GFAT) kontrol altına aldığı ve bu şekilde heksozamin yolundaki aktiviteye bağlı olarak gelişen glomerular hasarı engellemede önemli bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir. Bununla birlikte yapılan bir başka çalışmada da alloxan ile diyabet oluşturulmuş sıçanların karaciğer ve böbrek homojenizatlarında glutatyon peroksidaz, superoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitelerinde diyabet kontrol grubunda önemli bir azalma tespit edilmiş. *Trigonella foenum-graecum* ve vanadata'nın ayrı ayrı ve birlikte uygulandığı gruplarda ise kontrol grubuna oldukça yakın değerler elde edildiği bildirilmiştir (86). Yine Xue ve ark. (162) tarafından yapılan bir çalışmada, diyabet kontrol grubunun hem serum hem de renal korteksinde katalaz ve superoksit dismutaz seviyelerinde azalış, malondialdehit seviyesinde ise artış gözlenmiştir. Bununla birlikte orta ve yüksek dozda uygulanan *Trigonella foenum-graecum*'un malondialdehit seviyesinde azalışa, katalaz ve superoksit

dismutaz seviyesinde ise önemli oranda artışa sebep olduğu belirtilmiştir. Anuradha ve ark. (164) diyete %2 oranda katılan *Trigonella foenum-graecum* tohum tozunun alloksan ile diyabet oluşturulan sıçanlarda lipit peroksidasyon ürünü olan Thiobarbitürik Asit Reaktif Substans (TBARS) değerlerinin kontrol grubuna kıyasla önemli oranda arttığı; karaciğer, böbrek ve pankreas dokusunda hidrojen peroksit ve askorbat tarafından desteklenen peroksidasyon reaksiyonlarının etkilerini ise azalttığı ileri sürülmüştür.

STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara krom pikolinat ile krom niacinate verilmiş ve sonuçta diyabetik sıçanlarda TNF- $\alpha$ , IL-1 seviyelerinde ve lipit peroksiyon düzeylerinde krom pikolinat ve krom niacinate uygulamasının düşüşe neden olduğu bildirilmiştir (116). Diyabette artan protein glikozilasyonunun oksidatif stresi arttırdığı (166), krom takviyelerinin protein glikozilasyonunu (106, 165) ve lipit peroksidasyonunu engelleyerek antioksidan özellik gösterdiği belirtilmektedir (106). Yapılan in vitro çalışmalarda yüksek glikoz ve standart oksitleyici olarak kabul edilen hidrojen peroksite maruz bırakılan monosit kültürlerinde lipit peroksidasyonunun önemli oranda arttığı, artan lipit peroksidasyonunun ise krom takviyeleri (krom klorür ve krom niacinate) ile engellenebildiği belirtilmiştir (167, 168). Bunun yanısıra Lai (128) tip 2 diyabet hastalarına krom ve krom+C+E vitamini uygulamış ve sonuçta plazma TBARS seviyelerinde önemli oranda azalış, plazma TAS seviyelerinde ise önemli artış tespit etmiştir. Biz de çalışmamızda diyabetli grupların plazma ve eritrosit TOS seviyelerinin (Tablo 9 - 10) TFG, Cr, TFG+Cr ve insülin gruplarında diyabet kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan azalış belirledik. TFG, Cr ve TFG+Cr verilen grupların plazma TAS seviyelerinde (Tablo 9) istatistiksel

açından önemli olmayan artış, insülin grubunda ise istatistiksel olarak önemli bir artış gözlemledik. Ayrıca Cr, TFG+Cr ve insülin gruplarının eritrosit TAS düzeylerinde (Tablo 10) diyabet kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan artış gözlemledik. Bununla birlikte TFG, Cr ve insülin gruplarının böbrek TOS düzeylerinde diyabet kontrol grubuna kıyasla önemsiz bir azalış, TFG+Cr grubunun ise böbrek TOS düzeylerinde önemli bir azalış gözlemledik. İlâveten Cr grubunun böbrek TAS seviyelerinde önemli artış belirledik (Tablo 11). TFG, TFG+Cr ve insülin gruplarının karaciğer TOS düzeyleri diyabet kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalış, TFG, Cr ve TFG+Cr gruplarının karaciğer TAS düzeylerinde ise önemsiz bir artış belirledik (Tablo 12). *Trigonella foenum-graecum* tohumlarında bulunan polifenollerin (141); metal şelasyonu yaparak redoks reaksiyonlarını önlenmesi ve ksantin oksidaz, NADPH oksidaz enzimlerinin inhibisyonu (186) ile serbest radikallerin oluşumunu engelleyip antioksidan etki gösterdiği belirtilmektedir (187). Kromun antioksidan mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen; İnsülin düzensizliklerinin, lipit peroksidasyonunda artışlara sebep olduğu, ancak Tip 1 diyabette oluşan insülin düzensizliklerinin azaltılmasında (107) dışarıdan verilen kromun yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (158). Yapılan bu tez çalışmasında elde edilen verilere göre de oksidatif stresin azaltıp antioksidan sistemin güçlendirilmesinde uygulanan eksojen takviyelerin (TFG, Cr) yararlı olabileceği kanaatine varıldı.

