

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STREPTOZOTOCİN İLE DIABET OLUSTURULMUS
SIÇANLARDA *Trigonella foneum graecum L.* EKSTRAKTİNİN
BÖBREK ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Özge ERTUGRUL KARAÇALI

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SANLIURFA
2006**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STREPTOZOTOCİN İLE DIABET OLUSTURULMUS
SIÇANLARDA *Trigonella foneum graecum L.* EKSTRAKTİNİN
BÖBREK ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Özge ERTUGRUL KARAÇALI

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SANLIURFA
2006**

Doç. Dr. Davut MUSA danismanliginda, Yüksek Lisans Öğrencisi Özge ERTUGRUL KARAÇALI'ın hazirladigi “Streptozotocin Ile Diabet Olusturulmus Siçanlarda *Trigonella Foneum Graecum L.* Ekstraktinin Böbrek Üzerindeki Etkisi” konulu bu çalisma 28/06/2006 tarihinde asagidaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmistir.

Danisman :Doç. Dr. Davut MUSA

Üye : Prof. Dr. Nihat DILSIZ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Füsun BABA

Bu Tezin Tarim Makinalari Anabilim Dalinda Yapildigini ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendigini Onaylarım.

Prof. Dr. Ibrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu çalisma HÜBAK tarafından desteklenmistir.
Proje No: 657

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve baska kaynaktan yapılan bildirislerin, çizelge, sekil ve fotograflarin kaynak gösterilmeden kullanimi, 5846 sayili Fikir ve Sanat Eserleri Kanundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TESEKKÜR.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
SEKİLLER DİZİNİ.....	v
SIMGELER DİZİNİ.....	vi
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1.Diabetes Mellitus.....	3
2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus.....	6
2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus.....	7
2.2. Pankreas Hormonları	9
2.3. Serbest Radikaller.....	13
2.3.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri.....	15
2.3.2. Serbest radikal kaynakları.....	19
2.3.2.1. Endojen serbest radikal kaynakları.....	19
2.3.2.2. Ekzojen serbest radikal kaynakları.....	20
2.3.3. Serbest radikallerin etkileri.....	20
2.3.3.1. Membran lipitlerine etkileri (Lipit peroksidasyonu).....	20
2.3.3.2. Proteinlere etkileri.....	21
2.3.3.3. Nükleik asitler ve DNA' ya etkileri.....	22
2.3.3.4. Karbohidratlara etkileri.....	22
2.3.4. Serbest radikaller ve diyabet.....	22
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	23
2.4.1. Endojen antioksidanlar.....	23
2.4.1.1. Enzimler.....	23
2.4.1.2. Lipit fazda bulunanlar.....	25
2.4.1.3. Sivi fazda bulunanlar.....	27
2.5. Böbrek Anatomisi.....	28
2.5.1. Böbreğin fonksiyonel anatomisi.....	29
2.5.2. Böbreğin endokrin fonksiyonları.....	31
2.5.3. Diabette böbrekler.....	31
2.5.3.1. Diabetik nefropatinin evreleri.....	34
2.6. Streptozotosinin Yapısı ve Etki Mekanizması.....	34
2.7. <i>Trigonella foenum greacum</i>	35
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	38
3.1. Deneysel Hayvanları.....	38
3.2. Hayvanların beslenmesi.....	38
3.3. Deneysel Hayvanlarının Gruplandırılması.....	38
3.4. Ekstraktların Hazırlanması.....	39
3.5. Deneysel Çalışmalar.....	39
3.6. Biyokimyasal Analizler.....	40
3.6.1. MDA ve GSH analizleri.....	40
3.6.1.1. Böbrek dokularında MDA analizi.....	41
3.6.1.2. Böbrek dokularında GSH analizi.....	42

3.7. Histolojik Çalışmalar.....	43
4. ARASTIRMA BULGULARI ve TARTISMA.....	44
4.1. Histolojik Çalışma Bulguları.....	44
4.2. Biyokimyasal Analiz Bulguları.....	47
4.2.1. GSH ölçüm sonuçları.....	47
4.2.2. MDA ölçüm sonuçları	49
4.3. Uygulanan İstatistiksel Metot ve Analizler.....	51
4.3.1. GSH SPSS istatistiksel analizi.....	52
4.3.2. MDA SPSS istatistiksel analizi.....	52
4.4. Tartisima.....	52
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	56
5.1. Histolojik Çalışma Sonuçları.....	56
5.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	56
KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİS.....	64
ÖZET.....	65
SUMMARY.....	67

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

STREPTOZOTOCIN İLE DIABET OLUSTURULMUS SIÇANLARDA *Trigonella foenum graecum* L. EKSRAKTİNİN BÖBREK ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Özge ERTUGRUL KARAÇALI

**Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Danisman: Doç. Dr. Davut MUSA

Yıl: 2006, Sayfa: 68

Trigonella foenum graecum (Leguminosae) familyasından olup bir çok biyoaktivite içermekte ve geleneksel tıbbi amaçlarda kullanılmaktadır. Anti diyabet, anti hipertensif ve anti spasmodiktir. Diyabet ise serbest radikaller oluşumuna bağlıdır. Çalışmamızda deney hayvanlarında oluşturulmuş diyabette *Trigonella foenum graecum*'un antioksidan aktivitesi araştırılacaktır. Bu çalışmada ortalama 200±25g ağırlığında 21 albino siçan üç eşit gruba ayrılmıştır. Grup D₀ kontrol grubudur hiç bir uygulama yapılmamıştır. Grup D₁, her deney hayvanına 65mg/kg Streptozotocin intraperitoneal olarak uygulanmış diyabet grubudur, grup D₃'deki her deney hayvanına 65mg/ Streptozotocin intraperitoneal olarak uygulanmış, 150mg/kg *Trigonella* metanol ekstresi oral yol ile 7 hafta boyunca uygulanmıştır. Deney hayvanları öldürülerek böbrekteki MDA ile GSH düzeyleri araştırılmıştır. Analizin sonucunda *Trigonella* ekstresi kuvvetli bir antioksidan olduğu anlaşılmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: *Trigonella foenum graecum*, Diyabet, MDA, GSH, Streptozotocin, Antioksidan

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECTS OF *Trigonella foenum graecum* L. EXTRACT ON THE KIDNEY OF STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC RATS.

Özge ERTUGRUL KARAÇALI

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor : Assoc. Doç.Dr. Davut MUSA
Year: 2006, Page: 68

Trigonella foenum graecum Leguminosae family have been reported to have many bioactivity properties and used for medical purposes. However used in traditional medicine, antidiabetic effects, antihypertensive and antispasmodic. There for our aim in this work was to study the effect of *Trigonella foenum graecum* on diabetic rats induced with streptozotocine and the role of antioxidant against diabetes mellitus. In this study was 21 rats healthy rats were used weighing 200 ± 25 g divided into 3 groups. Group D₀ Control shamgroup which no treatment was done. Group D₁ Diabetic control Group, each rat was treated with 65mg/kg body weight intraperitoneally streptozotocin. Group D₂ eachrat was tread with 65mg/kg body weight streptozotocin intraperitoneally and received 150 mg/kg *Trigonella foenum graecum* respectively for 7 weeks. At the end of the experiment period all rats were killed by dislocation liver and kidney were removed histopatological and biochemical MDA and GSH were analyzed.

KEY WORDS : *Tigonella foenum graecum*, Diabetes mellitus, MDA, GSH, Streptozotocin
Antioxidant

TESEKKÜR

Çalışmalarımnda bilgi ve deneyimleri ile hep yanımda olan, desteklerini esirgemeyen danışmanım sayın Doç. Dr. Davut MUSA' ya, bölüm başkanı sayın Prof. Dr. Nihat DILSIZ' e, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Füsun BABA' ya, Ars. Gör. Ayse SAHABOGLU' na, istatistiksel analizleri yapmamda yardımcı olan sevgili arkadaşım Gülten SENOCAK' a, okul ve meslek hayatım boyunca beni destekleyen anneme, babama ve kardeşlerime tesekkürlerimi sunarım.

ÇİZELGELER DIZINI

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Diabetes mellitusta tani kriterleri.....	4
Çizelge 2.2. Diabetin etiyolojik siniflamasi.....	5
Çizelge 2.3. Oksijen türevi bilesikler.....	15
Çizelge 3.1. Hayvanlara verilen yemin içeriği.....	38
Çizelge 3.2. MDA standart egrisinin hazirlanmasi.....	41
Çizelge 3.3. GSH standart egrisinin hazirlanmasi.....	42
Çizelge 4.1. Kontrol grubunun (grupD ₀) GSH degerleri.....	48
Çizelge 4.2. Diyabet grubunun (grupD ₁) GSH degerleri.....	48
Çizelge 4.3. <i>Trigonella</i> grubunun (GrupD ₂) GSH degerleri.....	48
Çizelge 4.4. GSH standartlarından elde edilen degerler ve kalibrasyon egrisi.....	49
Çizelge 4.5. Böbrek dokularında GSH miktarı.....	49
Çizelge 4.6. Kontrol grubunda MDA degerleri.....	50
Çizelge 4.7. Diyabet grubunda MDA degerleri.....	50
Çizelge 4.8. <i>Trigonella</i> grubunda MDA degerleri.....	50
Çizelge 4.9. MDA standartlarından elde edilen degerler ve kalibrasyon egrisi.....	51
Çizelge 4.10. Böbrek dokularında MDA miktarı.....	51

SEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Sekil 2.1. Pankreasın yeri.....	9
Sekil 2.2. İnsülinin yapısı.....	10
Sekil 2.3. İnsülin kristalleri.....	10
Sekil 2.4. Proinsülinin insülinin oluşumu.....	11
Sekil 2.5. <i>Trigonella foenum greacum L.</i>	36
Sekil 2.6. <i>Trigonella foenum greacum L.</i> tohumları.....	36
Sekil 4.1. Kontrol grubuna ait böbrek kesiti.....	44
Sekil 4.2. Diabet grubunda vakuoler dejenerasyon	45
Sekil 4.3. Diabet grubunda sekonder kalınlaşma.....	45
Sekil 4.4. Diabet grubunda glomerüller mezengial matriks artışı	46
Sekil 4.5. Diabet grubunda afferent ve efferent arterioller.....	46
Sekil 4.6. <i>Trigonella</i> grubuna ait böbrek kesiti.....	47

SIMGELER DIZINI

ADA	Amerikan Diabet Birliği
ADH	Antidiüretik Hormon
ATP	Adenozin trifosfat
DM	Diabetes Mellitus
DN	Diyabetik nefropati
DNA	Doksiribonükleik Asit
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
Fe ⁺²	Ferro Demir
Fe ⁺³	Ferri Demir
GH	Büyüme Hormonu
GSH	Glutasyon
GSSH	Yükseltgenmis Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
IDDM	Insüline bađimli Diabetes Mellitus
i.p	Intraperitonal
i.v	Intraven
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
MDA	Malondialdehit
nMol	Nanomol
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Redükte Formu
NIDDM	Insüline Bađimli Olmayan Diabetes Mellitus
N-PAGE	Native-Poliakrilamid Jel Elektroforez
OH	Hidroksil Radikali
O ₂ ⁻	Süperoksit radikalidir
p	Anlamlilik düzeyi
RNA	Ribonukleik asit
SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
STZ	Streptozotosin
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBA	Tiyobarbütirik Asit
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
⁰ C	Santigrat Derece
dl	Desilitre
µl	Mikrolitre
µM	Molar
>	Büyüktür
<	Küçüktür
~	Yaklasik

I. GIRIS

Diyabet hastaligi, pankreasin β hücrelerinin yetersiz insülin salgilamasindan veya dokularin insüline karsi gösterdigi dirençten dolayi; karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmalarinin kroniklesmis düzensizligidir. Bunun sonucunda kan sekeri seviyesi artmaktadır. Dolayisiyla kan sekeri, hücrelerin içine giremez olur ve degisik bozukluklar meydana gelir (Sharma ve ark. 1996). Kandaki seker artisi ise kalp hastaligi, kalp atis hizi artisi, böbrek hastaligi ve sinir fonksiyonlarinin azalmasi gibi bir çok hastaliga neden olmaktadır (Vuksan ve ark. 2000).

Alloksan ve ya streptozotosin, deneysel diyabet olusturmak amaci ile yaygin olarak kullanılan etkenlerdir. Pankreasin β hücrelerinin zarar görmesi sonucu Diabetes mellitusun olusabilecegi bildirilmistir (Pilkis ve ark. 1988).

Diabetes mellitusta özellikle karbonhidrat metabolizmasinda bozukluklar olusmaktadır. Hücrelerin glukozu oksijenli solunumda kullanamayisi ile ortamda bir veya daha çok eslenmemis elektron içeren serbest radikallerin miktarı artar. Serbest radikaller membran lipitlerinin peroksidasyonuna, permeabilitesinin artmasına, enzimlerin ve proteinlerin sülfidril gruplarının oksitlenmesine ve çapraz bağlanmasına, DNA yapısında mutasyonlara ve sonuçta hücre ölümlerine neden olmaktadır (Çelebi ve ark. 2000.; Baykal ve Kocabalkan 2000).

Organizmada serbest radikallerin etkisini engellemek için antioksidan savunma sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemin düzenli çalışması ile organizma sağlıklı yaşamını sürdürür. Ancak diyabet sırasında yüksek miktarda oksijen süratli bir şekilde sisteme dahil olması sonucunda meydana gelen serbest radikal miktarındaki artış, hücre hasarlarına ve ölümlerine kadar yol açar, degisik patolojik durumlar ortaya çıkar (Hallivel 1996).

Diyabette serbest radikal üretiminin artisi, antioksidan ve savunma sisteminin yetersizligi, proteinlerin glukozunu, özellikle kontrolsüz diyabetlerde ateroskleroz,

retinopati, nefropati, nöropati gibi komplikasyonlara neden olur (Kalak ve ark. 1996).

Diyabetin uzun dönem komplikasyonlarından biri olan nefropati, diyabetteki ölüm nedenleri arasında miyokard enfaktüsünden sonra ikinci sırada gelmektedir.

Nefropati gelişiminde böbrekte glomerüllerde bazal membran kalınlaşması, mezangiyal hücre proliferasyonu, mezangiumda konsantrik tabakalar şeklinde matriks depolanması olur. Bunun sonucunda glomerüler yapılarda bozulma ve albuminüri görülür.

Son yıllarda birçok hastalığın patogenezinin sorumlu tutulan serbest radikaller, diyabetin komplikasyonları açısından da önem kazanmıştır (Kehrer ve Smith 1994; Rcilly ve ark. 1991; Nakazava ve ark. 1996).

Bizim çalışmamızda amaç, deneysel diyabete maruz kalmış siçanların böbrek dokusunda meydana gelen değişiklikleri inceleyerek *Trigonella foenum graecum L.* ekstraktı ile tedavi edilmiş siçanların böbreklerindeki hasarın önlenip önlenmediğini, bitkinin antioksidan özellik içerip içermediğini tartışmaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**2.1. Diabetes Mellitus**

Diabetes mellitus (DM) uzun dönemde ciddi komplikasyonlara yol açan, insülin salgılanmasındaki yetersizlik ve hedef dokularda, insülinin metabolik etkisine karşı gelişen direnç hali ile karakterize edilen, belirgin biyokimyasal özelliği hiperglisemi olan, genetik kökenli kronik bir hastalıktır (Yılmaz ve Üstündağ 2002).

Insülin salgısındaki veya etkisindeki yetersizlik karbohidrat, yağ ve protein metabolizmalarının bozulmasına yol açar (Sprelering 2000).

Dünya Sağlık Örgütüne (World Health Organisation=WHO) göre DM sıklığı %2 -5 arasında değişmektedir. Ülkemizde bu hastalığın insidansı %2,97 dir (Kologlu 1996).

Kronik hiperglisemi semptomları; polidipsi (çok su içme), polifaji (çok yemek yeme), poliüri (asiri idrara çıkma), kilo kaybı ve bulanık görmedir (Unger ve Foster 1992).

Çalışmalarda oluşturulan deneysel diabet, özellikle damarsal yapılar üzerinde yoğunlaşan komplikasyonları ile daha çok göz, böbrek, sinir ve arterlerde olmak üzere organizmada pek çok bozukluklara neden olduğu gözlenmiştir (Yılmaz ve Üstündağ 2002).

Kan glukozu görece yüksek olduğunda glukozu ait böbrek esigi asılır ve böbrekler de düzenleyici etki gösterir. Glukoz, glomerüllerden sürekli olarak süzülürse de normalde renal tübüllerden tümüyle geri emilir. Glukozun bir derisim

gradiyentine karşı geri emilmesi tübül hücrelerine ATP sağlanmasına bağlıdır. Tübül sistemin glukozu geri emme hızı yaklaşık 850mg/dak.'dır. Kan glukoz düzeyi yükseldiğinde glomerül süzütüsüne emilebileceğinden daha fazla glukoz geçer. Buna glukozüri denir. Glukozüri, DM varlığının göstergesidir (Murray ve ark. 1996).

Diabetes Mellitus genel olarak iki gruba ayrılır. Birinci grubu, pankreasın β hücrelerinin primer hasarına bağlı tam ve kısmi insülin eksikliği, ikinci grubu ise doku seviyesinde insülin direncidir. Diabetin bu iki formu genetik, patolojik, ve klinik yönleri ile birbirinden farklıdır (Moff ve Peterson 2002).

DM' un tanısı, kronik klinik semptomlar ve biyokimyasal parametrelerle konur. Diabetin varlığı çoğu zaman rutin yapılan bir kan şekeri veya idrar tetkiki sonucunda ortaya çıkar. Plazma glukoz değerindeki yükselmeye bağlı olarak poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı ve susuzluk hissi görülür.