İnflamatuar sitokinlerden biri olan TNF- $\alpha$ , otoimmün Tip I diyabetin patogenezisinde önemli bir role sahip olmakla birlikte (173) in vitro çalışmalarda izole edilen langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinin hasarından sorumlu

olduğu da belirtilmiştir (174). Yapılan çalışmalarda uzun süre hiperglisemik sıçan ve farelerde (169), yüksek glikoza maruz bırakılan monosit kültürlerinde (167) ve STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda TNF- $\alpha$  üretiminin önemli oranda arttığı gözlemlenmiştir (170). TNF- $\alpha$  uygulanan adipositlerde insüline bağlı glikoz taşınmasında ve GLUT4 translokasyonunda azalma meydana geldiği bilinmekle birlikte (171), Tip I diyabette GLUT4 translokasyonu ve restorasyonunun hipoglisemik etki için oldukça önemli olduğu da ileri sürülmüştür (142). Yang ve ark. (172) toksik olmayan dozda ip olarak verilen TNF- $\alpha$ 'nın diyabet insidansında artışa, obez olmayan farelere uygulanan anti TNF- $\alpha$ 'nın ise diyabeti önlediği belirtilmiştir. Ayrıca düşük konsantrasyonlardaki TNF- $\alpha$ 'nın insülin ile uyarılan reseptör tirozin kinaz aktivitesini, insülin reseptör substrat 1 (IRS 1) ve GLUT4 translokasyonunu azalttığı, yüksek konsantrasyonlarının ise IRS'nin serin 307 kısmında fosforilasyonu arttırarak insülinin reseptöre bağlanmasında ve sinyal yolunda bozulmaya yol açabileceği ne sürülmüştür (176). Yüksek glikoza maruz kalan monosit kültürleri ile standart oksitleyici hidrojen peroksite maruz bırakılan hücrelerde, krom takviyesinin TNF- $\alpha$  sekresyonu üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğu; bu etkisinin ise kromun oksidatif stres üzerindeki önleyici etkisi ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (167). Tip I diyabette kronik hiperglisemiyi takiben yetersiz insülin uygulaması yapıldığında insülin direnci gelişebileceği (178), artan TNF- $\alpha$  ve hipergliseminin insülin sinyal yolunu bozarak insülin direnci gelişmesine sebep olabileceği belirtilmektedir (179). Tip I diyabetli hastalarda plazma TNF- $\alpha$  seviyelerinin sağlıklı bireylere oranla önemli oranda yüksek olduğu; bunun yanı sıra HbA<sub>1c</sub> seviyeleri ile plazma TNF- $\alpha$  seviyeleri arasında da pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (177). Yapılan bir başka

çalışmada ise *Trigonella foenum-graecum*'un obez sıçanlarda plazma, karaciğer TNF- $\alpha$  seviyeleri ile karaciğer TNF- $\alpha$  reseptör ekspirasyonunu azalttığı ifade edilmiştir (175). STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara oral olarak verilen krom pikolinat ve krom niacinatenin çalışmanın sonunda diyabetik sıçanlarda artan TNF- $\alpha$  düzeyini azalttığı belirtilmiştir (116). Bizim çalışmamızda ise hem plazma hem de karaciğer TNF- $\alpha$  düzeylerinin (Tablo 13) diyabet kontrol grubunda kontrol grubuna kıyasla arttığı; diyabetli grupların plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri kendi aralarında kıyaslandığında en yüksek değerini diyabet kontrol grubunda olduğu; Cr ve TFG+Cr gruplarında kontrol grubuna yakın değerler elde edildiği, TFG ve insülin gruplarının plazma TNF- $\alpha$  seviyelerinin diyabet kontrol grubuna göre önemsiz düzeyde azaldığı saptanmıştır. Karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinin ise en yüksek diyabet kontrol grubunda olduğu, TFG, Cr ve TFG+Cr gruplarının karaciğer TNF- $\alpha$  düzeylerinde istatistiksel olarak önemsiz bir azalma belirlemekle birlikte, insülin grubunda ise kontrol grubuna oldukça yakın değerler saptadık. Sonuç olarak inflamatuvar hastalıkların çoğunda önemli bir medyatör olan TNF- $\alpha$ 'nın Tip I diyabetin takibinde önemli bir parametre olduğu düşünülmekte olup özellikle krom takviyelerinin *Trigonella foenum-graecum*'a göre TNF- $\alpha$  düzeylerini azaltmada daha etkili olduğu söylenebilir.

Tip I diyabetin enerji metabolizmasındaki değişikliklerden dolayı kilo kaybına neden olduğu, bunun nedeni olarak da insülin eksikliğine bağlı olarak perifer dokularda meydana gelen glikoz alımındaki azalmanın ve hormona duyarlı lipaz enziminin aktive olması sonucu yağ dokusunda meydana gelen trigliseritlerin parçalanmasındaki (180) artışın etkili olduğu ileri sürülmüştür. Genet ve ark ile Mohamad ve ark. (86, 100) alloksan ile diyabet oluşturdukları

sıçanlarda vücut ağırlıklarının önemli oranda azaldığı, TFG ve insülin verilen diyabetik sıçanlarda ise diyabet kontrol grubuna göre vücut ağırlıklarında artış olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte Tip I diyabetli hastalar da TFG'nin vücut ağırlıklarında önemli bir değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir (96). Yapılan çalışmalar bu tez çalışmasındaki sonuçlarımızı destekler nitelikte olup, 0. ve 21. günlerdeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında (Tablo 7) diyabet kontrol, TFG ve Cr gruplarında vücut ağırlıklarının önemli oranda azaldığı, TFG+Cr ve insülin verilen gruplarda ise değişiklik olmadığı tespit edildi.

Sonuç olarak; Tip I diyabette artan hiperglisemi, oksidatif stres ve TNF- $\alpha$ 'nın etkilerinin hafifletilmesinde ve açlık kan glikoz değerlerinde zamana bağlı olarak meydana gelen artışların kontrol altında tutulmasında, eksojen olarak kullanılan *Trigonella foenum-graecum* ve krom takviyelerinin faydalı olduğu ancak insülinle birlikte verilmelerinin daha etkili olacağı kanaatine varıldı.



## 7. KAYNAKLAR

1. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H (Çeviren). 10. Baskı, İstanbul: Tavaslı Matbaacılık, 2001.
2. Ward WK, Beard JC, Porte D. Pathophysiology of insülin secretion in non-insulin-dependent diyabetes mellitus. *Diyabetes Care* 1984; 7: 491-502.
3. Yenigün M, Altuntaş Y. Her Yönüyle Diyabetes Mellitus. Nobel Tıp Kitapevleri.2001, 1024.
4. Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen H. Williams Textbook of Endocrinology 9th edition WB. Saunders Company 1998; 33.
5. Corbett JA. K cells: a novel target for insülin gene therapy for the prevention of diyabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2001; 12(4):140-142.
6. Javitt JC, Chiang YP. Economic impact of diyabetes. In: *Diyabetes in America*. Ed. National Diyabetes Data Group, National Institutes of Health, National No. 95-1468, 2nd Ed., Bethesda, MD.1995; 601-611.
7. Chao SH. Four- Year Results of Transplantation in Taiwan. *Transplantation Proceedings* 2000; 32, 2467-2468.
8. Petit P, Sauvaire Y, Ponsin G et al. Effects of fenugreek seed extract on feeding behavior in the rat: metabolic/endocrine correlates. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 45: 369-74.
9. Morton JF. Mucilaginous plants and their uses in medicine. *J Ethnopharmacol* 1990; 29: 215-266.
10. Shankaracharya NB, Anandaraman S, Natarajan CP. Chemical composition of raw and roasted fenugreek. *J. Food Sci. Technol* 1973; 10, 179-181.
11. Abdel-Barry JA, Abdel-Hassan IA, Al-Hakim MH. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diyabetic rats. *J. Ethnopharmacol* 1997; 58, 149-155.
12. Srinivasan K, Sambaiah K, Chandrasekhara N. Spices as beneficial hypolipidemic food adjuncts: A Review. *Food Rev Int* 2004, 20, 187-220.
13. Sauvaire Y, Petit P, Broca C, et al. 4-Hydroxyisoleucine:a novel amino acid potentiator of insulin secretion. *Diyabetes* 1998; 47,206-10.
14. John BV. The Biochemistry of Chromium. *J Nutr* 2000; 130:715-718.
15. Güneral F: Eser elementler. *Katkı Dergisi* 1985; 6 (3): 249-250.
16. Jain SK, Kannan K. Chromium chloride inhibits oxidative stress and TNF- $\alpha$  secretion caused by exposure to high glucose in cultured monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2001; 289:687-691.
17. Yılmaz B. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. 1. Baskı Ankara: Feryal Matbaacılık, 1999.
18. Luft R. Oscar Minkowski: discovery of the pancreatic origin of diyabetes, 1889. *Diyabetologia* 1989; 32(7):399-401.
19. Hatemi H: Diyabetes Mellitusun tarihçesi. *Aktüel Tıp Dergisi* 1996;7: 497-499.

20. Mancherster KL. Before insulin. *Trends Endocrinol Metab* 1997; 8: 295-298.
21. King H, Aubert RF, Heran WH. Global burden of diyabetes; 1995-2025. *Diyabetes Care* 21: 1414 – 1431.
22. Fiallo-Scharer R, Eisenbarth GS. Patophysiology of İnsulin- Dependent Diyabetes. In: Pescovitz O.H., Eugster E.A (eds). *Pediatric Endocrinology*. 1. edition. Philadelphia (USA): Lippincott Williams and Wilkins; 2004: 411-426.
23. Sperling MA. Diyabetes Mellitus in children. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 16th Ed, Philadelphia: WB Saunders Company, 2000: 1767-1787.
24. Alemzadeh R, Wyatt DT. Diyabetes Mellitus. In: Behrman R.E, Kliegman R.M, Jenson H.B (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17 edition. Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2004: 1947-1972.
25. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-237.
26. Munoz-Fernandez MA, Fernandez MA, Fresno M. Synergism between tumor necrosis factor-alpha and interferon- gamma on macrofage activation for the killing of intracellular *Trypanosoma cruzi* through a nitric oxide-dependent mechanism. *Eur J Immunol* 1992; 22: 301-307.
27. Morales AE, She JX, Schatz DA. Genetics of Type 1 Diyabetes. In: Pescovitz O.H, Eugster E.A (eds). *Pediatric Endocrinology*. 1.edition. Philadelphia (USA): Lippincott Williams and Wilkins; 2004: 403-410.
28. Makita Z, Wassara H, Rayfield E. Hemoglobin AGE: a circulation marker of advanced glycosylation. *Science* 1992; 258:651-653.
29. Saka HN. Diyabetes Mellitus. In: Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S (eds). *Pediatric Endokrinoloji*. 1. Baskı. *Pediatric Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları*, Ankara: Kalkan Matbaacılık; 2003: 415-455.
30. Szopa TM, Titchener PA, Partwood ND, Taylor KW. Diyabetes mellitus dueto viruses some recent development of insulitis and diyabetes in NOD mice. *Diyabetes* 1988; 37: 1722-1726.
31. Sekikawa A, LaPorte RE. Epidemiology of insulin dependent diyabetes mellitus. 'KGMM Alberti, P Zimmet, RA DeFronzo, H Keen, *International Textbook of Diyabetes Mellitus* ,2nd Ed, Volume 1, New York ,John Wiley Sons Ltd, 1997: 89-96.
32. American Diyabetes Association (A.D.A.). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diyabetes mellitus. *Diyabetes Care* 23 Suppl. 2000; 1: 4-19.
33. Green A, Patterson CC. Trends in the incidence of childhood-onset diyabetes in Europe 1989-1998. *Diyabetologia* 2001; 44: B3-B8.