1997'de Amerikan Diabet Birliği'nin (ADA) ve 1999'da da Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) kriterlerine göre, 8 saatlik açlıktan sonra plazma glukoz düzeyi 110-126 mg/dl arasında ise bozulmuş açlık glukozu olarak tanımlanır. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) 140-200mg/dl glukoz intoleransı, olarak tanımlanır. Günün herhangi bir saatinde ölçülen kan şekeri ≥ 200 mg/dl ise diabet tanısı konur (çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. Diabetes mellitusta tanı kriterleri

Tanımlama	Plazma Açlık Değeri
Normal	< 110 mg/dL
Bozulmuş açlık glukozu	110-125 mg/dL
Diabet	> 126 mg/dL
OGG T (2. saat) Bozulmuş glukoz toleransı	< 140 mg/dL
Rasgele değer (Diabet semptomları ile birlikte)	140-199 mg/dL
Diabet	>200 mg/dL

ADA'nin kabul ettigi etiyolojik sınıflama kisaltilmis haliyle çizelge 2.2'de verilmistir. ADA'nin sınıflamasındaki türlerinin hepsi çocukluk döneminde görülmekle birlikte (gestasyonel diabet hariç) bu dönemdeki diabet vakalarının % 95'inden fazlasını mutlak insülin yetersizliği ile karakterize olan Tip 1 diabet oluşturmaktadır (Moff ve Peterson 2002).

Çizelge 2.2. Diabetin etiyolojik sınıflaması

- I. Tip 1 diabet (pankreasdaki β hücre hasarı sonucu insülin eksikliği, IDDM)
 - A-Otoimmün
 - B-Idyopatik
- II. Tip 2 diabet (Kombine insülin eksikliği ve insülin direnci, NIDDM)
 - A-Tipik
 - B-Atipik
- III. p-hücre işlevinde genetik kusurlar
 - A. MODY sendromları (Maturity-Onset Diabetes of Youth)
 - B. Mitokondrial DNA mutasyonları
 - C. Wolfram sendromu (DIDMOAD)
 - D. Tiamine cevaplı diabetes mellitus
- IV. İlaçlar ve kimyasal ajanlara bağlı diabet
 - Siklosporin, glikokortikoidler, L-asparaginaz, P-adrenerjik bloklar, diazoksit, o.-interferon, nikotinik asit, vd.
- V. Eksokrin pankreas hastalıkları
 - Kistik fibroz
 - Travma-pankreatektomi
 - Pankreatit-iyonize radyasyon
 - Diger
- VI. Enfeksiyonlar
 - Konjenital rubella, sitomegavirüs, hemolitik-üremik sendrom
- VII. Tip 2 diabetin varyantları
 - A. İnsülin etkisinde genetik kusurlar
 - Rabson-Mendelhall sendromu, lipoatrofik diabet sendromları
 - B. İnsülin etkisinde edinsel kusurlar
 - C. Endokrin tümörler (Cushing, feokromasitoma), anti-insülin reseptör antikolları
- VIII. İnsülin direnci / insülin eksikliği ile giden genetik sendromlar
 - Prader-Willi, Down, Turner, Klinefelter
 - Bardet-Biedel, Alstrom, Werner sendromu, vd.
- IX. Gestasyonel diabet
- X. Yenidogan diabeti

2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diabet genetik faktörlerin varlığında çevresel etkilerle başlayan β hücre harabiyeti sonucu gelişmektedir (Dahlquist 1998; Tun ve ark. 1994). Bu harabiyet %80'i bulunca diyabet ortaya çıkmaktadır (Huang ve ark. 1996). Her yasta başlayabileceği biliniyorsa da genellikle erken yaşlarda görülür. Bu tipte insülin salgılanması yetersizdir. Hastaların yaşamlarını sürdürebilmeleri ve ketozisten korunabilmesi için insülin gereksinimleri vardır (İçlin ve ark. 1997; Meadov ve Newell 2003).

Hemen hemen tüm ülkelerde Tip 1 diabet insidansı giderek artmaktadır. Otoimmün mekanizmayı başlatan nedenler arasında virüslerin (rubella, sitomegalovirüs, polio ve Epstein-Barr virüs v.b.), cinsel steroidlerin, büyüme hormonundaki (GH) artışın, β hücre harabiyeti yapan bir takım kimyasal ajanların ve ruhsal stresin olduğuna dair kanıtlar vardır (James ve ark. 1994.; Schwartz 2000.; Hanas 2001).

Tip1 diabetin ortaya çıkışında mevsimsel farklılıklar bulunmaktadır. Sonbahar ve kış aylarında daha fazla görülmektedir. Erkek ve kızlar eşit oranda etkilenmektedir. Sosyoekonomik durum ile ilgili bir ilişki yoktur (Aydın 1996; Baker 1991.).

İnsüline bağımlı (IDDM) tip 1 DM' lü çocukların birinci derece akrabalarında diabet gelişme oranı yaklaşık %20'dir (Kandemir 1997). Diabetli çocukların kardeşlerinde diabet gelişme riski % 5–8'dir. Ailede diabetli kişilerin fazlalığı halinde bu oran artar (Saka 2002.).

Diabetin ortaya çıkışında bir tek genin etkili olmadığı, hastalığın birden fazla genle ilgili olduğu düşünülmektedir (Öcal ve Berberoglu 1997).

Pankreasın β hücrelerinden salgılanan insülin, birbirine iki adet disülfit bağı ile tutunmuş 21 aminoasitli A ve 30 aminoasitli B zincirlerinden oluşmuş bir

polipeptittir. 10-15 dakika içinde dolasimdan ayrılmaktadır. Karaciger ve daha az olarak da böbrekte parçalanmaktadır (Guyton ve Hall 1996).

İnsülinin en önemli etkisi karbohidrat metabolizması üzerinde olmaktadır. Beslenme ile kan dolasına katılan karbohidratlar, insülin mevcudiyetinde tüm vücut dokularınca hızla alınıp depolanmakta ve kullanılmaktadır. Beyin dokusu diğer dokulardan farklı olarak glukozu insülin aracılığı olmadan kullanmaktadır. Beyin dokusu için kan glukoz değerinin kritik değerinin üzerinde tutulması çok önemlidir (Guyton ve Hall 1996).

İnsülin baslıca anabolik hormon olup toklukta glikojen, protein ve yağ dokusu şeklinde enerji birikimini sağlar. İnsülin miktarı düşük olduğunda bu depolardan substratlar meydana gelir, dokuların glukoz alması bozulur ve kan şekeri yükselir. Böbrek glukoz esiginin aşılması ile (yaklaşık 180mg/dl) glukozüri, poliüri ve elektrolit kayıpları olur. İnsülin eksikliğinin yanı sıra stres hormonlarının artışı (epinefrin, büyüme hormonu, kortizol, glukagon) metabolik bozukluğu artırır.

İnsülin eksikliği sonucunda glukozun hücre içine girmesi azaldığından ve glukoz enerji için kullanılmadığından hücreler protein ve yağları kullanır. Tip I diabetin lezyonlarından biri de lipogenezin (yağ asidi sentezi) inhibe oluşudur (Murray ve ark. 1996). Bu da ağırlık kaybına ve çabuk yorulmaya neden olur. Lipolizis sonucunda plazmada gliserol ve yağ konsantrasyonu artar. Asetilkoenzim A yapımı arttığından bu madde tam okside olmaz ve keton cisimlerine dönüşür (Saka 2003). Kan ve idrarda normalden fazla keton cismi bulunması sırayla ketonemi veya ketonüri yapar. Olayın tümüne ketozis denir. Kanda orta şiddetli asitlerin bulunması, bu asitlerin tamponlanmasına neden olur. Tampon katyonu kaybı meydana gelir. Bu olaylar, denetim dışı DM' da öldürücü olabilir (Murray ve ark. 1996).

2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus (insüline bağımlı olmayan Diabetes Mellitus = NIDDM)

Diabetes Mellitus (DM) kronik ilerleyici bir hastalıktır. İnsanların yaşam sürelerinin uzaması, fiziksel aktivitelerinin azalması ve obezitenin artması ile DM insidansı ve prevalansında ciddi anlamda artma olmuştur (Songer ve Zimmet 1995). Bozulmuş insülin sekresyonu ya da insülin direnci tip 2 DM gelişiminin altında yatan temel sebeptir (Chaour ve ark. 1997., Laakso 1996). İnsülin direnci; eksojen ve endojen insülinin etkilerine biyolojik yanıtın bozukluğu anlamına gelir ve tip 2 DM'nin patofizyolojisinde sebeplerden biri olarak yer alır. İnsülin direnci ve hiperinsülinemi aynı zamanda artmış ateroskleroz nedeni ile makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonları ortaya çıkarır ve hipertansiyon riski ile de ilişkilidir (Chaour 1997; Laakso 1996). Bu nedenle insülin direncini azaltmak tip 2 DM tedavisinde yaygın olarak kullanılacak tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir.

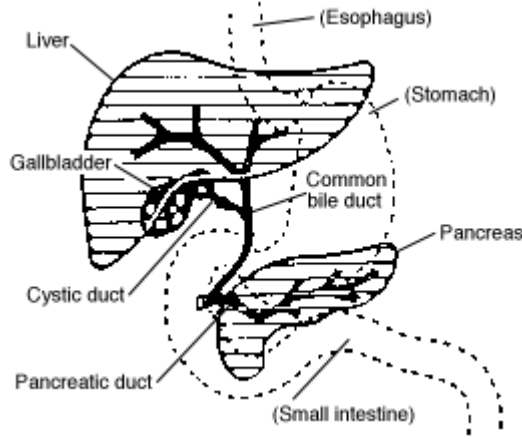
Tip 2 diabet dünyada en sık rastlanan diabet formudur. Hastalık ilk yıllarda genellikle asemptomatik olduğu için gelişmiş ülkelerde bile bilinen diabetlerin bilinmeyen diabetlere oranı 2 / 1 dir (Eastman ve ark. 1997). İnsüline bağımsız diabetes mellitusun uzun süreli asemptomatik dönemi dolayısıyla hastalığın önemli bir bölümü geç teşhis edilir. Ancak uzun asemptomatik dönem süresince gelişen diabetin kronik komplikasyonları (retinopati, nefropati, arterosklerotik kalp hastalığı v.b.) da hastalığın başlangıcı ile görülebilir (Kologlu 1996; Zimmet 1992).

Bu tip diabetin obezite ve kalıtımla ilgili olduğu bilinmektedir. İnsülinin sentez, salgı ve depolanmasında bir problem olmadığı halde periferik dokularda insüline karşı bir direnç mevcuttur (Pickup ve Williams 1997; De Fronzo ve Ferrannini 1982). Yalnızca obezite, insülin direncinin bazı derecelerini oluşturur. Obezite dışında yaş ve fiziksel aktivite de insülin rezistansını oluşturur. İnsülin direncini artıran sekonder faktörler arasında antiinsülin reseptör antikollar, glukokortikoidler, glukagon, asiri büyüme hormonu sayılabilir (Scarlett 1982).

Hastalarda insülin seviyesi normal veya yüksek olabilir. Bununla birlikte kan şekeri seviyesi de yüksek olabilir. Bu durum β hücrelerinin fonksiyonunun normal olduğunu gösterir (Polonosky ve ark. 1996). Hastalarda insülin salgılanması kusurludur ve insülin direnci vardır. İnsülin direnci kilo azalması veya hipergliseminin tedavisi ile düzelebilir (Wing ve ark. 1994).

2.2. Pankreas Hormonları

Pankreas, ~60g ağırlığında uzunluğuna bir organdır (şekil 2.1.). İki tür salgı üretir.



Şekil 2.1. Pankreasın yeri

1. Sindirim enzimleri: Bunlar temelde ekzokrin enzimlerdir. Pankreasta sentezlenen enzimler ve iyonlar ince bağırsakların lümenine salgılanır. (Murray ve ark. 1996). Besinlerdeki yağların ve makromoleküllerin küçük parçalara, monomerlere hidrolizlendikten sonra bağırsak zarından kana geçmelerini sağlar.

2. Pankreasın endokrin hormonları üreten kısmı, kütlelerinin %2-3 ünü oluşturur. Bunlar Langerhans adacıkları denilen yüz binlerce küçük bezlerden oluşur. Adacıkların hücreleri diğer pankreas hücrelerinden daha büyüktür, koyu renklidir ve pankreasın her yanına yayılmıştır.

Pankreasta 4 tip Langerhans adacığı vardır ve bunlarda 4 tür hormon sentezlenir.

A (veya α) adacıkları ~%25'dir. Glukagon sentezlenir.

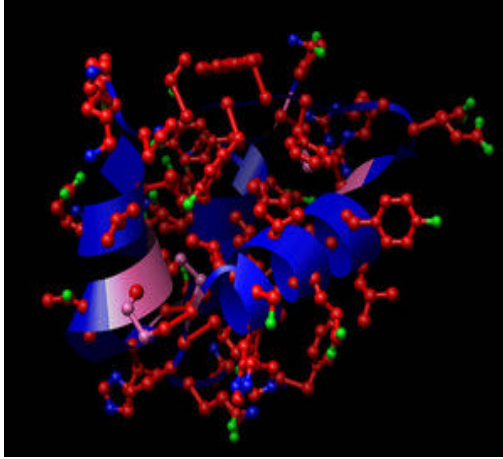
B (veya β) adacıkları ~%70'dir. İnsülin salgılanır.

D (veya δ) adacıkları ~%5'dir. Somatostatin salgılanır.

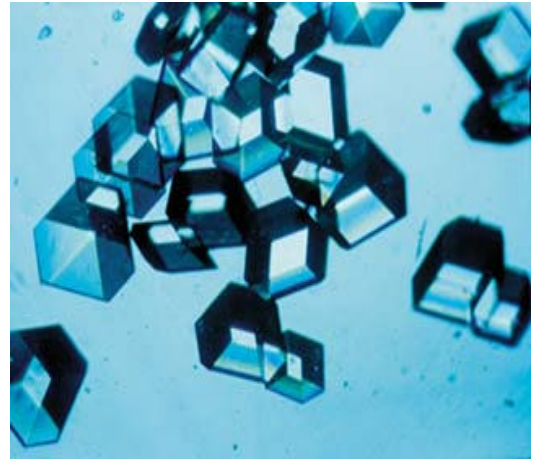
F (veya PP) adacıkları çok azdır. Pankreas polipeptidi salgılanır.

Hormonlar, pankreas venlerine salgılanır. İnsülin ve glukagonun birincil etki yeri karaciğer olduğu için böyle bir düzenlenme çok uygundur. Bu iki hormon esas olarak karbohidrat metabolizmasının düzenlenmesinden sorumlularsa da diğer bir çok olayı da etkilerler. Somatostatin, insülin ve glukagon salgılanmasının yerel düzenlenmesine katılır. Pankreatik polipeptid mide-bağırsak salgısını etkiler (Murray ve ark. 1996).

Biyokimyasal bakımdan en önemlisi insülinidir. İnsülin güçlü bir hipoglisemiyen etkiye sahiptir. Seker hastalığında yaşam kurtarıcı bir ilaç olarak kullanılır (şekil 2.2. ve şekil 2.3).



Sekil 2.2. İnsülinin yapısı Kirmizi: Karbon
Yeşil: Oksijen Mavi: Azot Pembe:Sülfür

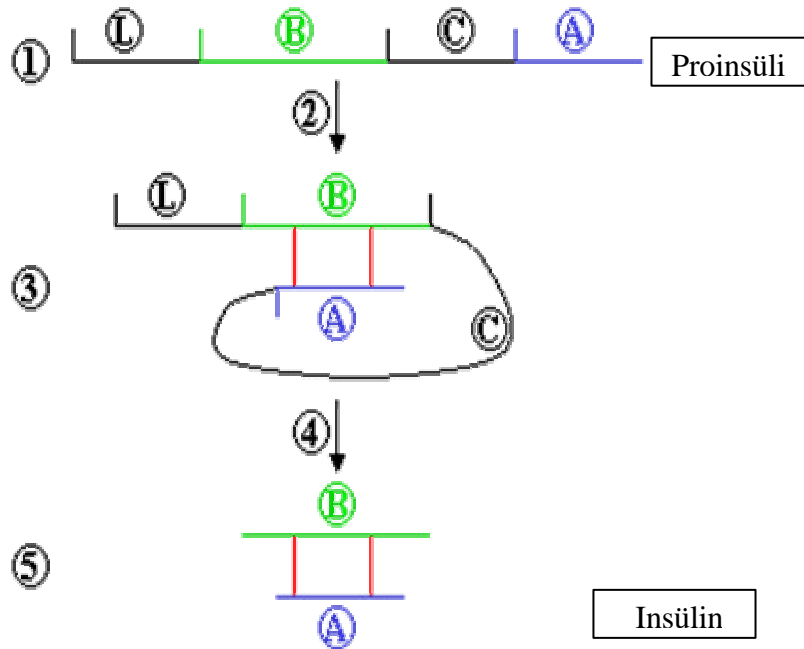


Sekil 2.3. İnsülin kristalleri

İnsülin birçok hususta ilk olma özelliğine sahiptir:

1. Hormon etkisi kanıtlanan ilk proteindir.
2. Kristaller halinde elde edilen ilk proteindir.
3. Amino asit sıra analizi yapılan ilk proteindir.
4. Kimyasal yolla sentezi yapılan ilk proteindir.
5. Biyosentez yoluyla ilk elde edilen proteindir.
6. DNA biyoteknolojisiyle endüstriyel çapta elde edilen ilk protein yapılı farmakolojik ticari maddedir.

İnsülin, birbirine disülfid bağıyla bağlı olan, 21 aminoasitli A ve 30 aminoasitli B simgeleriyle gösterilen, birbirine iki disülfid bağıyla bağlı iki polipeptid molekülünden oluşmaktadır (Guyton ve Hall 1996). Ayrıca A'nin kendi içinde bir disülfid bağı vardır. Biyolojik etkinliği çok az olan proinsülin halinde sentezlenir. A ve B zincirleri 31 amino asitlik bir C polipeptidi ile bağlanmış durumdadır. Proinsülin, peptidaz enzimleriyle bölünerek C peptid + insülin verir (şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Proinsülinin insülinin oluşumu

Proinsülin, granüllü endoplazmik retikulum üzerindeki ribozomlarda sentezlenir ve önder peptid parçasi disülfid bağ olusumunun enzimlerle kirilmesi ve katlanması bu organelin içinde görülür. Proinsülin golgiye taşınır ve salgı granülleri içinde paketlenir. Granüller plazma zarına doğru hareket ederken olgunlaşır. Proinsülin, insülin heksameri vermek üzere çinko ile eslesir. Uygun uyarı geldiğinde olgun moleküller plazma zarı ile kaynar ve içeriklerini hücre dışı siviya verir.