34. Beck-Nielsen H, Henriksen JE, Vaag A, Hother-Nielsen O. Pathophysiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Diabetes Res Clin Pract* 28Suppl 1995; 1: 13-25.
35. Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S, et al. Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest* 1989; 84: 205–213.
36. Polonsky KS, Sturis J and Bell GI, Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Non-insulin-dependent diabetes mellitus a genetically programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance. *N Engl J Med* 1996; 334: 777–783.
37. Berköz M, Yalın S. “Yağ Dokusunun immünolojik ve inflamatuvar Fonksiyonları”, *Mersin Üniv Sağlık Bilim Dergisi* 2008; 1: 1-9.
38. Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, et al. Leptin: The tale of an obesity gene, *Diabetes* 1996; 45: 1455-1462.
39. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257: 79-83.
40. Warne JP. Tumour necrosis factor alpha: a key regulator of adipose tissue mass. *J Endocrinol* 2003;177(3):351-355.
41. Baykan A, Cansever M, Konuskan B, et al. Hypertrophic cardiomyopathy with leprechaunism. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2008; 21: 317-8.
42. Longo N, Singh R, Griffin LD, et al. Impaired growth in Rabson-Mendenhall syndrome: lack of effect of growth hormone and insulin-like growth factor I. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 799–805.
43. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48(1): 1-9.
44. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 612–628.
45. Bunn HF. Nonenzymatic glycosylation of proteins; relevance to diabetes. *Am J Med* 1981; 70: 325-30.
46. Wood PA, Smith JE, Glycosylated hemoglobin and canine diabetes mellitus. *JAWMA* 1980; 176: 1267-1268.
47. Taşçene N, Karagül H. Diyabetli köpeklerde kan HbA1c düzeyleri, *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2008; 55: 75-78.
48. Brownlee M, Vlassara H, and Cerami A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann. Int. Med* 1984; 101: 527-537.
49. Gabbay KH. The sorbitol pathway and complications of diabetes, *The New England Journal of Medicine* vol 288, 1973; 16: 831-836.
50. Jeffery J and Jörnvall H. Enzyme relationships in a sorbitol pathway that bypasses glycolysis and pentose phosphates in glucose metabolism, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1983; 80: 901-905.

51. Heidland A, Sebekova K, Schinzel R. Advanced glycation and products and the progressive course of renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 38 (1):100-106.
52. Gabby KH. Hyperglycemia polyol metabolism and complications of diabetes mellitus, *Annu Rev Med* 1975; 26/5: 21-36.
53. Sima AF, Bril X, Nathaniel V, et al. Regeneration and repair of myelinated fibers in sural nerve biopsy specimens from patients with diabetic neuropathy treated with sorbital. *N Eng J Med* 1988; 319: 548-555.
54. Kato N, Mizuno K, Makino M, et al. Effects of 15- month aldose reductase inhibition with fidarestat on the experimental diabetic neuropathy in rats. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 50: 77-85.
55. Lal S, Szwegold BS, Kappler F, Brown TR. *J Biol Chem.* 1993; 268: 7763-7767.
56. Petersen A, Kappler F, Szwegold BS, Brown TR. *Biochem J* 1992; 284: 363-366.
57. MacGregor LC and Matschinsky FM. Experimental diabetes mellitus impairs the function of the retinal pigmented epithelium. *Metabolism* 1986; 35 (1): 28-34.
58. Hotta N, Kakuta H, Koh N, et al. In vitro retinal and erythrocyte polyol pathway regulation by hormones and an aldose reductase inhibitor. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1991; 14: 29-36.
59. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414(6865): 813–820.
60. Konrad RJ, Kudlow JE. The role of O-linked protein glycosylation in  $\beta$ -cell dysfunction. *Int J Mol Med* 2002; 10: 535-9.
61. Kaneto H, Xu G, Song KH, et al. Activation of the hexosamine pathway leads to deterioration of pancreatic beta-cell function through the induction of oxidative stress. *J Biol Chem* 2001; 276(33): 31099–31104.
62. Karadeniz Ş. Diyabetik retinopati epidemiyolojisi ve patogenezi. *İn Tıbbi Retina.* Editörler Tamçelik N, Doğan ÖK, Kural G. *Türk Oftalmoloji Derneği Yayınları* 2009; 10: 151-6.
63. Viberti GC. Early functional and morphological changes in diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1979; 12: 47-53.
64. Ruan X, Arendshorst WJ. Role of protein kinase C in angiotensin II-induced renal vasoconstriction in genetically hypertensive rats. *Am J Physiol* 1996; 270:F945-F952.
65. Vavra JJ, Deboer C, Dietz A, et al. "Streptozotocin, a new antibacterial antibiotic". *Antibiot Annu* 1959; 7: 230–5.
66. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV, Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep* 1963; 29:91-8.
67. Katsumata K, Katsumata KJr, Katsumata Y. Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan- or streptozotocin-induced diabetes in rats. *Horm Metab Res* 1992; 24: 508-510.

68. West E, Simon OR, Morrison EY. Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. *West Indian Med J* 1996; 45: 60-62.
69. Weiss RB. Streptozotocin: a review of its pharmacology, efficacy, and toxicity. *Cancer Treat Rep* 1982; 66: 427-438.
70. Preston AM. Modification of streptozotocin-induced diabetes by protective agents. *Nutr Res* 1985; 5: 435-446.
71. Ledoux SP, Wilson GL. Effects of streptozotocin on a clonal isolate of rat insulinoma cells. *Biochim Biophys Acta* 1984; 804:387-392.
72. Delaney CA, Dunger A, Di Matteo M, et al. Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or O6-alkylating ability. *Biochem Pharmacol* 1995; 50: 2015-2020.
73. Turk J, Corbett JA, Ramanadham S, et al. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 197:1458-64.
74. Heller B, Burkle A, Radons J, et al. Analysis of oxygen radical toxicity in pancreatic islets at the single cell level. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1994; 375: 597-602.
75. Okamoto H, Takasawa S, Tohgo A. New aspects of the physiological significance of NAD, poly ADP-ribose and cyclic ADP-ribose. *Biochimie* 1995; 77: 356-63.
76. Nukatsuka M, Yoshimura Y, Nishida M, Kawada J: Importance of the concentration of ATP in rat pancreatic beta cells in the mechanism of streptozotocin-induced cytotoxicity. *J Endocrinol* 1990; 127: 161-165.
77. Nukatsuka M, Sakura H, Yoshimura Y, et al: Enhancement by streptozotocin of O<sub>2</sub>-radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic beta-cells. *FEBS Lett* 1988; 239: 295-298.
78. Ball LE, Berkaw MN, and Buse MG. Comparison of methods for the detection of O-GlcNAc modified proteins (Abstract no. 2602). *Proc 53rd Conf Mass Spectrometry and Allied Topics*. San Antonio, TX, 2005.
79. Okamoto H. New aspects to the functioning and regeneration of pancreatic  $\beta$ -cells. Cyclic ADP-ribose and Reg gene. In: *Physiology and pathophysiology of the islets of Langerhans*. Soria B, ed. Plenum Press, New York, 1996, in press.
80. Arslan N, Tekeli S ve Gençtan T. Değişik yörelere ait çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) populasyonlarının tohum verimleri. VIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı Cilt. II: 93-97, İstanbul 1989.
81. Fazli FRY, Hardman R. The spice, fenugreek (*Trigonella Foenum graecum* L.): its commercial varieties of seed as a source of diosgenin. *Trop Sci* 1968; 10: 66-78.