Insülin salgılanması enerji gerektirir. Insülin salgılanmasının en önemli fizyolojik düzenleyicisi plazma glukoz derisiminde artış olmasıdır (Murray ve ark. 1996).

Glukozun normal plazma düzeyi ~80-100 mg glukoz / dl' dir. Bundan daha düşük düzeylerde insülin salgılanması inhibe olur, daha yüksek düzeylerde ise uyarılır. ~400 mg glukoz/dl derisiminde insülin salgılanmasının en etkin biçimde uyarılır.

Birçok hormon insülin salgılanmasını etkiler. Adrenalin, insülin salgılanması glukoz tarafından uyarılmış olsa dahi, salgılanmayı inhibe eder. Büyüme hormonu, kortizol, östrojenler ve progesterinler ise, belki hücre içi c-AMP olusumunu hızlandırarak insülin salgılanmasını aktive eder (Murray ve ark. 1996).

Insülinin taşıyıcı bir plazma proteini olmadığı için kanda serbest olarak dolar. Bu nedenle plazmada yarılanma süresi 3-5 dakika gibi oldukça kısa bir süredir. Karaciğer, böbrekler ve plasenta başlıca metabolize olduğu organlardır.

Insülin karbohidrat metabolizmasında büyük öneme sahiptir. Karbohidrat metabolizması üzerindeki başlıca etkileri şunlardır.

- a) Hücrelerin glukozu karşı geçirgenliğini artırır ve glukozun değerlendirilmesi ve oksidasyonunu teşvik eder.
- b) Glukojen tesekkülünü uyarıcı etki yapar.
- c) Karbohidrat ara metabolizmasında yağ asidi ve protein olusumunu teşvik eder.

d) Glukoneogenezi önler (Ersoy ve Baysu 1986).

İnsülin dokularda glukoz kullanımını ve karacigerde yağ asidi sentezini arttırır. İnsülin eksikliğinde yağ metabolizması her yönüyle hızlanmakta ve bu olay diabette daha da belirginleşmektedir (Guyton ve Hall 1996).

Diabetes mellitus, bir hiperglisemi hastalığıdır. Kandaki glukoz düzeyi normalin üstündedir ve genelde 120 mg glukoz/dl den daha yüksektir. Burada;

1. Glukozun hücre dışı sıvılardan hücre içine geçişi kısıtlanmıştır.
2. Hücre içinde glukoz kullanma hızı artmıştır.
3. Karacigerde glukoneogenesis mekanizması hızlanmıştır (Celal 1993; Murray ve ark. 1996).

Yağlar ve karbohidratlarla birlikte proteinlerde depo edilmektedir. İnsülin salgısı azaldığında protein depolanması tamamen durmakta ve protein katabolizması hızlanmaktadır. Protein sentezinin durması ve aminoasitlerin hızlıca plazmaya boşaldığı bu durum diabetin en önemli etkilerinden biridir (Guyton ve Hall 1996).

İnsülin yokluğunda protein sentezi, kısmen amino asitlerin kasa taşınmasındaki yetersizlik nedeniyle azalır. Plazma yağ asitleri düzeyi yükselir. Karacigerde yağ asitlerini CO₂'e okside etme gücü azaldığından β hidroksibutirik asit ve asetoasetik asit (ketoz) birikir. Ortaya şiddetli bir metabolik asidoz çıkar.

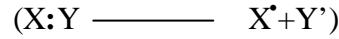
Kan ve idrarda normalden fazla keton cisimci bulunması sırayla ketonemi ve ketonüri yapar. Olayın tümüne ketozis denir. Asetoasetik asit ve β hidroksibutirik asidin her biri orta şiddette asitlerdir. Kanda bulduklarında tamponlanırlar. Öte yandan bunların sürekli olarak büyük miktarlarda atılması ketoasidoz vermek üzere bir tampon kaybına neden olur. Bu olaylar DM' da öldürücü olabilir (Murray ve ark. 1996).

2.3. Serbest Radikaller

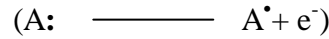
Kimyasal bağlar tek moleküler yörüngeyi paylasan ve bir birine zıt yönde dönen bir çift elektrondan oluşmuş kararlı yapılardır (Cheeseman ve Slater 1993). Serbest radikaller dış orbitalinde tek sayıda ortaklanmış elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişini sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış etkenlerin etkisi ile de oluşmaktadır. Yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşirler (Del Maestro 1991; Kehrer ve Smith 1994).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler

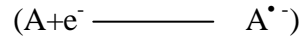
1. Homolitik parçalanma



2. Tek bir elektron kaybetme



3. Tek bir elektron alma



(Cheeseman ve Slater 1993).

Biyolojik sistemlerde radikal üretimi daha çok elektron transferi ile olmaktadır.

Serbest radikaller elektriksel olarak (+) yüklü (-) yüklü ve nötral olabilirler. Bir serbest radikal, radikal olmayan bir yapıyla reaksiyona girerse diğer bir serbest radikal oluşur. Serbest radikallerin bu özelliği onların zincir reaksiyonu oluşturmalarına imkan sağlar (Freemann ve Crapo 1982).

Bazı faktörler in vivo olarak radikal oluşumunu artırır. Bu faktörler :

1. Serbest demir ve bakır düzeylerinin artışı ile monosakkaritlerin indirgenmiş nükleotidlerin ve tiol, askorbat gibi indirgeyici ajanların

otooksidasyonu.

2. Hücrel indirgenler ile redoks çiftleri yapılabilecek ürünlerin birikimi.
3. Enzimatik sistemler ile ksenobiyotikler

Böylece radikal üretimi, bazı tip hücrelerin yüzeysel alanlarında olmakla birlikte en çok intrasellüler boşluklarda, örneğin endoplazmik retikulumda, lizozomlarda meydana gelmektedir (Wolff ve ark. 1986).

2.3.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Moleküler oksijenin canlılardaki toksik etkilerinin nedeni oksijen radikalleridir. Bu radikaller oksijene ihtiyaç duyan canlılarda, normal metabolik işlemler sırasında kaçınılmaz bir şekilde üretilmektedir. Bu nedenle normal metabolizma sırasındaki oksido-redüksiyonların ürünleri olan serbest oksijen radikallerinin oluşması, biyolojik bir bozukluk olarak değerlendirilmemelidir. Normal fizyolojik şartlarda oksijeni kullanan canlılar hücrel oksijenin % 98' ini sitokrom a₃'de kullanılmaktadırlar. Sitokrom a₃ mitokondride solunum zincirinin son basamağıdır. Böylece oksijen 4 elektron alarak indirgen hale gelir. Sitokrom a₃ tarafından kullanılmayan %1-2 oksijen ise tek yada çift elektron alarak ya süperoksit radikaline yada hidrojen peroksit indirgenir (Kilinç 1985; Köse ve Dogan 1992; Reither ve ark. 1993).

Oksijen atomu toplam sekiz elektron içerir. Bu elektronlar öyle dağılmıştır ki bunlarda dış yörüngede bulunan iki tanesi eslesmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir diradikal olarak değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer (çizelge 2.3.) (Freemann ve Crapo 1982).

Çizelge 2.3. Oksijen türevi bileşikler

RADIKALLER

Hidroksil (HO•)

Alkoksil (RO•)

Peroksil (ROO•)

Süperoksit(•O₂⁻)

Nitrik oksit (NO•)

Azot dioksit (NO₂•)

RADIKAL OLMAYANLAR

Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Singlet oksit (¹O₂)

Ozon (O₃)

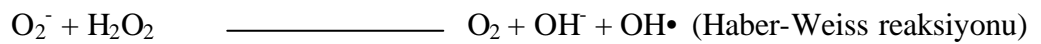
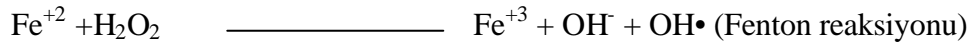
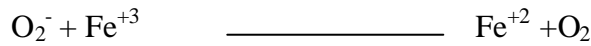
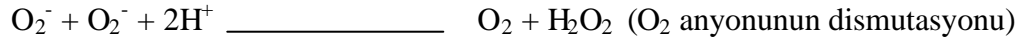
Hidroklorik asit (HOCl)

Lipit hidroperoksit (LOOH)

Peroksinitrit (ONOO⁻)

Oksijen molekülüne bir elektronun eklenmesi ile süperoksit radikali (•O₂⁻) meydana gelir. Bu radikal tiol veya askorbat gibi indirgen ajanlardan gelen elektronları da alarak peroksitlerine yıkılır (H₂O₂). Olusan bu peroksidin de bakır ve demir selatları ile reaksiyona girerek hidroksil radikaline (OH•) dönüştürüldüğü kanıtlanmıştır (Wolff ve ark. 1986).

Süperoksit anyonunun geçiş metallerinin katalitik etkisiyle son derece aktif hidroksil radikallerine dönüşebilmektedir (Haber-Weiss reaksiyonu). Süperoksit radikallerinin enzimatik yada spontan dismutasyonu ile olusan hidrojen peroksit de hidroksil radikallerinin üretilmesine olanak sağlamaktadır (Fenton reaksiyonu). Bu reaksiyonlar aşağıda gösterilmiştir (Köse ve Dogan 1992).



Serbest oksijen radikallerinin hepsi toksik etkilidir. Tüm hücresel yapılar ile irreversibl olarak hasar verecek şekilde etkileşim gösterir. Oksidatif stres adı verilen bu hasar, hücrede ciddi fonksiyon bozukluklarına, sonuçta da hücre ölümüne yol açabilmektedir. Bu duruma örnek olarak hipoksi, doku iskemi-reperfüzyonu ve inflamasyon verilebilir. Yaslanmayı açıklayan en geçerli teori de bu birikmiş oksijen radikallerinin organizmada yaptığı hasardır (Reither ve ark. 1993).

Süperoksit radikali: Normal şartlarda aerobik canlılarda olusan temel oksijen radikali süperoksit radikali (O₂⁻). Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile

meydana gelir. Bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi asil zarardan sorumlu değildir. Hidrojen perokside kaynaklık etmesi ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasından dolayı zararlıdır (Deby ve Pincemail 1988).

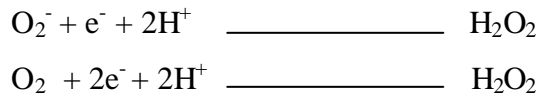
Süperoksit radikali;

1. Basta hem flavin veya demir sülfür merkezleri içeren proteinler olmak üzere pek çok enzimatik tepkimelerde
2. Bazı oksidaz ve hidroksilaz tepkimelerinde ,
3. Mitokondride elektron transportu sırasında,
4. Çeşitli biyolojik moleküllerin otooksidasyonunda,
5. Fagositozda

olduğu gibi hücrel metabolizmanın normal ürünü olarak sürekli üretilen bir oksijen metabolitidir (Kilinç 1986; Adachi ve ark. 1994)

Bazı koşullarda görünür bölge ışınları da dahil olmak üzere, özellikle bütün yüksek enerjili elektromanyetik dalgalarda oksijenli atomda süperoksit radikali oluştururlar (Erenel ve ark. 1993).

Hidrojen peroksit: Moleküler oksijenin 2 elektron alması veya süperoksit radikalının 1 elektron alması sonucu peroksit radikali oluşur. Peroksit radikali 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) meydana getirir (Barber ve Haris 1994; Akkus 1995). Ancak H_2O_2 'nin biyolojik sistemlerdeki asil üretim yeri süperoksit radikalının dismutasyonudur (Akkus 1995).



Hücrelerdeki en önemli üretim yeri mitokondridir. Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri içine girer çünkü en zararlı serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalını oluşturabilir. Geçiş metallerinin veya uygun selatların varlığında hidroksil radikali oluşturarak proteinleri parçalar veya

yapılarında değişikliklere yol açar (Akkus 1995; Barber ve Haris. 1994; Wolff ve ark. 1986). Katalizör metallerin yokluğunda ortamdan derhal uzaklaştırılır (Cheeseman ve Slater 1993). H_2O_2 , katalaz veya glutatyon peroksidaz enzimleri ile oksijen ve suya metabolize olmaya yatkındır. Bununla birlikte geçiş metallerinin varlığında (özellikle Fe^{+2}) hidroksil radikaline dönüşürler (Fenton reaksiyonu) (Reither ve ark. 1993).

Hidroksil radikali: Yarı ömrü çok kısa, çok reaktif ve çok kararsızdır. Olustugu yerde biyolojik hasar yapar. Lipitlere, proteinlere, nükleik asitlere karşı direk etki gösterip parçalanmalar ve modifikasyonlara neden olarak sonuçta onarılmaz hücre hasarına neden olur (Bingöl ve ark. 1993; Richard ve ark. 1991; Wolff ve ark. 1986).

Bu hasarları da üç şekilde gerçekleştirir.

1. Proteinler ve lipitler arasında çapraz bağlar oluşturma
2. Proton çıkarma
3. Elektron transferi

Perhidroksil radikali (HO_2^{\cdot}): Düşük pH değerinde süperoksit protonlanarak daha reaktif bir ürün olan perhidroksil radikalini oluşturur. Ancak bu pH'da %1 den azdır (Cheeseman ve ark. Slater 1993).

Perferil radikali: Süperoksit radikalinin Fe^{+3} 'ü redüklemesi ile oluşur. Ara üründür. Biyolojik sistemlere zarar verir (Halliwell ve Chirico1993).

Nitrik oksit (NO^{\cdot}): Nitrik oksit sentetaz aracılığı ile argininden meydana gelir. Antiagregan, antiproliferatiftir.

Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$): Süperoksit anyonu nitrik oksitle reaksiyona girerek peroksinitriti oluşturur. Hem $-SH$ gruplarının güçlü oksidanidir, hem de OH vermek için parçalanabilir (Reilly ve ark. 1991).

Alkoksil radikali (RO[•]): Peroksil radikalinden bir oksijen atomunun çıkarılması sonucu oluşur (Cheeseman ve Slater 1993).

Thiyl radikali (RS[•]): Hidroksil radikalının tioller ile reaksiyona girerek bir proton koparması sonucu merkezinde sülfür atomu içeren bu radikal oluşur (Cheeseman ve Slater 1993).

Sülfonil radikali (RSO[•]): Thiyl radikallerinin oksijen ile reaksiyonu sonucu oluşur (Akkus 1995).

Thiyl Peroksil radikali (RSO₂[•]): Sülfonil radikalleri oksijenle tekrar reaksiyona girerek Thiyl Peroksil radikalini meydana getirir (Akkus 1995).

Singlet oksijen (¹O₂): Ortaklaşmamış elektronu içermediği için radikal olmayan aktif bir oksijen molekülüdür. Serbest radikallerin reaksiyonu ile oluşabileceği gibi serbest radikallerin oluşmasına da sebep olur. Oksijen molekülü tarafından absorbe edilen enerjinin elektronlarda yeniden bir düzenleme yapması ile oluşur. Dis orbitaldeki elektronların spinleri zıt yöndedir. Singlet oksijen uyarılmış elektronların daha düşük enerji seviyelerine inmesi ile ışık yayar (Akkus 1995; Kiliç 1986).

Lipit peroksidasyonu sırasında Peroksil radikalleri birbirleri ile çaprazlaşarak küçük miktarlarda singlet oksijen meydana getirebilir. Bu da daha fazla peroksit üretimine neden olur.

Singlet oksijen bazı bileşiklerin oksijen varlığında ışığa maruz kalmaları ile oluşur. Böyle fotosensitize edici ajanlar arasında boyalar (eozin), bazı ilaçlar (tetrasiklinler) ve insan vücudundaki bazı maddeler (porfirinler, riboflavin, bilirubin) gelir (Halliwell ve Chirico 1993).

2.3.2. Serbest radikal kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu normal metabolik olayların seyri sırasında meydana gelebildiği gibi çeşitli dış etkenlerle de meydana gelebilmektedir.

2.3.2.1. Endojen serbest radikal kaynakları

- a) Mitokondrial elektron transportu
- b) İskemi reperfüzyon olaylarında ksantin oksidoredüktazi
- c) Aktive olmuş fagositler
- d) Eser elementlerin varlığında meydana gelen Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları (Kilinç 1986).

2.3.2.2. Ekzojen serbest radikal kaynakları

Diyetsel, çevresel ve ilaçlar olmak üzere 3 gruba ayrılır.

Demir ve bakır içeriğinde artmış, canlıda Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarını hızlandırır. Gıdaların uygun olmayan şartlarda saklanması radikal reaksiyonları oluşturur.

Fazla ve uzun süreli alkol alımı karaciğerde serbest radikal oluşumuna neden olur. Sigara dumanı çeşitli radikallerin oluşumuna neden olup, organizmanın antioksidan kapasitesini azaltır.

Ozon, azotdioksit, kükürt dioksit, hidrokarbonlar, asbest, böcek ilaçları radikal kaynaklarıdır (Kilinç 1986).

2.3.3. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller hücrede lipit, protein, DNA, karbohidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlere etki eder. Mitokondrideki oksijenli solunumu, kapillerdeki

permeabiliteyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır. Proteaz, fosfolipaz, esteraz, siklooksijenaz gibi litik enzimleri aktifleştirirken antitripsin gibi bazı savunma sistemlerini inaktive eder (Akkus, I. 1995). Serbest radikaller bu etkilere ancak antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini astıkları zaman neden olurlar (Cheeseman ve Slater 1993).

2.3.3.1. Membran lipitlerine etkileri (Lipit peroksidasyonu)

Lipit peroksidasyonu, membranda bulunan poliansatüre yağ asitlerinin süperoksit radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur (Köse ve Dogan 1992). Bu olay poliansatüre yağ asitlerinin alfa-metilen guruplarının hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla başlamaktadır (Akkus 1995; Wolff 1986).

Hidrojen atomu tek bir proton ve tek bir elektrona sahiptir. Biyolojik molekülden hidrojen atomunun çıkarılması, molekülden hidrojen atomunun önceden bağlanmış olduğu eslenmemiş bir elektron bırakır. Hidroksil gibi yüksek aktifliğe sahip radikaller, bu hidrojeni kopararak biyolojik moleküllere zarar verirler. Böylece lipit peroksidasyonu başlar (Köse ve Dogan 1992). Hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla yağ asidi lipit radikali halini alır. Moleküllerin oksijenle birleşme sonucunda lipit peroksil radikalleri ortaya çıkar. Bunlarda yeni lipit radikalleri oluştururken kendileri lipit hidroksi peroksitlere dönüşür. Bu yapı yıkılarak aktif yapılar olan aldehit ve karbonil bileşiklerine dönüşürler. Üç ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda malondialdehit (MDA) oluşur. MDA, çapraz bağlanma ve polimerizasyona sebep olabilir. Sonuçta iyon transport bozuklukları, enzim bozuklukları, hücre bileşenlerinin agregasyonu ortaya çıkar (Halliwell ve Chirico 1993).

MDA miktarı, tiyobarbitirik asit testi ile ölçülebilmektedir. Lipit hidroperoksitlerin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve propan gibi gazların tayininde son yıllarda lipit peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Esterbauer 1982).

2.3.3.2. Proteinlere etkileri

Proteinlerin serbest radikaller tarafından etkilenme dereceleri, oluştukları aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür taşıyan moleküllerin serbest radikallere daha duyarlı olması nedeniyle triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, methionin ve sistein gibi amino asitlere sahip olan proteinler daha kolay etkilenirler. Proteinlerde kırılma, çapraz bağlama, agregasyon görülür. Böylece görevlerini yerine getiremezler (Akkus 1995).

Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkileri çok güçlü olmadıkça hasar yapabilme aktiviteleri oldukça düşüktür. Radikaller eğer hücre içinde birikiyorsa tehlikelidir (Akkus 1995). Albumin ve immünoglobülin gibi fazla sayıda disülfid bağ taşıyan proteinlerin radikallerden daha fazla etkilendiği görülmüştür. Sülfür ve karbon merkezli radikaller meydana geldiği görülür, proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur ve fonksiyonlarını yerine getiremezler (Freeman ve Crapo 1982).

Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli derecede etkilenmektedir. Özellikle oksihemoglobin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu sonucunda methemoglobin oluşur (Akkus 1995).

2.3.3.3. Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

Serbest radikaller DNA'yi etkileyerek hücrede mutasyonlara yol açar. Hidroksil radikalleri DNA bazları üzerinde irreversibl değişimlere neden olur. Bunlardan en önemlileri timin ile hidroksil radikallerinin oluşturduğu ürün ve guanin ile hidroksil radikalının oluşturduğu üründür. Bu ürünler onarım enzimleri ile elimine edilir ve idrarla atılır (Maxwell 1995).

2.3.3.4. Karbohidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere

bağlanabilme, aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterir. Bu nedenle kanser ve yaşlanma olaylarında önemli faktörlerdir (Akkus 1995).

Yine süper oksit ve hidrojen peroksidin in vivo olarak hyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (Maxwell 1995).

2.3.4. Serbest radikaller ve diyabet

Diyabette serbest radikal üretiminin artışı, antioksidan ve savunma sisteminin yetersizliği, proteinlerin glukozunu, özellikle kontrolsüz diyabetlerde ateroskleroz, retinopati, nefropati, nöropati gibi komplikasyonlara neden olur (Kalak ve ark. 1996).

Serbest radikaller diyabetin komplikasyonlarında olduğu kadar diyabetin oluşmasında da etkilidir. Serbest radikallerin etkisiyle oluşan β -hücre hasarı tip1 diyabete yol açar. Diyabetin başlamasında oksidasyonun rol aldığına dair bulguların çoğu deney hayvanlarında diyabet oluşturan iki ilaç olan alloxan ve streptozotosin (STZ) ile yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Bu iki madde deoksidan madde oluşturarak Langerhans adacıklarını tahrip eder. Alloxan intrasellüler redükthanlar olan askorbat ve tiyoller ile reaksiyona girerek onların antioksidan etkilerini engeller ve oksidan üretimine sebep olur. STZ' nin etki mekanizması ise daha az anlaşılmıştır (Wolff 1993).

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere antioksidan savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikallerle antioksidanlar arasında bir denge olmadığı takdirde hücre ölümüne kadar ulaşan bir çok patolojik değişiklik ortaya çıkar.

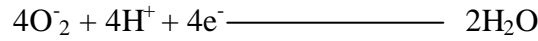
2.4.1. Endojen antioksidanlar

2.4.1.1. Enzimler

Mitokondrial sitokrom oksidaz: Solunum zincirinin son basamağında bulunan, bakir içeren bir hemoproteindir. Elektron taşıma zincirindeki görevine ek olarak süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlar (Mayes 1990).

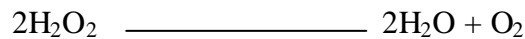
Süperoksit dismutaz: Süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür. Süperoksit dismutazla (SOD) katalizlenen reaksiyonların hızı kendiliğinden gerçekleşen reaksiyonların 4000 katıdır (Royson 1988; Yalçın 1998)

Sitokrom oksidaz: Mitokondride, solunum zincirinin en son basamağında bulunan ve bakir içeren bir enzimdir. Süperoksit radikalının suya dönüşümünü sağlar.



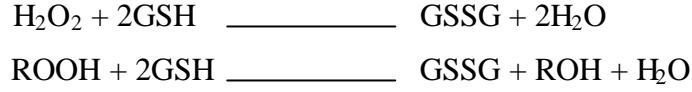
Ancak süperoksit radikalının oluşum hızı enzim kapasitesini aştığı için diğer enzimlerinde süperoksit radikalının zararlı etkilerini yok etmek için çalışması gerekir (Yalçın 1998).

Katalaz: Dört adet hem grubu içeren bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalizedir. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya parçalar.

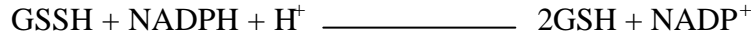


Peroksidaz aktivitesi de bulunmaktadır. Hidrojen peroksit, metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki eder ancak lipid peroksitlerine etki etmez (Royson 1988; Yalçın 1998).

Glutasyon peroksidaz: Yaklaşık 85000 dalton ağırlığında aktif bölgesinde tetramerik 4Se (Selenyum) atomu içeren sitolojik bir enzimdir. Redükte glutasyon varlığında (GSH) hidrojen peroksit ve lipit peroksidlerin indirgenmesinde rol alır.



Glutasyon peroksidazin (GSH-Px) iki substratı vardır. Substratlardan biri olan peroksidler alkolle indirgenirken, diğer substrat olan glutasyon (GSH) yükseltgenir. Oluşan yükselt genmiş glutasyon (GSSH), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutasyona dönüşür (Royson 1988; Yalçın 1998).



Glutasyon-S-Transferaz(GST): Dimerik yapılı, sitozolde yer alan bir enzimdir. Çok sayıda izoenzimi vardır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda çok önemli rolleri olan GSH-transferazlar çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin glutasyonla kojugasyonunu katalizler (Yalçın 1998).

2.4.1.2. Lipit fazda bulunanlar

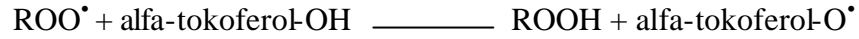
E vitamini: Tokoferol yapısında ilk olarak Evans ve Bishop tarafından 1923 yılında tamamlanmış, daha sonra kimyasal yapısı aydınlatılmıştır.

E vitaminleri 8 adet doğal olarak mevcut tokoferollerdir. Bunlardan a-tokoferol en aktif olanıdır. Başlıca fonksiyonları; hücre membran fosfolipitlerini de serbest radikallerin oksidasyonlarından korumaktır. Zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir (Akkus 1995)

Isiya dayanıklıdır. Dondurma ve kızartma ile önemli ölçüde tahrip olurlar (Sencer 1991).

Diyetsel en önemli kaynaklar bitkisel yağlar ve tohumlardır. Günde ortalama 5-10 mg kadar E vitamini alınmalıdır. Sindirim yoluyla emilmesi için yağ emilimi ve safra asitlerinin normal olması gerekir. Pasif difüzyonla alınır. Eksikliği nadir görülür.

Lipit peroksit radikali (ROO^{*}) Parçalayarak lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırır.



Oluşan tokoferoksil radikali glukronik aside konjuge edilerek safra yoluyla atılır. E vitamini okside olduktan sonra askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenmektedir. Glutatyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitaminin emilimi için selenyum gereklidir. E vitamini ise selenyum kaybını önleyerek veya onu aktif tutarak selenyum ihtiyacını azaltır (Kayaalp 1989).

Karotenoidler ve Retinol: Bitkilerde karotenoidler, hayvanlarda ise retinol esteri bulunur. Isiya dayanıksızdır. Et, balık, karaciğer, havuç, domates, yeşil yapraklı bitkiler, portakal gibi narenciyelerde bol miktarda bulunur. Retinol bağırsaklardan tamamen emilmesine rağmen karotenoidlerin yaklaşık 1/3 kadarı absorbe edilir (Sencer 1991).

Karotenoidlerden başlıcası, A vitaminin öncül maddesi olan beta-karotendir. Beta karotenin singlet oksijeni baskılama, süperoksit radikalini temizleme özelliklerine ek olarak peroksit radikali ile etkileserek antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Antikanserojenik ve antiarterosklerotik olduğu gösterilmiştir (Frei 1994; Niki 1987).

Ubikinonlar: Lipitlerde çözünen ve izoprenoid taşıyan kinon türevleridir. Soya yağı, et, balık gibi besinlerde ve bazı sebzelerde bulunur. İndirgenmiş şekilleri olan ubikinoller, ubikinonlara kıyasla antioksidan olarak çok daha etkilidirler.

İnsanda bulunan temel ubikinon, koenzim-Q'dur. Esas görevi olan solunum zincirindeki redoks taşıyıcılığının yanında ,oksijen kaynaklı radikaller ve tekil oksijen ile etkileserek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin hasar görmesini engeller (Frei 1994).

Flavonoidler: Bitkilerdeki kırmızı, sarı ve mavi renk pigmentlerini, oluşturan polifenollerdir. Başlıca; elma, portakal, limon gibi meyveler; patates, karnabahar gibi sebzelerde bulunur. Çay gibi bitkisel kaynaklı içeceklerde yer alırlar. Flavonoidlerin farklı yollarla lipid peroksidasyonunu engellediği belirlenmiştir.

- 1- Peroksidasyonu başlatan radikalleri tutar.
- 2- Metal iyonlarını bağlar.
- 3- Radikal oluşturuvcu enzimleri inhibe eder.

Ancak bazı flavonoidlerin metal iyonlarıyla bağlanarak pro-oksidan etki yaptığı saptanmıştır (Niki 1987).

Melatonin: En zararlı radikallerden hidroksil radikalini ortadan kaldıran güçlü bir antioksidandır. Melatonin hidroksil radikalleri ile reaksiyona girdikten sonra indolil katyon radikaline dönüştüğü ve bu radikallerinde süperoksit radikalini tutarak antioksidan etki yaptığı bildirilmiştir. Diğer bir önemli özelliği lipofilik olmasıdır. Böylece hücrenin bütün önemli organellerine ve çekirdeğine ulaşır gibi kan-beyin engelini de kolayca geçer. Melatonin'in yüksek dozda ve uzun süreli kullanımında bile toksik etkisi görülmemiştir. Ayrıca bazı antioksidanlar gibi prooksidan aktivitesinde yoktur (Niki 1987).

Bilirubin: Ankonjuge bilirubin, dolayında albümine bağlanır ve albümine bağlı yağ asitlerini lipid peroksidasyona karşı korur (Halliwell ve Gutteridge 1990). Antioksidan aktivitesi düşük oksijen konsantrasyonunda artar.

2.4.1.3. Sıvı fazda bulunanlar

C vitamini (askorbik asit): Suda eriyen güçlü bir antioksidandır. İnce bağırsakta kolayca emilir. C vitamini ışık, ısı, bakır varlığı ve özellikle alkali

ortamlarda kolaylıkla okside olur. Arterioskleroz, iskemik kalp hastalığı ve kansere karşı koruyucu etkisi olduğunu gösteren çalışmalar vardır.

Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girer ve ortamdaki uzaklaştırır. Tokoferoksil radikalının alfa-tokoferole indirgenmesini sağlar.

Süperoksit radikali gibi ferri demiri ferro demire indirgeyen ikinci bir sellüler ajandır. Bu nedenle peroksidan olarak değerlendirilir. Antikanserojen etkisi gösterilmiştir (Block 1991).

Ürik asit: Normal plazma konsantrasyonunda hidroksil, süperoksit, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler, bakır ve demir iyonlarıyla oluşan oksidasyona karşı selat yaparak C vitaminin oksidasyonunu engeller (Akkus 1995). Hemoglobin ve eritrositleri peroksidatif hasara karşı korur (Kayaalp 1997).

Transferrin: Vücutta demir taşıyan proteindir. Bağlı demir, hidroksil radikali oluşumunu veya lipid peroksidasyonunda rol alamaz (Frei 1994; Halliwell ve Gutteridge 1990)

Ferritin: Dokuda demir bağlar.

Albumin: Plazmanın zincir kirici antioksidan aktivitesine yol açan plazma sülfidril gruplarının komponentidir. Plazmada hipokloröz asidin güçlü bir temizleyicisidir (Frei 1994; Yalçın 1998).

Glutasyon: Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşmuştur. –SH gruplarını redükte halde tutarak, fonksiyonel protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (Frei 1994).

2.5. Böbrek Anatomisi

İnsan böbreği 130-150 gr ağırlığında, karin boşluğunun arka üst tarafında yerleşmiş bir çift organdır. Yaklaşık 11 cm uzunluğunda, 5.5-6 cm genişliğinde, ön-arka kalınlığı ise 3-3.5 cm olan bir organdır. Önde on ikinci torakal vertebranın yan tarafından başlayarak aşağıda 3. lumbal vertebra hizasına kadar uzanırlar. Sağ böbrek sola göre 1.5 cm aşağıda bulunur (Arıncı 1993; Sarsılmaz 2000).

Böbrek içten dış doğru kapsül fibrosa, kapsül adiposa ve fasiya renalis ile sarılıdır.

Frontal kesiti yapıldığında medulla renalis ve korteks renalis olmak üzere iki kısımdan oluştuğu görülür.

Medulla renalis, en içte yer alan sinüs renalis ile distal korteks renalis arasında yer alır. 12 adet piramides renalisten oluşur. Piramitler tabanlarıyla korteksi desteklerken mediale doğru uzanarak tepeleriyle papilla renalis meydana getirirler.

Korteks renalis ise renal pramitlerin tabanı ile böbrek kapsülü arasındaki dış kısımdır (Sarsılmaz 2000).

Böbreğe ven, arter ve sinirlerin giriş çıkış yaptığı konkav olan kısma ise hilus renalis denir.

Böbrekler abdominal aortanın bir dalı olan arteriya renalis tarafından beslenir. Her bir arteriya renalis bes adet arteriya segmentalise, segmentel arterler ise arteriya lobarislere ayrılarak her bir tanesi bir renal pramite gider. Renal pramitlerin her iki yanından geçen arteriya interlobarisler kortekse doğru ilerler. Böbreğin venleri ise hilus renalisde bulunur, vena kava inferiora dökülür.

Böbreğin parasempatik sinirleri nervus vagustan, sempatik sinirleri ise nervus splanknikus, minör ve minimus aracılığıyla gelir (Snell 1998).

2.5.1. Böbregın fonksiyonel anatomisi

Nefron: Her bir böbrekte 1-1.5 milyon nefron bulunur. Nefron böbregın en küçük fonksiyonel ünitesidir. Glomerül, proksimal tubül, henle kulpu, distal tubül ve toplayıcı kanaldan oluşur. Toplayıcı kanallar birleşerek renal kaliksleri meydana getirir (Noyan 1998).

Glomerül: Değişik hücrelerden oluşmuş özelleşmiş bir kapiller ağıdır. Tek sıra halinde bulunan endotel hücreleri birbirleriyle temas halinde olmasına rağmen birçok por içerir. Kapiller kan ve glomerüler filtrat arasında bulunan bazal membran, plazmanın serbest geçişine izin verir. Bazal membran yetişkinlerde 300 nm kalınlığındadır.

Bowman kapsülünü oluşturan hücrelerin ahtapot benzeri yapıları mevcuttur. Hücreler arasında 60 kD'luk filtrasyon yarıkları bulunur. Bu yarıklardan proteinler geçemez. Molekül ağırlığı 60 kD'den daha küçük olan proteinlerin geçişi yüklerine ve şekillerine de bağlıdır.

Glomerüllerin son hücresel komponentleri olan fagositler sentezledikleri bir matriks içerisinde yüzen mezensiyal hücrelerdir (Noyan 1998).

Glomerüllerde günde 180 L plazma ultrafiltratı oluşturulur. Bu filtrat içeriği plazma proteinleri hariç kana benzer.

Proksimal Tubül: Bowman kapsülü, proksimal tubülün başlangıcını oluşturur. 70 µm'lik dış çapı 15 mm'lik uzunluğu vardır. Tubülü oluşturan epitel hücreler yüzey alanını genişletmek için milyonlarca mikrovillüse sahiptir. Proksimal tubül, glomerüler filtratın % 60-80'ninin, süzülen sodyumun ve klorun % 70'inin, potasyum, glukoz, bikarbonat, fosfat ve sülfatin çoğunun ve hidrojen iyonunun %90'inin geri emildiği bölümdür (Noyan 1998).

Proksimal tubülde glomeril filtrattaki suyun % 60-70'i , organik maddelerin % 99-100'ü, Na⁺ ve Cl⁻'un % 60-70'i geri emilir.

Henle Kulpu: Inen ince, çıkan ince ve çıkan kalın olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Inen ince kısmın hücreleri çıkan ince kısmın hücreleri benzerdir; ancak su geçirgenliklerinde farklılıklar vardır. Çıkan kalın kısmın son parçası glomerül, afferent ve efferent arteriol ile ilişkilidir. Buradaki özel hücrelere ise makule densa denir.