82. Ribes G, Sauvaire Y, Da Costa C, et al. Antidiabetic effects of subfractions from fenugreek seeds in diabetic dogs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1986; 182 (2): 159-166.
83. Alarcon-Aguilara FJ, Roman-Ramos R, Perez-Gutierrez S, et al. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 1998; 61 (2): 101-110.
84. State Administration of Traditional Chinese Medicine "Chinese Materia Medica" Editorial Board. *Chinese Materia Medica (II)*. Shanghai Science and Technology Press, Shanghai, 1999; 748-749.
85. Srinivasan K. Plant foods in the management of diabetes mellitus: Spices as potential antidiabetic agents. *Int. J. Food Sci. Nutr* 2005; 56: 399-414.
86. Mohamad S, Taha A, Bamezai RNK, et al. Lower doses of vanadate in combination with trigonella restore altered carbohydrate metabolism and antioxidant status in alloxan-diabetic rats. *Clin Chim Acta* 2004; 342:105-114.
87. Xue WL, Li XS, Zhang J, et al. Effect of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) extract on blood glucose, blood lipid and hemorheological properties in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007;16 (1):422-426.
88. Eidi A, Eidi M, Sokhteh M. Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) seeds on serum parameters in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research* 2007; 27: 728-733.
89. Haeri MR, Limaki HK, White CJB, White KN. Non-insulin dependent anti-diabetic activity of (2S, 3R, 4S) 4-hydroxyisoleucine of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) in streptozotocin-induced type I diabetic rats. *Phytomedicine* 2012; 19: 571- 574.
90. Broca C, Manteghetti M, Gross R. et al. 4-Hydroxyisoleucine: effects of synthetic and natural analogues on insulin secretion. *European Journal of Pharmacology* 2000; 390: 339-345.
91. Al-Meshal IA, Parmar NS, Tariq M. And Aqeel AM. Gastric anti-ulcer activity in rats of *Trigonella foenum graecum* Hu-Lu-Pal. *Fitoterapia* 1985; 56: 232-235.
92. Ajabnoor MA and Tilmisany AK. Effect Of *Trigonella Foenum Graceum* On Blood Glucose Levels In Normal And Alloxan-Diabetic Mice. *Journal of Ethnopharmacology* 1988; 22: 45-49.
93. Valette G, Sauvaire Y, Baccou JC and Ribes G. Hypocholesterolaemic Effect of Fenugreek Seeds in Dogs. *Atherosclerosis* 1984; 50: 105-111.
94. Kritchevsky D, Tepper SA and Story JA. Influence of saponins on cholesterol metabolism in rats (40403). *Proc Sot Exp Biol Med* 1979;160: 126.
95. Oakenfull DG, Dietary fibre, saponins and plasma cholesterol, *Food Technol. Australia*. 1981; 33: 432.
96. Sharma RD, Raghuram TC and Sudhakar Rao N. Effect of fenugreek seeds on blood glucose and serum lipids in Type I diabetes. *Eur J Clin Nutr* 1990;44(4):301-6.

97. Petit PR, Sauvaire YD, Hillaire-Buys DM, et al. Steroid saponins from fenugreek seeds: Extraction, purification, and pharmacological investigation on feeding behavior and plasma cholesterol. *Steroids* 1995; 60: 674-680.
98. Bukhari SB, Banger MQ, Memon S. Antioxidative activity of extract from Fenugreek seeds (*Trigonella Foenum-graecum*). *Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry* 2008; 9 (2).
99. Hamadi SA. Effect of trigonelline and ethanol extract of Iraqi Fenugreek seeds on oxidative stress in alloxan diabetic rabbits. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences* (2012), doi:10.1016/j.jaubas.2012.02.003.
100. Genet S, Kale RK and Baquer NZ. Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: Effect of vanadate and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). *Molecular and Cellular Biochemistry* 2002; 236: 7–12.
101. Pandian RS, Anuradha CV, Viswanathan P. Gastroprotective effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) on experimental gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2002; 81: 393-397.
102. Nair S, Nagar R. Anti-oxidant flavonoids in common Indian foods. *South Asian Journal of Preventive Cardiology* 1997; 1: 33-35.
103. Geyikli İ, Bayıl S. Kromun İnsülin Duyarlılığı İle İlişkisi. *Gaziantep Tıp Dergisi* 2008; 14: 59-63.
104. Anderson RA. Chromium. In, Mertz W (Ed): *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Academic Press. New York, 1987; 225-244.
105. Jain SK, Patel P, Rogier K, Jain SK. Trivalent chromium inhibits protein glycation and lipid peroxidation in high glucose treated erythrocytes. *Antioxidant Redox Signaling* 2006; 8: 238–241.
106. Yang X, Li S, Dong F, et al. Insulin-sensitizing and cholesterol-lowering effects of chromium (D-phenylalanine) 3. *J Inorg Biochem* 2006;1187-1193.
107. Büyükleblebici O, Karagül H. Streptozotosin İle Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulan Ratlarda Kromun Biyokimyasal Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18 (1): 21-26.
108. Vincent JB: The biochemistry of chromium. *J Nutr* 2000; 130:715–718.
109. Davis CM, Sumrall KH, Vincent JB. A biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). *Biochemistry* 1996; 35: 12963–12969.
110. Kleefstra N, Bilo HJG, Bakker SJL, Houweling ST. Chromium en insulineresistentie. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148(5):217-20.
111. Satman İ, Alagöl F, Ömer B, et al. “Turdep-II Sonuçlarının Özeti” [http:// www. itf. istanbul.edu.tr/](http://www.itf.istanbul.edu.tr/) 13.10.2010.
112. King H, Rewers M, and WHO ad hoc Diabetes Reporting group. Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. *Diabetes care* 1993; 16: 157-177.