Henle kulpunda orijinal filtrattaki suyun % 25'i Na⁺ ve Cl⁻'un % 20-25'inin geri emilimi yapılır (Noyan 1998).

Distal tubül: Makula densadan başlayan toplayıcı kanal sistemidir. Na, K, ATPaz ve karbonik anhidraz aktivitesi vardır. Distal tubülde Antidiüretik hormon (ADH) aracılığıyla suyun ve aldosterona bağlı Na⁺ iyonunun geri emilimi yapılır (Noyan 1998).

Toplayıcı Kanallar: Kortekste sekiz distal tubül birleşerek medullaya iner, en alt kısımda böbrek papillasinin ucundan pelvise açılır. Bu tubüllere toplayıcı kanallar denir. Toplayıcı sistemde ADH aracılığıyla suyun aldosteron aracılığıyla Na⁺'un geri emilimi yapılır (Noyan 1998).

Üreter: Böbrekten aşağıya uzanan iki adet tüldür. Yaklaşık 25 cm olup üç yerde darlık gösterir. Peristaltik hareketlerle idrar aşağıya akar (Snell 1998).

2.5.2. Böbreğin endokrin fonksiyonları

Böbrekler eritropoietin, renin ve prostoglandinleri (PG) üreten endokrin fonksiyonlu organlardır. Baska hormonlar da böbrekleri etkiler. İnsülin ve aldosteron gibi hormonlar da böbrekte yıkılır. D vitamininin aktif hale gelmesi için iki kez hidroksillenmesi gerekir. İlk hidroksilasyon karacigerde gerçekleşirken ikincisi böbrekte yapılır (Noyan 1998).

2.5.3. Diabette böbrekler

Diabetik nefropati, diabete özgü böbrek hastalığını tanımlayan bir terimdir. Kronik dönemde ortaya çıkar. Diabetteki ölüm nedenleri arasında miyokard enfarktüsünden sonra ikinci sırada böbrek yetmezliği gelir (Cho ve ark. 2002). İnsüline bağımlı diabetes mellituslu hastaların % 30-35'inde, insüline bağımlı olmayan diabetes mellituslu hastaların % 15-20'sinde diabetik nefropati gelişir (Akpolat ve ark. 2000).

Diabetik nefropati (DN), artan sayıda hastanın son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) geliştirmesinden dolayı önemli bir sağlık sorunudur. ABD'de yeni gelişen SDBY'nin %40'ini DN oluşturmaktadır. Tanım olarak DN, diğer böbrek hastalıkları olmadan, diyabetli bir hastada sürekli idrar albümin çubugunun pozitif olması veya günde 300 mg'dan fazla albüminin bulunmasıdır. DN, diyabetin geç bir bulgusu gibi görünmekle beraber, DN'den önce fizyolojik, patolojik ve klinik belirtiler olur. Bu durum bazı araştırmacıların DN'yi aşamalar şeklinde düşünmelerine neden olmuştur (Mogensen ve ark. 1983).

Tip 1 ve Tip 2 DM'de böbrek lezyonlarının patolojisi benzer olmakla birlikte Tip 1 DM'de nefropatinin gelişmesinde ve ilerlemesinde hipergliseminin payı büyüktür ve genellikle hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar, nefropati geliştikten sonra oluşur (Kurt ve ark. 2004., Parving ve ark. 1996).

Tip 1 DM'li hastalarda kan glukozu başarılı bir pankreas transplantasyonu sonrasında normal seviyeye getirildikten 10-15 yıl sonra nefropatinin gerilediği görülmüştür (Fioretto ve ark. 1998.).

Diabetik nefropatide morfolojik olarak, glomerül bazal membranlarında, tübül bazal membranda ve Bowman kapsülünde kalınlaşma, mezangial matrikste genişleme ve glomerüler filtrasyonda değişiklikler görülür. Mezansimal hücrelerde hipertrofi olur. Hipertrofik mezansimal hücreler ekstrasellüler matriks üretimini belirgin olarak artırır. Ayrıca, afferent ve efferent arteriyollerde hızlıca hiyalin

kalinlaşma oluşur. Glomerüllere düşen mezansimal hacmin artması sonucunda, glomerüller kapiller yüzey alanı azalır (Friedman 1996). Bu patolojik değişiklikler olurken, filtrasyon alanında ve nefron kitlesinde azalma, kalan nefronlarda daha yüksek kapiller akıma neden olur. Böylece intraglomerüler HT, hiperfiltrasyon ve bazal membrandaki selektif geçirgenlikteki değişiklikler ile hızlanan ilerleyici proteinüri oluşur (Phillips ve Steadman 2002; Kurt ve ark. 2004.)

İkinci mekanizmada ise glikotoksisite ve hemodinamik stres hücresel fonksiyonu değiştirerek poliöl yolunda aldoz redüktaz yönünde artma oluşturur. Sinir, glomerül, lens ve retina gibi insüline bağlı olmayan dokularda hücre içi glukoz seviyesi hiperglisemiye bağlı olarak yükselir. Poliöl yolunun en önemli enzimi olan ve bu yolun aktivitesini sınırlayan aldoz redüktaz enzimi glukozu sorbitole dönüştürürken, diğer bir enzim olan sorbitol dehidrogenaz, sorbitolu fruktoza çevirir. Sorbitol hücre zarını geçemediğinden hücre içinde birikir. Sorbitol birikimi, ozmotik etkilerle primidin nükleotidlerinin redoks durumunu değiştirerek (NADH/NAD⁺ oranında ve protein kinaz C' de artış) hücre içi miyoinositol seviyelerini azaltır. Bu durum doku hasarına neden olur.

Yapılan birçok hayvan çalışmasında; miyoinositol seviyesinin azalması sonucu Na⁺/K⁺ ATP'nin inhibisyonu ve intraselüler Na⁺ artışına ikincil sinir iletim hızının yavaşladığı görülmüştür. Glukoz, proteinlerin amino gruplarına nonenzimatik olarak bağlanarak "schiffbase" ürünleri oluşturur. Saatler içerisinde bu ürünler kan glukoz konsantrasyonuna uygun olarak belirgin bir seviyeye ulaşır. Sonrasında daha stabil erken glikasyon ürünleri (EGÜ) oluşur. Hiperglisemiye uzun süreli maruz kalma kollajen, intraselüler proteinler ve nükleik asitler gibi stabil makro moleküllerde kümülatif ve giderek artan tarzda irreversible değişikliklere neden olur. EGÜ, ileri glikasyon ürünlerini (IGÜ) oluşturmak üzere birleşirler. Makrofajlar, endotel hücreleri ve mezansimal hücrelerde spesifik IGÜ reseptörleri saptanmıştır. IGÜ, reseptörüne bağlanması sonucunda serbest oksijen radikallerini ortaya çıkarırlar. Damar duvarında çapraz bağlanma yaparak yıkıma daha fazla direnç kazanırlar ve bazal membran kalınlaşmasına yol açarlar (Kurt ve ark. 2004.)

Diabette renal tutulmanın en erken belirtisi glomerül filtrasyon hızı ve böbrek büyüklüğünde artıştır (Erek 1995). Diabetli çocukların çoğunda tanıdan 10 yıl sonra glomerül filtrasyon hızı ve renal plazma akımında artış bulunur. Renal hiperfiltrasyon sonucu Albumin atılımında artış görülür. Ergenlik çağlarında mikroalbuminüri oranı % 10-20 civarında, bazı serilerde ise daha düşük oranda bildirilmektedir (Drummond ve Maner 2002).

Böbrek hasarına yol açan baslıca risk faktörleri genetik ve irksal etkiler, hipertansiyon, beslenme ve lipid düzeyleri, kötü glisemik kontrol ve sigaradır (Saka 2003).

Diabetik nefropatinin önlenmesi için;

a. Kan şekerinin düzenlenmesi

b. Kan basıncı kontrolü

c. Diyetteki protein miktarı

d. Diğer: Diğer tedavi yöntemleri arasında sodyum ve fosfor kısıtlanması, fosfor bağlayıcı ajanlar, radyo kontrast maddelerden kaçınmak veya öncesinde hastayı iyi hidrate etmek sayılabilir. SDBY’de ise hemodiyaliz, sürekli ayaktan periton diyalizi, böbrek ve pankreas transplantasyonu yapılabilir (Kurt ve ark. 2004.)

2.5.3.1. Diabetik nefropatinin evreleri

1) Hipertrofi ve hiperfonksiyon: Böbrekler büyüktür ve glomerüller filtrasyon değeri artmıştır. Hipergliseminin kontrolü ile bu durum düzeltilir (Akpolat ve ark. 2000).

2) Sessiz evre: İdrarda albumin atılımının normal (0-30 mg / 24 saat) olduğu normal albuminüri evresidir. Histopatolojik olarak bazal membranlarda kalınlaşma ve mezengial genişleme olabilir (Akpolat ve ark. 2000).

3) Gizli diabetik nefropati: Mikroalbuminüri evresidir. İdrarda albumin atımı 30-300 mg / 24saat arasındadır. nefropatinin ilerlemesinin durdurulabileceği hatta

geriye döndürülebileceği başlangıç dönemidir. Kan basıncının bu dönemde yükselmeye başladığı gösterilmiştir .

4) Asikar diabetik nefropati: Proteinürinin klinik testlerle tespit edilebildiği ve glomerüler filtrasyon değerinin azalmaya başladığı klinik nefropati evresidir.

5) Son dönem böbrek hastalığı: Kronik böbrek yetmezliği vardır. Diyaliz veya böbrek nakli şarttır (Akpolat ve ark. 2000).

2.6. Streptozotosinin Yapısı ve Etki Mekanizması

Formülü $C_8 H_{15} N_3 O_7$ olan streptozotosin moleküler ağırlığı 265.2 dalton olup streptozosin olarak da adlandırılır. Beyaz ve açık sarı arasında değişen sarı renkli bir tozdur. Anhidre olarak $115^{\circ}C$ 'de bozunur. Maddenin potansiyel kanserojen, mutajen ve toksik özelliği olduğu bilinmektedir. Donmuş olarak hava ve nemden korunarak muhafaza edilirse aynı anomerik oranı ve saflık derecesini aylarca koruyabilir. Streptozotosin; suda, alkollerde ve ketonlarda çözünür. Hazırlanan solüsyonlar, bileşik kararsız olduğundan dolayı günlük olarak hazırlanmalıdır (Kayaalp 1997).

Bir streptomyces türünden veya sentetik yollardan elde edilen bir antibiyotik olan streptozotosin, pankreasın beta (β) hücrelerini selektif bir şekilde ve irreversibl olarak tahrip eder. İnsülinoma tedavisinde kullanılabilir. Belirgin hepatotoksik ve nefrotoksik etkisi nedeniyle revaç bulmamıştır. Laboratuvar çalışmalarında intravenöz verilerek deneysel diyabet modeli oluşturmak için kullanılabilir. Pankreas üzerinde STZ benzeri etki gösteren alloksan da deneysel diyabet modeli oluşturmak için kullanılabilir (Kayaalp 1997).

Deney hayvanlarında streptozotosinin veya alloksanın kullanılması, β hücrelerinin tahribine, insülin üretiminin veya salgılanmasının durmasına yol açar. Çeşitli hayvan nevelerinin alloksana karşı duyarlılıkları farklıdır. Mesela, siçanlar çok duyarlı oldukları halde kobaylar nispeten duyarsızdırlar. Streptozotosin ise genel kullanıma uygundur (Ersoy ve Baysu 1986)

2.7. *Trigonella foneum graecum* L.

Fabacea familyasına ait olan *Trigonella foneum graecum*, Türkiye’de Trakya, Marmara, Orta, Güney ve Güneydogu Anadolu’da yetisir. Hindistan’da, Güney Afrika’da ve Akdeniz ülkelerinde kültürleri yapilir. Tek yıllık bir bitkidir. Yaprakları üç parçacikli, çiçekler ise yaprakların koltugunda ve tek basindir (şekil2.5.) (Alhabori ve Raman, 1998).



Şekil 2.5. *Trigonella foneum graecum* L.

Kullanılan kısımları tohumlarıdır (şekil 2.6.). Bazı ülkelerde yeşil yaprakları da ıspanak gibi tüketilmektedir. Acımsı ve aromatikdir. Esansında 40 çeşit madde bulunur. Kullanımı çok eskilere dayanmakta olup günümüzde Ortadoğu ve Hint mutfagında kullanılmaktadır. Olgun meyveler toplanır, güneşte kurutulduktan sonra, sopa ile dövülerek tohumlar meyvelerden dışarı çıkarılır. Tohumlarında müsilaj, uçucu yağ ve sabit yağ, alkolit, kolin, rutin gibi maddeler vardır. Eski devirlerde Asya memleketlerinde şehvet artırıcı ve harplerde cesaret verici olarak çok kullanılırdı. Bugün tıbbi müsilajdan dolayı, yumuşatıcı ve balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır. Kuvvet verici ve istah açıcı olarak, rasisizm, diabet, tüberküloz ve kansizliklerde da kullanılmaktadır.



Sekil 2.6. *Trigonella foenum-graecum* L. tohumları

Bitkinin kan şekeri ve kolesterolü düşürücü etkisinin olduğu, kanda lipid peroksidasyonunu engellediği deneylerle gösterilmiştir (Baytop, 1984, Bordia ve ark. 1997)

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlari

Deneylerimizde kullanılan 200-250g'lik Wistar Albino cinsi erkek siçanlar Elazig Veteriner Kontrol ve Arastirma Enstitüsü'nden temin edildi. Havalendirma ve isitma tertibati bulunan odada, özel olarak hazirlanmis plastik kafeslerde yetistirilmistir. Kafeslerde bakima alinan hayvanlari iklimle uyum saglamalari için on bes gün süreyle 12/12 gece gündüz olacak sekilde gözlemlenmistir.

3.2. Hayvanlari Beslenmeleri

Deney hayvanlari besinleri Ankara Yem Sanayisi'nden temin edilen pellet verilmiş, su ise serbest birakilmistir (çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Hayvanlara verilen yemin içeriği

YEM MADDESİ	%
Bugday	10
Misir	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya küspesi	25
Balik Unu	8
Kemik Unu	4
Melas	4
Tuz	4
Vitamin Karisimi	1
Mineral Karisimi	1

3.3. Deney Hayvanlari Gruplandırılması

Çalışmalara başlamadan önce mevcut laboratuvar şartlarımızda deneysel diyabetin kaçinci günlerde meydana gelebileceği araştırıldı. Daha sonra 225 ± 25 g ağırlığındaki siçanlar üç kafese ayrıldı ve her kafeste esit sayıda ($n = 7$ olmak üzere) hayvan kullanıldı.

GrupD₀: Kontrol Grubudur. Diyabet oluşturulmamış ve hiç bir madde verilmemiş normal siçanların bulunduğu gruptur.

GrupD₁: Diyabet Grubudur. 65mg/kg streptozotosin verilmiş diyabetli kontrol grubudur.

GrupD₂: 65mg/kg STZ ve 150mg/kg *Trigonella foenum greacum L* ekstresi uygulanmış gruptur.

3.4. Ekstraktların Hazırlanması

Sanli Urfa aktarlarından teshis edilerek satın alınan *Trigonella foenum greacum L*. tohumu temizlenip 500g olacak şekilde tartılmış ve toz haline getirilmiştir. 500ml metanolde 24 saat bekletilmiştir. Süzildükten sonra rotary evaporeyter ile metanol ve su uzaklaştırılarak ekstrakt elde edilmiştir.

3.5. Deneysel Çalışmalar

Laboratuvar şartlarımızda deneysel diabet oluşumunun kaçınıcı günlerde meydana geldiğini görmek ve çıkabilecek aksaklıkları önlemek amacıyla ön çalışmalar yapıldı.

Hayvan gruplarına aynı yem verilerek günlük takipleri yapıldı. Çalışmaya başlarken ve her hafta ağırlıkları ölçüldü. Siçanların haftada bir glukoz düzeylerine bakıldı.

GrupD₀: Kontrol Grubu: 7 adet hayvandan oluşan bu grubun 7. hafta sonunda böbrekleri alınarak histolojik çalışmalar, GSH ve MDA analizleri için -80⁰ C de bekletildi.

GrupD₁: STZ Grubu: 7 adet hayvandan oluşan bu grubun ağırlıkları alındıktan sonra STZ miktarı her 200g'lık hayvan için 65 mg/kg STZ sodyum sitrat ve ph 4.5

olmak üzere hazırlandı. Sonuçta her 200g'lik siçan için 65mg/kg STZ, intraperitoneal olarak enjekte edildi. Bir hafta sonra kuyruk venlerinden alınan kan, glukometre cihazıyla ölçüldü. Açlık kan glukoz düzeyi 250mg/dl'yi aşan siçanlar diabetik olarak alındı. Düzenli olarak 12 saatlik açlık sonrasında, haftada bir olmak üzere glukoz düzeylerine bakıldı.

GrupD₂: Her hayvana 65mg/kg STZ ve 150mg/kg *Trigonella foenum greacum* L. ekstraktı endoskopik yöntemle üç gün verildi. Daha sonra ki gün STZ ile diabet olusturuldu. Haftada bir ağırlıkları ve açlık glukoz düzeyleri ölçüldü. Ölçümlerin ertesi günü ekstraktlar verildi.

7 hafta sonunda bütün hayvan gruplarının kalplerinden injektör ile 3-5 ml kan alındı ve dislukasyon ile hayvanlar öldürüldü. Santrifüj edilerek protein analizleri için serum alındı. Histolojik çalışmalar için sağ böbreklerin aynı bölümlerinden kesitler alınarak % 10'luk formaldehitte fiske edildi. Sol böbrekler MDA – GSH analizleri için -80 °C'de saklandı.

3.6. Biyokimyasal Analizler

Alınan doku örnekleri 1/9 oranında %6'lık perklorik asit içerisinde sonikatör ile homojenize edildi. Homojenize edilen örnekler tüplere alınarak vortekslenip 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar yeni tüplere aktarılarak GSH ve MDA analizleri yapılıncaya kadar -80⁰C'de muhafaza edildi.

3.6.1. MDA ve GSH analizleri

Tiobarbütürik asit reaktif maddeleri (TBA) genellikle doymamış yağ asit peroksidasyonunun son ürünü olarak bilinen MDA ile tespit edilmektedir. Buna ilave olarak DNA, protein ve karbohidratların oksidatif hasarı sırasında da MDA oluşmaktadır (Jo ve Ahn 1998)

Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur. Bu kompleks spektrofleurometrede 532 nm’de okunur (Van ve ark. 1993).

3.6.1.1. Böbrek dokularında MDA analizi

1., 2. ve 3. stok standartları aşağıdaki prosedür izlenerek hazırlandı.

Birinci çalışma çözümü: 4.05 M konsantrasyonlu tetraetoksipropan (TET) çözümünden 24.7 µl alınarak 10 ml suda seyreltildi. Böylece 10 mM birinci çalışma çözümü hazırlanmış oldu.

İkinci çalışma çözümü: Birinci çalışma çözümünden alınan 10 µl ’ye 990 µl saf su ilave edilerek 100 µM konsantrasyonunda TET hazırlandı.

Üçüncü çalışma çözümü: İkinci çalışma çözümünden 100 µl alınıp üzerine 900 µl saf su ilave edilerek 10 µM konsantrasyonlu TET hazırlandı (çizelge 3.2.).

Çizelge 3.2. MDA standart eğrisinin hazırlanması

Standart No	Saf Su (µl)	W ₃	Konsantrasyon (nmol)
0	100	0	0
1	90	10	1
2	80	20	2
3	60	40	4
4	20	80	8
5	-	100	10

2. Örnek ve standartların her birinden 100’er µl alınarak üzerlerine sırasıyla aşağıdaki çözeltiler ilave edilmiştir.

162 µl	%10 SDS
200 µl	asetik asit
200 µl	TBA (12 mg TBA 1.5 ml metanolde çözüldü)
338 µl	nH ₂ O
<u>1000 µl</u>	<u>TOPLAM</u>

1. Örneklerin bulunduğu tüpler vortekslendikten sonra 95 °C'deki sıcak su banyosunda 45 dakika bekletildi. Musluk suyu altında soğutuldu.
2. Soğutulan tüpler 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
3. Süpernatanttan 800 µl alınıp spektrofleurometre yardımıyla eksitasyon 520 nm ve emisyon 555 nm'de absorbans değerleri okundu.
4. Konsantrasyonları bilinen standartlardan okunan absorbans değerlerinden excel programında eğri oluşturularak bir formül elde edildi. Okunan örnek absorbansları standart eğri formülünde ifade edilen X yerine konularak gerçek değer nmol cinsinden tespit edildi.

3.6.1.2. Böbrek dokularında GSH analizi

Solüsyonlar aşağıdaki prosedür izlenerek hazırlandı.

1. Stok solüsyonu: 3.073 mg indirgenmiş GSH (Sigma) 10 ml saf suda çözüldü. Böylece 1mM'lik stok solüsyonu hazırlanmış oldu.
2. Çalışma solüsyonu: Stok solüsyonundan 100 µl alındı. 900 µl saf su ilave edilip vortekslendi. Böylece 100 µM konsantrasyonlu çalışma solüsyonu hazırlanmış oldu (çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. GSH standart eğrisinin hazırlanması

Standart No	nH ₂ O (µM)	W1 (µl)	Konsantrasyon (nmol)	Diğer solüsyonlar
0	100	0	0	–
1	99	1	0.1	900
2	98	2	0.2	900
3	96	4	0.4	900
4	92	8	0.8	900
5	84	16	1.6	900
6	68	32	3.2	900

Örnek ve standartların her birinden 100 µl alındı. Bunlara 890 µl GSH Buffer solüsyonu (1M Tris-HCl, 20 mM EDTA, pH: 8.1) ve 10µl ophtaldialdehit (10 mg Ophtaldialdehit/1 ml metanol) eklenerek vortekslendi.

Reaksiyon oluşması için örnekler oda sıcaklığında, ışıktan korunabilecek bir yerde 6-7 dakika bekletildikten sonra spektrofleurometre yardımıyla eksitasyon 345 nm, emisyon 425 nm'de okundu. Örneklerin değerleri standart eğri formülü ile nmol olarak hesaplandı. Sonuçlar 100 mg doku yas ağırlığına göre değerlendirildi.

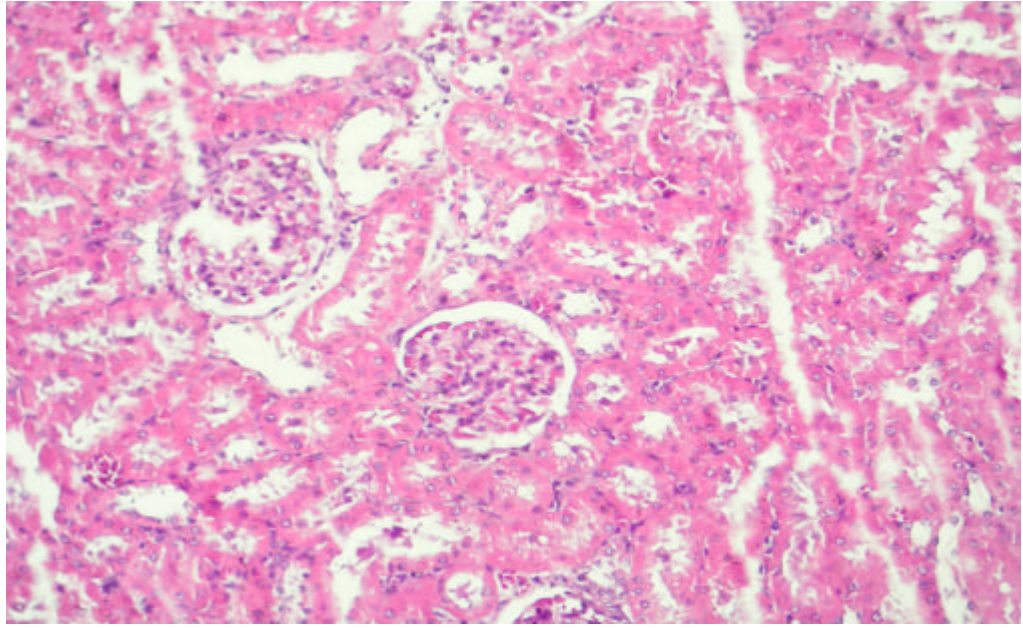
3.7. Histolojik Çalışmalar

Hayvanların sağ böbreklerinin aynı bölgelerinden alınan doku parçaları %10'luk formaldehit içinde fiske edildi. Fiske edilen böbrekler etil alkol ile dehidrasyonu otomatik prosesor ile yapıldı, ksilol ile saydamlaştırıldı. Daha sonra parafin blokları döküldü ve mikroton ile 5 mikronluk kesitler alındı. Hem hematoksilin ve eosin, hem de periyodik asit Schiff (PAS) ile boyandı, ışık mikroskopuyla incelendi.

4. ARASTIRMA BULGULARI ve TARTISMA

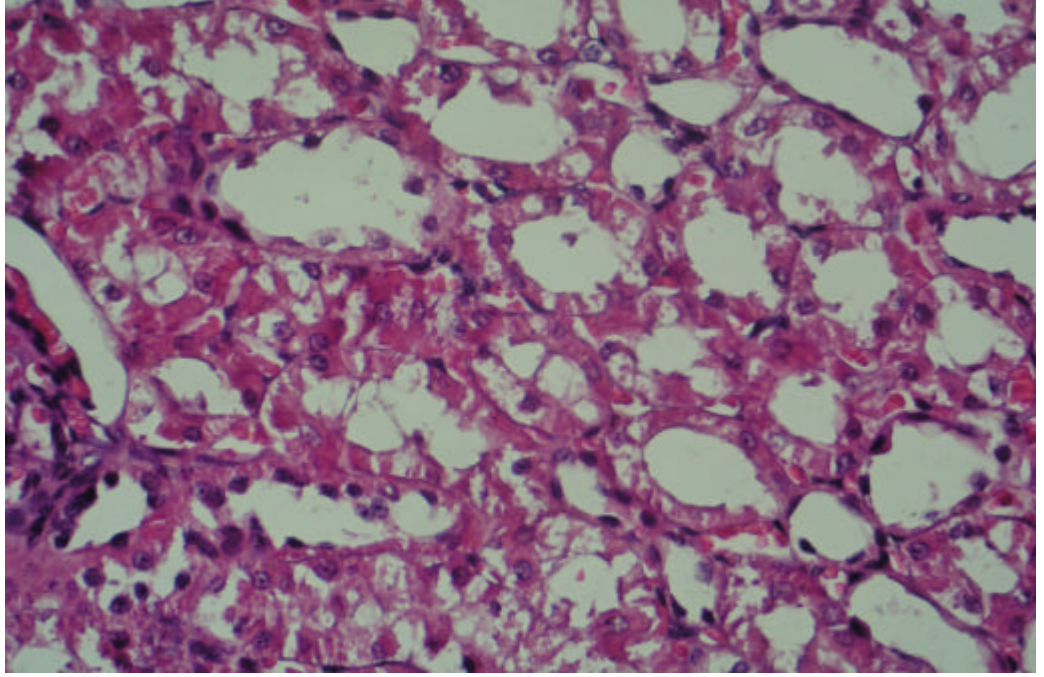
4.1. Histolojik Çalışma Bulguları

Diyabet oluşturulmuş sıçanlardan alınan böbreklerden, rutin doku takip asamalarından sonra, 5 µm kalınlığında kesitler alındı, hem hematoxilin ve eosin hem de PAS ile kesitler boyandı ve ışık mikroskobu ile incelendi. GrupD₀' da (kontrol grubu) böbrek tübülleri ve glomerüllerinde bir değişiklik olmadığı görülmüştür (şekil 4.1.)

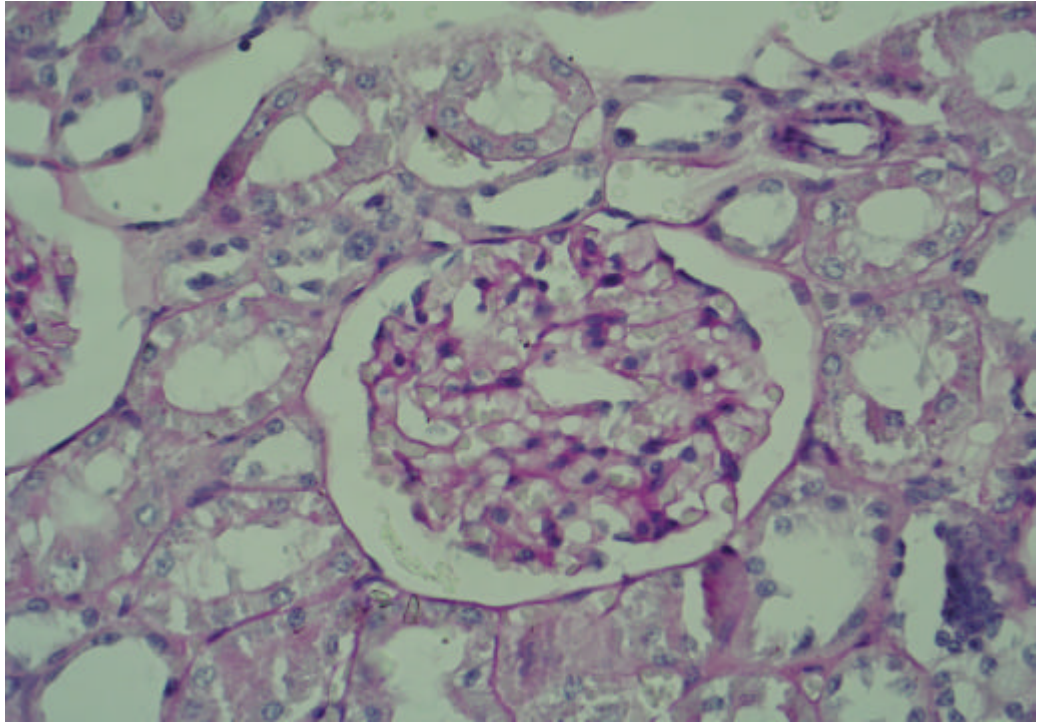


Sekil 4.1. HE × 200 Kontrol grubunda düzenli yapıda glomerül ve tübülsler mevcuttur

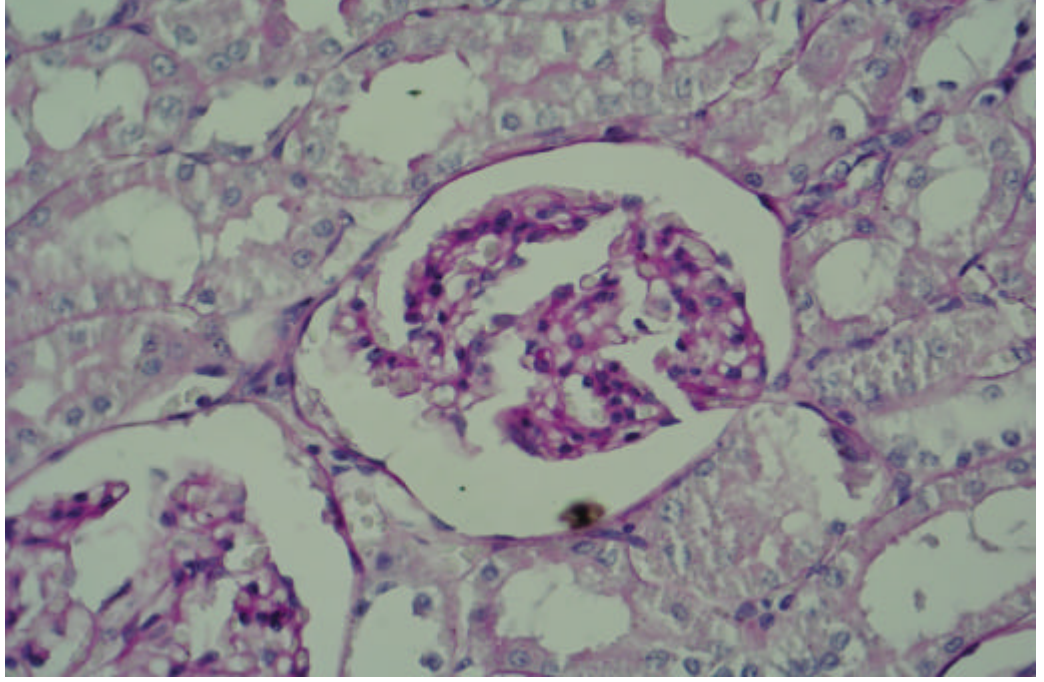
Diyabet grubunda, tübül epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon ve fırçamsı kenar kaybı, glomerül kapiller bazal membranlarında hyalin madde birikimi ve kalınlaşma, glomerüler mezengial matriks artışı, mezengial hücre proliferasyonu görülmektedir (şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5).



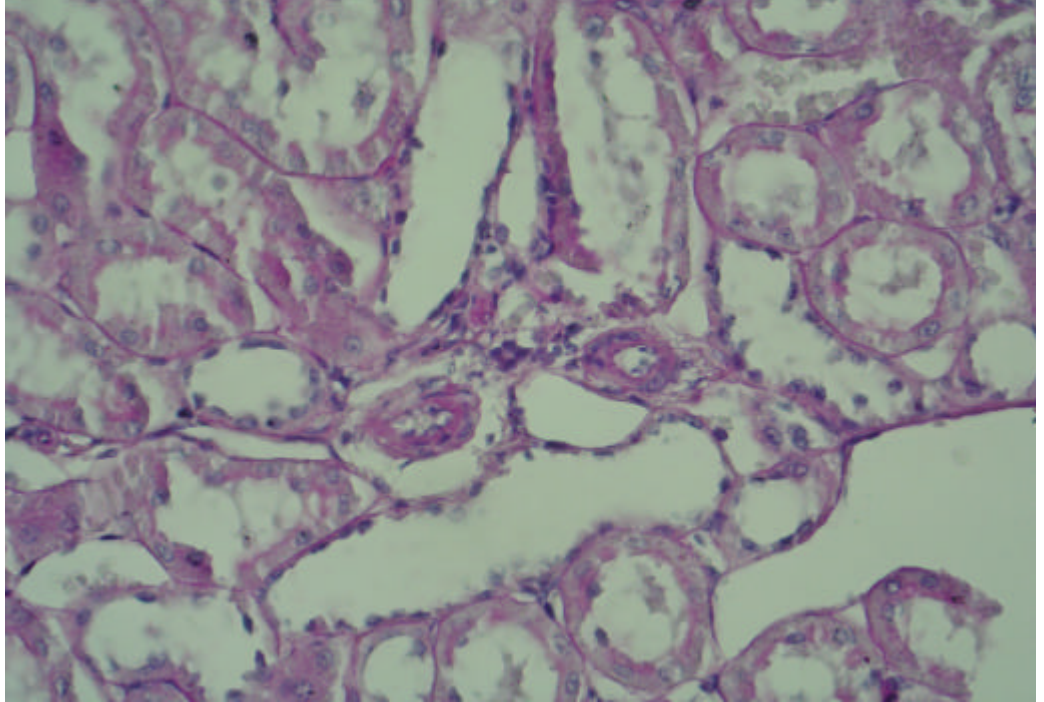
Sekil 4.2. HE \times 400 Diabet grubunda tübül epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon ve fırçamsi kenar kaybı



Sekil 4.3. PAS \times 400 Diabet grubunda, glomerül kapiller bazal membranlarında hyalin madde birikimi ve sekonder kalınlaşma görülmektedir

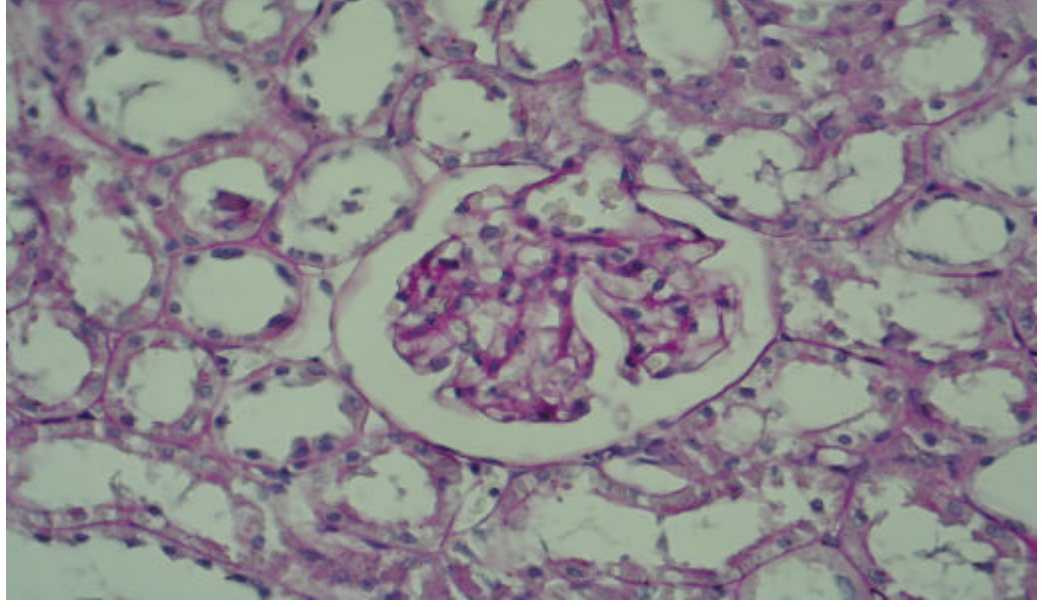


Sekil 4.4. PAS \times 400 Diabet grubunda, glomerüler mezengial matriksi artisi, mezengial hücre proliferasyonu ve glomerül bazal membranlarında (GBM) kalınlaşma mevcuttur



Sekil 4.5. PAS \times 400 Diabet grubunda, afferent ve efferent arteriolde hyalin kalınlaşma görülmektedir

Trigonella foenum greacum L. ekstrakti verilen grupta (grupD₂) diyabet grubuna göre (grupD₁) glomerül bazal membranlarda daha az kalınlaşma olduğu, mezengimal matriksin ve hücre sayisinin normal olduğu, arterlerdeki hyalin birikiminin diyabet grubuna göre az olduğu görülmüştür (şekil 4.6.).