- 113.** Korugan Ü. Diyabetes Mellitus Genetiği. Diyabetes Mellitus Sempozyumu. İstanbul, 1997; 19-24.
- 114.** Szkudelski T. Streptozotocin–nicotinamide-induced diyabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med (Maywood)* 2012; 237: 481.
- 115.** Ravina A, Slezak L, Rubal A, Mirsky N: Clinical use of the trace element chromium (III) in the treatment of diyabetes mellitus. *J Trace Elem Exp Med* 1995; 8: 183–190.
- 116.** Jain SK, Rains JL, Croad JL. Effect of chromium niacinate and chromium picolinate supplementation on lipid peroxidation, TNF- $\alpha$ , IL-6, CRP, glycated hemoglobin, triglycerides, and cholesterol levels in blood of streptozotocin-treated diyabetic rats. *Free Radical Biology & Medicine* 2007; 43: 1124–1131.
- 117.** Mertz W. Trace minerals and atherosclerosis. *Fed. Proc.* 1982; 41: 2807.
- 118.** Mooradian AD and Morley JE. Micronutrient status in diyabetes mellitus. *J Clin Nutr* 1987; 45: 877.
- 119.** Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM. and Reiser S. Urinary chromium excretion and insulinogenic properties of carbohydrates. *Am J Clin Nun* 1990; 55: 864.
- 120.** Borel JS, Majerus TC, Polansky MM, et al. Chromium excretion of trauma patients. *Biol. Trace Element Res* 1984; 6: 3 17.
- 121.** Anderson RA, Chromium, glucose tolerance, diyabetes and lipid metabolism, *J Adv Med* 1995; 8: 37-49.
- 122.** Therapeutic Research Faculty, Natural Medicines Comprehensive Database Website, Natural Medicines in the Clinical Management of Diyabetes, <http://www.naturaldatabase.com/>.
- 123.** Accili D. New perspectives in diabetes research and treatment. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11(9):349-350.
- 124.** Bağrıacık N. Tanı, komplikasyonlara yaklaşım ve tedavi el kitabı Nova Nordisk diyabet servisi yayımları, İstanbul 1997.
- 125.** Gürbüz E. Koloğlu Endokrinoloji, Temel ve Klinik Endokrinoloji, 2. Baskı. Medikal Network 2005; 349, 362, 364, 370, 371, 373.
- 126.** Tüzün M. Endokrinoloji el kitabı, Ege Üniversitesi. İzmir. 2004; 615-616,618,632-634.
- 127.** Yağmurlu A. Nobel Ödüllü Cerrahlar. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 2006; 22(3): 120-128.
- 128.** Lai MH. Antioxidant Effects and Insulin Resistance Improvement of Chromium Combined with Vitamin C and E Supplementation for Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Clin. Biochem Nutr* 2008; 43: 191–198.
- 129.** What is Type 2 Diabetes? <http://drc.ucsf.edu/types-of-diabetes/type2/understanding-type-2-diabetes/what-is-type-2-diabetes/>.
- 130.** Nature Reviews. <http://www.nature.com/nrd/journal/v5/n4/images/nrd2005-f3.jpg>. 2006.
- 131.** <http://drc.ucsf.edu/types-of-diabetes/type1/understanding-type-1-diabetes/what-is-type-1-diabetes>.



- 132.** Hamza N, Berke B, Cheze C, et al. Preventive and curative effect of *Trigonella foenum-graecum* L. Seeds in C57BL/6J models of type 2 diabetes induced by high-fat diet. *Journal of Ethnopharmacology* 2012; 13;142(2):516-22.
- 133.** Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38 (12):1103-11.
- 134.** Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004; 37 (2):112-9.
- 135.** Tekin ME. Sağlık Bilimleri için Örneklerle Bilgisayarda İstatistik, Selçuk Üniversitesi Basımevi, 2. Baskı, Konya, 71-88, 2010.
- 136.** Srinivasan K. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A Review of Health Beneficial Physiological Effects. *Food Reviews International* 2006; 22: 203–224.
- 137.** Sekar DS, Sivagnanam K, Subramanian S. Antidiabetic activity of *Momordica charantia* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. 2005; 60: 383–387.
- 138.** Jain SC, Lohiya NK, Kapoor A. *Trigonella foenum-graecum* Linn: A hypo-glycaemic agent. *Indian J Pharm Sci* 1987; 49: 113–114.
- 139.** Mishkinsky J, Joseph B, Sulman F. Hypoglycaemic effect of trigonelline. *Lancet* 1967; 1: 1311–1312.
- 140.** Haeri MR, Izaddoost M, Ardekani MRS, et al. The Effect of Fenugreek 4-Hydroxyisoleucine on Liver Function Biomarkers and Glucose in Diabetic and Fructose-fed Rats. *Phytother Res* 2009; 23: 61–64.
- 141.** Kaviarasan S, Vijayalakshmi K, Anuradha CVA. Polyphenol-rich extract of fenugreek seeds protect erythrocytes from oxidative damage. *Plant Foods for Human Nutrition* 2004; 59: 143–147.
- 142.** Mohammad S, Taha A, Bamezai RNK, Baquer NZ. Modulation of glucose transporter (GLUT4) by vanadate and *Trigonella* in alloxan-diabetic rats. *Life Sciences* 2006; 78: 820 – 824.
- 143.** Vijayakumar MV, Singh S, Chhipa RR, Bhat MK. The hypoglycaemic activity of fenugreek seed extract is mediated through the stimulation of an insulin signalling pathway. *British Journal of Pharmacology* 2005;146: 41–48.
- 144.** Puri D, Prabhu KM, Murthy PS. Mechanism of action of hypoglycemic principle isolated from fenugreek seeds. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 2002; 46 (4): 457–462.
- 145.** Cong LN, Chen H, Li Y, et al. Physiological Role of Akt in Insulin-Stimulated Translocation of GLUT4 in Transfected Rat Adipose Cells. *Molecular Endocrinology* 1997; 11(13): 1881-1890.
- 146.** Sun XJ, Rothenberg P, Kahn CR, et al. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature* 1991; 352: 73–77.