Şekil 4.6. PAS × 400 *Trigonella* grubunda (GrupD₂) GBM kalınlığında Diabet grubuna göre azalma mevcut. Mezengial matriks ve hücre sayısı normal, afferent ve efferent arteriollerde hyalin kalınlaşma az olmuştur

Sonuç olarak *Trigonella foenum greacum L.* grubunda arterioller hyalin kesitlere düşmediğinden fotograflanamadıysa da glomerül bazal membran ve mezangial değişiklikler diyabet grubuna göre daha iyi olduğu görüldü.

4.2. Biyokimyasal Analiz Bulguları

4.2.1. GSH ölçüm sonuçları

Öncelikle standart eğri ve formülünün hesaplanması için konsantrasyonları bilinen standartlar spektrofleurometre ile ölçüldü. Daha sonra böbrek dokularının GSH değerleri, GSH ve ophthaldialdehitin oluşturduğu renkli kompleksin spektrofleurometre ile absorbansının ölçülmesi sonucu hesaplandı. Ölçülen

absorbans degeri, standartlar formülündeki yerine konularak GSH miktarı belirlendi ve ortalama degerler tespit edildi.

Çizelge 4.1. Kontrol grubunun (grupD₀) GSH degerleri

Kontrol Grubu	Konsantrasyon nmol GSH/100mg	
	böbrek yas ağırlığı	Ortalama Deger
1	13.15	9.13
2	11.55	
3	11.88	
4	11.31	
5	3.25	
6	1.88	
7	10.9	

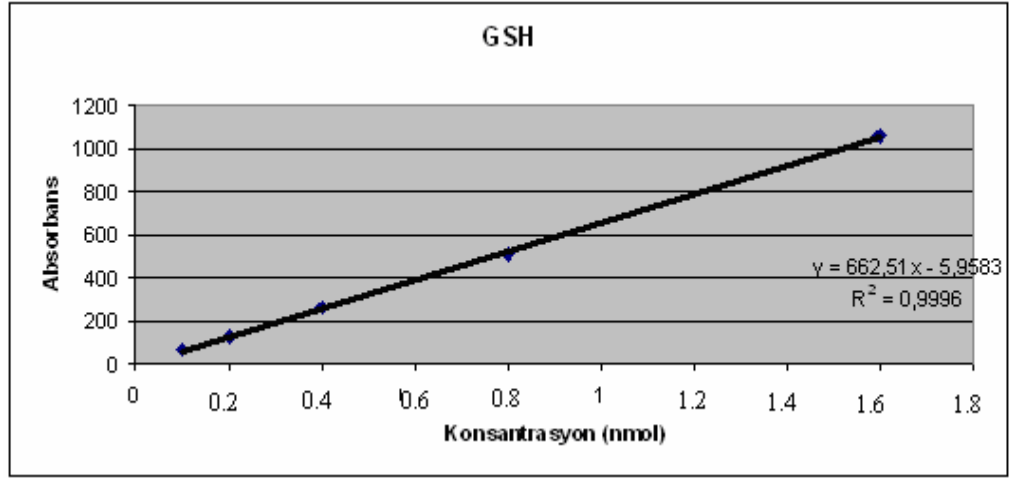
Çizelge 4.2. Diyabet grubunun (grupD₁) GSH degerleri

Diyabet Grubu	Konsantrasyon nmol GSH/100mg	
	böbrek yas ağırlığı	Ortalama deger
1	2.21	1.53
2	1.49	
3	1.29	
4	1.21	
5	1.69	
6	1.34	

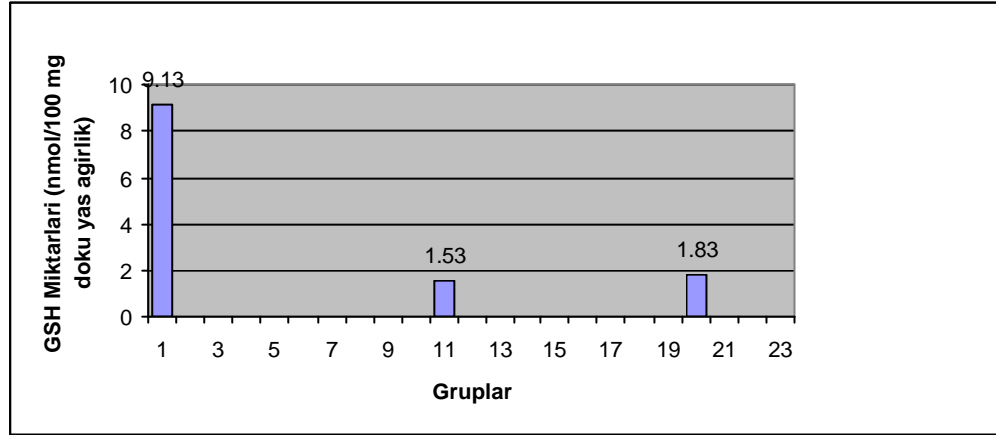
Çizelge 4.3. Trigonella grubunun (GrupD₂) GSH degerleri

Trigonella Grubu	Konsantrasyon nmol GSH/100m	
	böbrek yas ağırlığı	Ortalama deger
1	1.94	1.83
2	1.41	
3	1.52	
4	1.92	
5	1.82	
6	2.34	

Çizelge 4.4. GSH standartlarından elde edilen degerler ve kalibrasyon egrisi



Çizelge 4.5. Böbrek dokularında GSH miktarı



GSH miktarlari degerlendirildiginde diyabet ve *Trigonella foneum graecum* gruplarinin birbirlerine çok yakin bulunduğu görülmektedir.

4.2.2. MDA ölçüm sonuçlari

Böbrekte MDA miktarinin hesaplanmasi için, MDA ile thiobarbitirik asit reaksiyonu sonucu olusan renkli kompleksin spektrofleuometrede absorbansi ölçüldü. Ölçümler yapilmadan önce konsantrasyonlari bilinen standartlar spektrofleuometre ile ölçülerek standart egrisi ve formülü hesaplandi. Örneklerden elde edilen absorbans deger formülde yerine yazilarak MDA degerleri elde edildi ve her grup için ortalama degerler belirlendi.

Çizelge 4.6. Kontrol grubunda MDA degerleri

Kontrol Grubu	Konsantrasyon nmol MDA/100mg böbrek yas agirliğı	Ortalama deger
1	6.25	
2	3.57	
3	2.14	3.18
4	2.9	
5	2.91	
6	1.39	
7	3.1	

Çizelge 4.7. Diyabet grubunda MDA degerleri

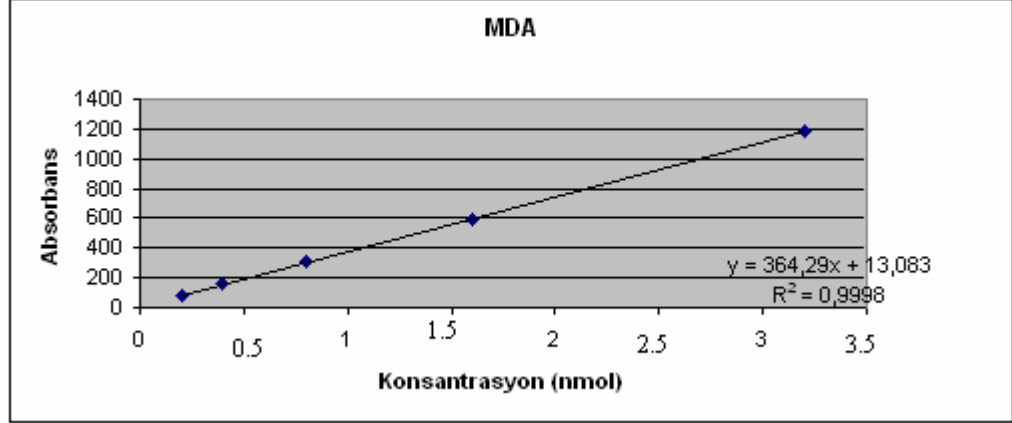
Diyabet Grubu	Konsantrasyon nmol MDA/100mg böbrek yas agirliğı	Ortalama deger
1	4.36	
2	8.78	
3	5.96	6.31
4	6.25	
5	6.17	
6	6.35	

Çizelge 4.8. *Trigonella* grubunda MDA degerleri

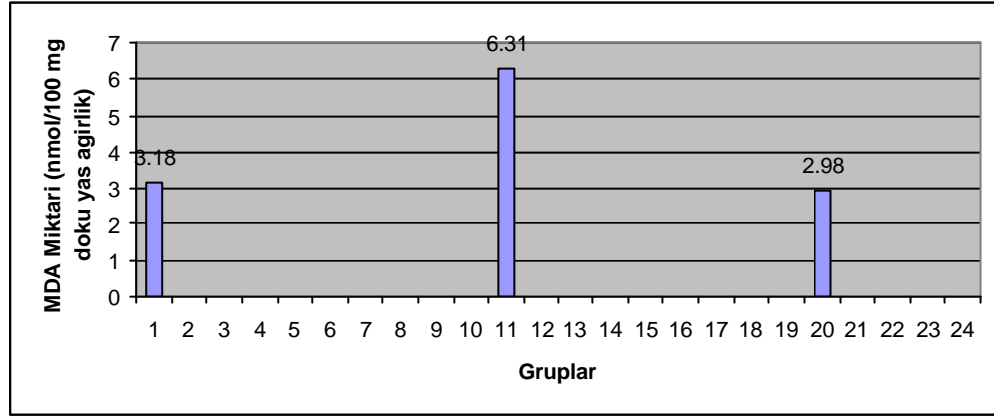
<i>Trigonella</i> Grubu	Konsantrasyon nmol MDA/100mg böbrek yas agirliğı	Ortalama deger
1	2.5	
2	3.11	
3	2.6	2.98
4	3.21	
5	2.86	
6	3.6	

Ç

Çizelge 4.9. MDA standartlarından elde edilen degerler ve kalibrasyon egrisi



Çizelge 4.10. Böbrek dokularında MDA miktarı



MDA miktarlari degerlendirildiginde kontrol ve *Trigonella foneum graecum* gruplarinin birbirlerine çok yakin bulunduğu görölmektedir.

4.3. Uygulanan Istatistiksel Metot ve Analizler

Gruplarin örneklerinden elde edilen GSH ve MDA degerleri SPSS programinda Mann-Whitney U testi, gruplar arasindaki farklar ise Kruskal-Wallis testi kullanilarak degerlendirilmistir. Elde edilen “p” degerleri “0.05, 0.01 ve 0.001” sabitlerine göre degerlendirilerek anlamlilik düzeyleri saptanmistir. $p < 0.05$ ise “karsilastirilan gruplar arasinda anlamli bir fark vardir”, $p > 0.05$ ise “karsilastirilan gruplar arasinda anlamli bir fark yoktur”, $p < 0.01$ ise “karsilastirilan gruplar arsinda

önemli farklar vardır”, $p < 0.001$ ise “karsilastirilan gruplar arasinda ileri düzeyde önemli farklar vardır” şeklinde ifade edilmektedir.

4.3.1. GSH SPSS istatistiksel analizi

- Kontrol ile *Trigonella foneum graecum* gruplari arasinda önemli farklar görülmüştür ($p=0.021$).
- Kontrol ile diabet gruplari arasinda önemli farklar görülmüştür ($p=0.022$).
- Diyabet ile *Trigonella foneum graecum* gruplari arasinda önemsiz farklar görülmüştür ($p=0.761$).

4.3.2. MDA SPSS istatistiksel analizi

- Kontrol ile *Trigonella foneum graecum* gruplari arasinda önemsiz farklar görülmüştür ($p=0,606$).
- Kontrol ile diabet gruplari arasinda önemli farklar görülmüştür ($p=0.013$).
- Diyabet ile *Trigonella foneum graecum* gruplari arasinda ileri düzeyde önemli farklar görülmüştür ($p=0.001$).

4.4. Tartisma

Dünyada yaklaşık 151 milyon diabetes mellitus (DM) hastasi vardır. Bunların yaklaşık %97’si Tip 2 DM’dir. DM’ nin komplikasyonlari mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayrilir. Mikrovasküler komplikasyonlari; retinopati, nefropati ve nöropatidir. Makrovasküler komplikasyonlari ise koroner kalp hastaligi, periferik damar hastaligi ve serebrovasküler hastalıklardir. Diyabetik nefropati (DN), artan sayıda hastanın son dönem böbrek yetmezligi gelistirmesinden dolayı önemli bir saglik sorunudur (Kurt ve ark. 2004).

Yapilan çalismalar ile etiyolojisinde bir çok degisik etkenin rol aldigi gösterilmis olan, gerek kendiliginden gelisen gerekse deneysel olarak streptozotosin

veya alloksan ile olusturulan diabetes mellitusun özellikle damarsal yapilar üzerinde yogunlasan komplikasyonlari ile daha çok göz, böbrek, sinir ve arterlerde olmak üzere organizmada pek çok bozukluklara neden oldugu gözlenmistir (Valentovic ve ark. 1987; McLennan ve ark. 1988). STZ ile olusturulan deneysel diabette pankreasin tahribatina bagli olarak çeşitli biyokimyasal degisiklikler ortaya çıkmaktadır (Grötsch ve ark. 1986).

Sochor ve ark. deneysel diyabet olusturulmus ratlarda diabete bagli olarak renal hipertofi gelistigini ve diabetin ilk 5 gününde böbrek piruvat kinaz aktivitesinin degismedigini bildirmislerdir. Khandelwal ve ark., streptozotosin uygulanmis ratların kan glukoz düzeylerinin 5 kat, böbreklerinde glukojenin 30 kat arttigini saptamistir. Deneysel diabet olusumunu takiben 4. haftada ratların vücut ağırlıklarının % 22 azaldigi, genel doku kaybina karsin böbrek ağırlığının arttigi bildirilmistir (Sochor ve ark. 1991; Erek 1995). Böbrek ise glukoz fosforilasyonu için insüline ihtiyaç duymaz. Böbrek medullasi çok az mitokondri içerdiği için glukolizise bagimlidir (Sochor ve ark. 1979).

Diabette piruvat kinaz aktivitesindeki azalma; piruvat kinaz sentezindeki azalmadan kaynaklanabilir. Ayrica kontrol edilmeyen diabette insülin yoklugunun veya sentez anormalliklerinin de piruvat kinaz aktivitesi ile iliskili oldugu ileri sürülmüştür (Saxena ve ark. 1992).

Kan glukozundaki artis metabolize glukoz için karaciger ve ya perifer dokularin bozulmasinin ve karaciger ile böbrekte glukoneogenezin aktivasyonunun baslica sonucudur. Hepatositlerde glukoz fosforilasyon hizindaki degisiklikler kan glukoz düzeyinde düzensizlige neden olabilir (Valera ve ark. 1993). DM' ta glukozun otooksidasyonu hizlanmakta ve okside olan glukoz, glukoz asitlerine dönüşürken serbest radikaller meydana gelmektedir.

DM' un en önemli sonucu, glukozun metabolize edilememesi sonucu kanda birikmesi, enerji üretiminin lipitlerle saglanması sonucu zararlı serbest radikallerin artmasıdır (Cho ve ark. 2002). Meydana gelen radikaller özellikle asiri doymamis

yag asitlerini okside etmektedir. Bir çok arastirmaci diabette lipid peroksidasyon ürünlerinin arttigini ifade etmektedir. Malondialdehit (MDA) ise lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir. Diyabet hastalarinda ve STZ ile diyabet olusturulmus siçanlarda yapilan birçok çalismada MDA düzeylerinin artmis olduğu rapor edilmistir (Tamer ve ark. 1997).