147. Zia T, Hasnain SN, Hasan SK. Evaluation of the oral hypoglycaemic effect of *Trigonella foenum-graecum* L. (methi) in normal mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2001; 75: 191–19.
148. Tezuka M, Ishii S, and Okada S. Chromium (III) decreases carbon tetrachloride originated trichloromethyl radical in mice. *J. Inorg. Biochem* 1991; 44: 261–265.
149. Urmila AS, Sharma G, Yan JX, et al. Anti-diabetic activity and Mechanism of action of chromium chloride. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 2004; 112: 248–252.
150. Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, et al. Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 212–218.
151. Anderson RA. Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 548–555.
152. Anderson RA, Cheng N, Bryden NA, et al. Elevated intakes of supplemental chromium improve glucose and insulin variables in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes* 1997; 46: 1786–1791.
153. Doisy RJ, Streeten DHP, Freiberg JM, Schneider AJ. Chromium metabolism in man and biochemical effects, in Prasad AS, Oberleas D (eds): *Trace Elements in Human Health and Disease. Vol II. Essential and Toxic Elements*. New York, Academic Press 1976: 79-104.
154. Nath R, Minocha J, Lyall V, et al. Assessment of chromium metabolism in maturity onset and juvenile diabetes using chromium-51 and therapeutic response of chromium administration on plasma lipids, glucose tolerance and insulin levels, in Shapcott D, Hubert J (eds): *Chromium in Nutrition and Metabolism*. Amsterdam, Elsevier/North Holland, 1979: 213-222.
155. Canfield W. Chromium, glucose tolerance and serum cholesterol in adults. in Shapcott D, Hubert J (eds): *Chromium in Nutrition and Metabolism*. Amsterdam, Elsevier/North Holland, 1979: 145-161.
156. Fox GN, Sabovic Z. Chromium picolinate supplementation for diabetes mellitus. *J Fam Pract* 1998; 46: 83-86.
157. Cefalu WT, Hu FB. Role of chromium in human health and in diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 2741–2751.
158. Mertz W, Abernathy CO, Olin SS. *Risk Assessment of Essential Elements*, Washington, DC, ILSI Press 1994: 19-38.
159. Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM. Lack of toxicity of chromium chloride and chromium picolinate. *J Am Coll Nutr* 1997; 16: 273-279.
160. Centers for Disease Control and Prevention: The 2005 National Diabetes Fact Sheet. 2005. [www.cdc.gov/diabetes](http://www.cdc.gov/diabetes). 2005.

161. Shetty AK, Salimath PV. Reno-protective effects of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) during experimental diabetes. *e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2009; 4: e137–e142.
162. Xue W, Lei J, Li X, Zhang R. *Trigonella foenum graecum* seed extract protects kidney function and morphology in diabetic rats via its antioxidant activity. *Nutrition Research* 2011; 31: 555–562.
163. Browlee M. The pathological implications of protein glycation. *Clin Invest Med* 1995; 18: 275–280.
164. Anuradha CV and Ravikumar P. Restoration on Tissue Antioxidants by Fenugreek Seeds (*Trigonella Foenum Graecum*) in Alloxan-Diabetic Rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 2001; 45 (4) : 408-420.
165. Jain SK and Palmer M. The effect of oxygen radical metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 593–596.
166. Jain SK. Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. *J Biol Chem* 1989; 264: 21340–21345.
167. Jain SK and Kannan K. Chromium Chloride Inhibits Oxidative Stress and TNF- $\alpha$  Secretion Caused by Exposure to High Glucose in Cultured U937 Monocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001; 289: 687–691.
168. Jain SK, Rains JI, and Croad J. High Glucose and Ketosis (Acetoacetate) Increases, and Chromium Niacinate Decreases, IL-6, IL-8, and MCP-1 Secretion and Oxidative Stress in U937 Monocytes. *Antioxid. Redox Signal* 2007; 9: 1581–1590.
169. Seino TS, Satch H, Fujii J, et al. Increased in vivo production of tumor necrosis factor after development of diabetes in nontreated, long-term diabetic BB rats. *Clin. Immunol. Immunopathol* 1992; 62: 258–263.
170. Sagara M, Satoh J, Zhu XP, et al. Inhibition with N acetylcysteine of enhanced production of tumor necrosis factor in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin. Immunol. Immunopathol* 1994; 71: 333–337.
171. Stephens JM, Lee J and Pilch PF. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  induced Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes Is Accompanied by a Loss of Insulin Receptor Substrate-1 and GLUT4 Expression without a Loss of Insulin Receptor-mediated Signal Transduction. *J Biol Chem* 1997; 272:971-976.
172. Yang XD, Tisch R, Singer SM, et al. Effect of tumor necrosis factor alpha on insulin-dependent diabetes mellitus in NOD mice. I. The early development of autoimmunity and the diabetogenic process. *J Exp Med* 1994, Sep 1;180(3):995-1004.
173. Christen U, Wolfe T, Möhrle U, et al. A Dual Role for TNF- $\alpha$  in Type 1 Diabetes: Islet-Specific Expression Abrogates the Ongoing Autoimmune Process When Induced Late but Not Early During Pathogenesis. *J Immunol* 2001; 166:7023-7032.
174. Thomas HE, Darwiche R, Corbett JA, and Kay TW. Evidence that  $\beta$  cell death in the nonobese diabetic mouse is Fas independent. *J Immunol* 1999; 163:1562.

- 175.** Raju J and Bird RP. Alleviation of hepatic steatosis accompanied by modulation of plasma and liver TNF- $\alpha$  levels by *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) seeds in Zucker obese (fa/fa) rats. *International Journal of Obesity* 2006; 30: 1298–1307.
- 176.** Rui L, Aguirre V, Kim JK, et al. Insulin/IGF-1 and TNF- $\alpha$  stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest*. 2001; 107:181–189.
- 177.** Lechleitner M, Koch T, Herold M, et al. Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors. *Journal of Internal Medicine* 2000; 248: 67-76.
- 178.** Yki-Järvinen H. Glucose toxicity. *Endocr Rev* 1992; 13: 415-31.
- 179.** Kroder G, Bossenmaier B, Kellerer M, et al. Tumor necrosis factor-alpha and hyperglycaemia induced insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; 97: 1411-75.
- 180.** Berne RM, Lewy MN, Koeppen BM, Stanton BA. *Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (Çeviren)*. 5. Baskı, Ankara: Öncü Basımevi, 2008.
- 181.** Bayraktar M. İnsülin Tedavisi. [http://ichastaliklaridergisi.org/managete/fu\\_folder/2001-EK1/html/2001-8-Ek1\\_020-028.html](http://ichastaliklaridergisi.org/managete/fu_folder/2001-EK1/html/2001-8-Ek1_020-028.html).
- 182.** Ostenson CG. The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. *Acta Physiologica Scandinavica* 2001; 171: 241–247.
- 183.** Lipinski B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2001; 15: 203–210.
- 184.** Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Func* 2003; 21: 291-296.
- 185.** Al-Habori M, Raman A, Lawrence MJ, Skett P. In vitro effect of fenugreek extracts on intestinal sodium-dependent glucose uptake and hepatic glycogen phosphorylase A. *Int J Exp Diabetes Res* 2001; 2(2): 91-9.
- 186.** Birman H. Bitkisel Flavonoid Bileşiklerinin Biyoaktiviteleri Ve Muhtemel Etki Mekanizmaları. *İst Tıp Fak Derg* 2012; 75: 3.
- 187.** Jasin SK, McVie R, Duett J, Herbst JJ: Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes* 1989; 38: 1539–1543.
- 188.** Gülmezoğlu E, Ergüven S. *İmmünoloji*. 1. Baskı, Ankara: Feryal Matbaası, 1994.
- 189.** Tracy KJ, Cerami A. Tumor nekrozis faktör, A pleiotropic cytokin and therapeutic target. *Annu Rev Med* 1994; 45: 491-503.
- 190.** Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1975;72(9):3666–70.
- 191.** Arai KL, Lee F, Miyajima A, et al. Cytokines: Coordinators of immun and inflammatory responses. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 783-836.
- 192.** Beutler B, Cerami A. The biology of cachectic / TNF- $\alpha$  primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunology* 1989; 7: 625-655.
- 193.** Carrieri PB. The role of cytokines in the pathogenesis of MS. *Int MS Journal* 1994; 1(2): 53-59.

- 194.** TNF-Alfa ve TNF-a Geni <http://zehirlenme.blogspot.com/2010/11/tnf-alfa-ve-tnf-geni.html> 11.24.2010.
- 195.** Schwartz BD. The human major histocompatibility HLA complex. In: Stites DP, Stobo JD, Wells JV, eds. Basic and Clinical Immunology. 6th ed. California: Appleton and Lange 1987: 50-64.
- 196.** Schreiber RD, Chaplin DD, Frank MM. Cytokines inflammation and innate immunity. Samter's immunologic Little, Brown and Company USA 1995: 279-286.
- 197.** Smith RA, Baglioni C, The active form of tumor nekrosis factor is a trimer. J Biol Chern 1987; 262: 6951-6954.
- 198.** Jones EY, Stuart DI, Walker NP. Structure of tumor nekrosis factor. Nature 1989; 338: 225-228.
- 199.** Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, et al. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. Nature 1997;385:729-33.
- 200.** Aydınтуğ O. Sitokinler. Tokgöz G, ed. Klinik İmmünoloji. Ankara: Öncü Yayıncılık, 2003; 10: 113-145.
- 201.** Vassali P. The pathophysiology of Tumor necrosis factor. Annu Rev Immunol 1992; 10: 411-452.
- 202.** Açıkğöz ZC. Tümör nekrozis faktör: yapısı, etkileri ve fizyopatolojisi. Mikrobiyal bült 1997; 31: 173-189.
- 203.** Da Silva RJ, Fecchio D, Barraviera B. Antitumor effect of snake venoms. J Venom Anim Toxins 1996; 2: 79-90.
- 204.** Felmann M, Maini RN. Anti- TNF alpha therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned? Annu Rev Immunol 2001; 19: 163-96.
- 205.** Vandenabeele P, Declercq W, Beyaert R. and Fiers W. Two tumour necrosis factor receptors: structure and function. Trends Cell Biol 1995; 5: 392-399.
- 206.** Wong GHW, Goeddel DV. Induction of manganous süper-oxide dismutase by tumor necrosis factor: possible protective mechanisms. Science 1988; 242: 941-944.
- 207.** Zimmerman RJ, Marafino BJ, Chan A, Landre P, Winkelhake JL. The role of oxidant injury in tumor cell sensitivity to recombinant tumor necrosis factor in vivo. J Immunol 1989; 142:1405-1409.
- 208.** Mermercioğlu B. Meme tümörlü dişi köpeklerde tümör nekroz faktör- alfa (TNF- $\alpha$ ), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve vitamin E düzeylerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
- 209.** Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS. Cytokines. Cellular and Molecular Immunology Philadelphia: WB Saunders Company 1994: 240-261.
- 210.** Farrar MA, Schreiber RD. The moleculer cell biology of interferon- gamma and its receptor: Ann Review of Immunology 1993; 11: 571-611.

- 211.** Moller DE. Potential Role of TNF- $\alpha$  in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *TEM* 2000; 11(6): 212-217.

## **8. ÖZGEÇMİŞ**

1988 yılında Elazığ ilinde doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 2009 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesini birincilikle bitirdim. 2010 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimine başladım. 2011 yılından beri Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.