MDA, proteinlerle birlesir ve yüksek moleküllü proteinler olusturur. Disülfit köprülerinin olusumu, deaminasyon ve nonenzimatik glukozilasyon da MDA'nin sebep olduğu olaylardandir (Boscia ve ark. 2000). MDA miktarı, lipid peroksidasyonunun derecesini gösterir (Halliwell, 1994).

Son yıllarda dikkatler kronik hastaliklar ve yasliliga invivo olarak serbest radikallerin aracılık ettigi membran hasari ve antioksidan durum üzerinde toplanmaktadır (Halliwell, 1994).

Oksidan / antioksidan dengesinin bozulması ile poliol yolunda glukozun sorbitole metabolize edilmesi sonucu NADPH miktarının artması, okside glutatyonun redüklenmesi hizini yavaslatarak antioksidan miktarının olumsuz etkilenmesine neden olmaktadır (Sözmen ve ark. 2001).

Diabetes Mellitus olan hastaların %40'ında görülebilen diabetik nefropatinin ortaya çıkmasında çevresel ve özellikle genetik faktörler önemli rol oynamaktadır. Ortalama 10 yıllık bir diabetik süre sonrasında nefropati ortaya çıkar. Başlangıçta 1-6 yıllık sessiz dönemde glomerüler filtrasyon degerindeki yükseklik dikkati çeker. Daha sonra önceleri mikroalbuminüri seklindeki albuminüri bir süre sonra belirgin proteinüriye dönüşür. Hipertansiyon sık olarak görülür. 15-20 yıl sonra belirgin böbrek yetmezligi görülür. Mezengial matriks artisina ikincil nodüler interkapiller glomerüloskleroz ve diffüz interkapiller skleroz sık görülebilen histopatolojik bulgulardir. Kan sekerinin ve kan basincinin regülasyonu diabetik nefropati olusumunu geciktirebilecek en önemli yaklasimlardir. Kan basincinin kontrolü özellikle önerilir. Böbrek yetmezliginin olustugu son dönemde, diyaliz tedavisi en sık basvurulan yöntemdir. Ancak son yıllarda pankreas ve böbrek transplantasyonun

birlikte uygulanmasi tedavide yeni bir yaklasimdir (Akpolat ve ark. 2000; Friedman 1996).

Diabette serbest radikallerin arttigi çesitli arastirmalarla saptanmistir. Bu nedenle günümüzde disaridan verilen antioksidanlarin rolü, birçok arastirmaya konu olmaktadır. Bu arastirmalarda öncelikle, toplumlarda DM' un tedavisinde kullanılan tibbi amaçli bitkiler seçilmekte ve kullanılmaktadır. *Trigonella foneum*, *C. rotondus*, *N. sativa*, *R. coriaria* gibi bitkiler tedavi amaçli bitkilerdendir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Histolojik Çalışma Sonuçları

Yaptığımız çalışmalar sonucunda kontrol grubunda (GrupD₀) böbrek tübülleri ve glomerüllerinde bir değişiklik olmadığı ancak diyabet grubunda, tübül epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon ve fırçamsi kenar kaybı, glomerül kapiller bazal membranlarında hyalin madde birikimi ve sekonder kalınlaşma, glomerüler mezengial matriks artışı, mezengial hücre poliferasyonu ve glomerül bazal membranlarında (GBM) kalınlaşma olduğu görülmektedir.

Trigonella foenum greacum L ekstraktı verilen grupta (grupD₂) ise diyabet grubuna göre (grupD₁), glomerül bazal membranlarda daha az kalınlaşma olduğu, mezengial matriksin ve hücre sayısının normal olduğu, arterlerdeki hyalin birikiminin diyabet grubuna göre az olduğu görülmüştür.

Trigonella foenum greacum L. grubunda arterioller hyalin net olarak fotograflanamadıysa da diabete göre azalma net olarak görüldü. Glomerül bazal membran ve mezangial hücreler diabet grubuna göre daha iyi olduğu anlaşıldı.

5.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Böbrek dokularında MDA miktarının hesaplanması için, MDA ile thiobarbitirik asit reaksiyonu sonucu oluşan renkli kompleksin spektrofleurometrede absorbansı ölçüldü. Ölçümler yapılmadan önce konsantrasyonları bilinen standartlar spektrofleurometre ile ölçülerek standart eğri ve formülü hesaplandı. Örneklerden elde edilen absorbans değer formülde yerine yazılarak MDA değerleri elde edildi ve daha sonra her grup için ortalama değer belirlendi.

Çalışmamızda lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA analizi yapıldığında diyabet ile *Trigonella* grupları arasında ileri düzeyde önemli farklar

oldugu görülmüştür. GSH miktarlari degerlendirildiginde diyabet ve *Trigonella* gruplarinin birbirlerine çok yakin bulundugu görülmektedir.

Kontrol grubunda MDA degeri ortalama olarak 3.18, diyabet grubunda 6.31 ve *Trigonella foneum graecum* grubunda 2.98 olarak hesaplanmistir. Diyabet ile *Trigonella* gruplari arasinda ileri düzeyde önemli farklar oldugu görülmüştür. MDA miktarlari degerlendirildiginde kontrol ve *Trigonella* gruplarinin birbirlerine çok yakin bulundugu anlasilmaktadir. Kontrol ile diabet gruplari arasinda ise önemli farklar mevcuttur.

Standart egri ve formülünün hesaplanmasi için konsantrasyonlari bilinen standartlar spektrofleuometre ile ölçüldü. Daha sonra böbrek dokularinin GSH degerleri, GSH ve ophthaldialdehitin olusturdugu renkli kompleksin spektrofleuometre ile absorbansinin ölçülmesi sonucu hesaplandi. Ölçülen absorbans degeri, standartlar formüldeki yerine konularak GSH miktar belirlendi ve ortalama degerler hesaplandi.

Kontrol grubunda ortalama 9.13 olan GSH degeri, diabet grubunda ortalama 1.53, *Trigonella* grubunda ortalama 1.83 olarak gözlenmistir. Diyabet ile *Trigonella* gruplari arasinda önemsiz farklar görülürken, kontrol ile *Trigonella* ekstrakti uygulanan gruplar arasinda önemli farklar görülmüştür. Kontrol ile diabet gruplari arasinda ise önemli farklar analiz edilmistir.

Sonuç olarak diabette fazlaca bulunan ve peroksidasyon ürünü olan MDA' nin *Trigonella* ekstrakti verilen grupta olusumunun azaldigi, bir antioksidan olan GSH' in ise önemli oranda degismedigini tespit edilmistir. Biz *Trigonella foenum graecum* L. ekstraktinin diyabetten kaynaklanan böbrek dokularindaki hasari önlemede kullanilabilecegini, etken maddelerinin arastirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- ADACHI, T., NAKAMURA, M., YAMADA, H. and FUTENMA, A. 1994. Quantitative and qualitative changes of extracellular superoxide dismutase in patients with various diseases. *Clin. Chim. Acta.* 229 s. 123-131.
- AKKUS, I. 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimosza Yayinlari, Konya. s. 1-95.
- AKPOLAT, T., ULAS, C. ve SÜLEYMANLAR, G. 2000. Sistemik hastalıklarda Böbrek tutumu. Nefropati el kitabı. Nobel tip kitabevleri. İstanbul. s. 241-248.
- AL- HABORI, M. and RAMAN, A.,1998. Antidiabetic and Hypocholesterolamic Effects of Funugreek. *Phytother. Res.*, 12 s. 233-242.
- ARINCI, K. 1993. Uygulamalı Anatomi. I. Baskı. Ankara: Türkiye, Klinikleri Yayınevi, s. 200-206.
- AYDIN, A. 1996. İnsüline bağımlı diyabet (tip 1, juvenil). Onat, T.(editor). Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları. İstanbul. Eksen yayıncılık, s. 340-346.
- BAKER, J.R. 1991. Disorders of the endocrine pancreas; type 1 diabetes mellitus. Sites, D.P., Terr, A.I(editors). *Basic and Clinical Immunology*. California. a Large Medical Book. s. 471-472.
- BARBER, D.A. and HARIS, S.R. 1994. Oxygen ferr radicals and antioxidants. *A.M. Pharm. N.Z.* 34(9):26.s.
- BAYKAL, Y. ve KOCABALKAN, F. 2000. Serbest Radikaller ve Hücre Hasarı Sendrom. 12(9) s.31-39.
- BAYTOP, T., 1984. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi. I.Ü. Yayınları No: 3255, İstanbul.
- BENNET, P.H. 1994. Definition diagnosis and classification of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. ‘In Joslin’s Diabetes mellitus’, Khan, C.R. ve Weir, G.C. A verly company, Tokyo. s. 193-200.
- BİNGÖL, F., AYDIN, S. ve AÇIKGÖZ, S. 1993. Serbest Radikaller, Ankara Hastanesi Tıp Dergisi. 28:s. 1-23
- BLOCK, G. 1991. Epidemiologic evidence regarding vitamin C and cancer. *Am J. Clin Nutr.* 54:1010s.
- BORDIA, A., VERMA, S. K., and SRIVASTAVA. K.C., 1997.Effects of Ginger and Fenugreek on Blood Lipids and Platellet Agregation in Patients with Coronary Atrery Disaease. *Prostaglandins Leukot Essent Faty Acids*, 56: s. 379-384.
- BOSCIA, F., GRATAGLIANO. I., VENDEMIALE, G., MICELLI- FERRARI, T. and ALTOMARE, E., 2000. Protein oxidation and lens opacity in humans. *Invest. Opht. Vis. Sci.* 41: s. 2461-2465.
- CELAL, T. 1993. Hormonlar ve etki mekanizmaları. *Medikal Biyokimya.* s.162-169.
- CHAOUR M, THEROUX P and GILFIX BM. 1997. True fasting serum insulin resistance syndrome and coronary heart disease. *Coron. Artery Dis*; 8: s. 683-688.
- CHEESEMAN, K.H. and SLATER, T.F. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 49(3): s. 481-93.

- CHEESEMAN, K.H. ve SLATER, T.F. 1993. An Induction to Free Radical Biochemistry, Brit Med Bulletin. 149: s. 481-93.
- CHO, S.Y., PARK, J.Y. and PARK, E.M., 2002. Alternation of hepatic antioxidation enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced rats by supplementantion of dandelion water extract. Clin. Clim. Acta., 317: s. 109-117.
- ÇELEBI, S., DILSIZ, N., KÖKNER, S. and Turgut, T. 2000. Effects of Melatonin, Vitamin E and octreotide on Level of Lipid Peroxidation During Ischemia-Reperfusion in The Guinea Pig Retina. Eye, 12: s. 127-133.
- DAHLQUIST, G. 1998. The etiology of type 1 diabetes: an epidemiological perspective. Acta Paediatr Suppl. 425: s. 5-10.
- DEBY, C. and PINCEMAIL, S. 1988. Oxygen toxicity, free radicals and defence mechanisms. In; Fünfgeld, E.W(edi). Rökan ginkobiloba. Recent results in pharmacology and clinic. Berlin, Springer-Verlag. 57s.
- DE FRONZO ve FERRANNINI 1982; A dynamic model to analyse intravenous glucose and insulin tolerance tests performed on dairy cows. [British Journal of Nutrition](#), Volume 86, Number 3, September 2001, (11). s. 359-369
- DEL MAESTRO, R. 1991. Free radicals as mediators of tissue injury, "Trace elements, Micronutrients and free radicals". Dreosti IE.Humano Pres Inc; Cliton. s. 25-51.
- DRUMMOND, K. and MANER, M. 2002. The early natural history of nephropathy in type I diabetes. Diabetes. 61:s. 1580-1587.
- EASTMAN, R.C., COWIE, C.C. and HARIS, M.I. 1997. Undiagnosed Diabetes or impaired glucose tolerance and cardiovascular risk. Diabetes care. 20: 127-128.
- EASTMAN, R.C. and VINICOR, F.The Expert Committee on Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. 1997. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. Dabetes Care. 20: s. 1183-1197.
- EREK, E. Diabetik nefropati.Nefroloji. Istanbul Üniversitesi. Istanbul. s. 145-149.
- ERENEL, G., ERBAL, D. and ARICIOGLU, A. 1993. Free radicals and antioxidant systems. Mater. Med. Pol. 25(1);37s.
- ERSOY, E. ve BATSU, N. 1986. Biyokimya.s. 563-568.
- ESTERBAUER, H., 1982. Aldehydic Products of Lipid Peroxidation. In:Mc Brien Dch. Slater, T.F.(Eds). Free Radicals, Lipid Peroxidation and Cancer, London; Academic pres, 101-128.
- FIORETTO P, STEFFES MW, SUTHERLAND DER, GOETZ FC. and MAUER M. 1998. Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation. N Engl J Med. 339:s. 69-75.
- FREEMAN, B.A. and CRAPO, T.D. 1982. Biology of disease free radicals and tissue injury. Laboratory Invest. 47: s. 412-25
- FREEMANN, B.A. and CRAPO, J.D. 1982. Free Radicals and Tissue Injury. Lap Invest.47: s. 412-25.
- FREI, B. 1994. Natural Antioxidants in Human Health and Disease, San Diego. Academic perss.
- FRIEDMAN, E.A. 1996. Renal syndromes in diabetes. Endocrinol Metab Clin North Am 25:293-24.
- GRÖTSCH, H., HROPOT, M., KIEF, H. ve KLAUS, E. 1986. Enzymuria in Streptozotocin-Diabetic Rats. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24: s. 533-539.

- GUYTON,, A.C. and HALL, J.E. 1996. İnsülin, Glukagon ve Diabetes Mellitus. Tibbi Fizyoloji, Dokuzuncu Baskı. Editör: Çavusoglu, H.(W.B.Saunders Company). Yüce Yayım, Nobel Tıp Kitabevi, Bölüm 2, 78:16, s. 971-983.
- HALLIWELL, B. and CHIRICO, Z. 1993. Lipid Peroxidation, its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr.* 57: s. 715-725.
- HALLIWELL, B.,1994. Free radicals, antioxidants and human disease: Coriosity, cause or consequence. *Lancet*, 334; s. 721-724.
- HALLIVEL, B. 1996. Oxidative stres, nutrition and healt. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Res.* 25, s. 57-74.
- HALLIWELL, B. ve GUTTERIDGE, M.C. 1990. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 280: s. 1-8.
- HANAS, R. 2001. Çocuklarda, Adolesanlarda ve genç erişkinlerde tip 1 diabet. Çevirenler: Hatun, S., DüNDAR, Y. İstanbul. s. 182-183.
- HENSON, D.E., BLOCK, G. ve LEVINE, M. 1991. Ascorbic acid: Biologic unctions and relation to cancer. *J Natl Cancer Inst.* s. 83-547.
- HUANG, W., CONNOR, E. ve DELA, R.T. 1996. Although DR3-DQBI may be associated with multiple component disease of the human leukocyte antigen DR4-DQBII0302 haplotype is implicated only in β - cell autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab.* s. 81: 1-5.
- IÇLİN, G., ÜNAL, S., BIBEROĞLU K., AKALIN, S. ve SÜLEYMANLAR, G. 1997. Diabetes mellitus: tipleri, sınıflandırılması ve tanisi. *Temel İç Hastalıkları.* Güneş Kitabevi, İstanbul. 2: s. 2-5.
- JAMES, H., WARRAM, Y. and STEPHAN, S. 1994. Epidemiology and Genetics of Diabetes mellitus. 'In Joslin's Diabets mellitus' Khan, C.R. and Weir, G.(Eds). Tokyo A waverly company. s. 201-205.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. and KELLEY, R.O. 1998. Basic Histology.A lange medical book. Eight edition. s. 359- 377.
- JO, C. and AHN, D.U.1998. Fluoremetric analysis of 2-thiobarbituric acid reaktive substances 1009.türkey. *Poult Sci*, 77; s. 475-480.
- KALAK, S., AKKUS,I., ÇAGLAYAN, O., CAN,G. and ZEREN, E.M. 1996. Diabetes Mellitus ve Serbest Radikaller. *T. Klin. Tıp Bilimleri*, 16; 206-211.
- KANDEMİR, N. 1997. İnsüline bagimli diabetes mellitusun etiyopatogenezi. *Katki Pediatri Dergisi.* 18(1):s. 4-16.
- KAYAALP, O. 1989. Yagda çözünen vitaminler. *Tibbi farmakoloji.* Feryal Matbaacilik. Ankara, 3: s. 2841-2863.
- KAYAALP, O. 1997. Endokrin Sistem Farmakolojisi. Rasyonel Tedavi Yönünden *Tibbi Farmakoloji.* 7. Baskı.Ankara. 3:2422.
- KEHRER, J.P. and SMITH, C.V. 1994. Free radikals in biyology:Sources, reaktivites and role in the actiology of human disease. *Feri B. Natural antioxidants human healt and disease.* Academic Pres. San Diego. 25-62.
- KILINÇ, K. 1985. Oksijen radikalleri: üretilmeleri ve fonksiyonlari ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi.* 10: s. 60-89
- KILINÇ, K. 1986. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya Dergisi XI:3:* s. 59-76.
- KOLOĞLU, S. 1996. Diabetes mellitus. "Temel ve Klinik endokrinoloji", İstanbul. s. 367-385.

- KÖSE, K. ve DOĞAN, P. 1992. Lipid peroksidasyonu. Erciyes Tıp Dergisi; Ek 1: s. 340- 350.
- KURT. M., ATMACA, A. ve GÜRLEK, A. 2004. Hacettepe Tıp Dergisi;35: s.12-17
- LAAKSO M. 1996. Insulin resistance and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol*; 7: s. 217-226.
- LAEMMLI, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. *Nature*, 227; s. 680-685.
- LÜSCHER, T.F., TANER, F.C., TSCHUDI, M.R. and NOLL, G. 1993. Endothelial dysfunction in coronary artery disease. *Annu Rev Med*. 44: s. 395-418.
- MAYES, P.A. 1990. Biologic oxidation. Martin D.W., Mates, P.A., Rodwell, C.W.(eds).In *Harper's Biochemistry*. Lange Med Pub, California. 124-142.
- MAXWELL S.R.J. 1995. Prospect for use of antioksidant therapies. *Drugs* 49(3): s. 345-61.
- MCLENNAN, S., YUE, D.K., FISHER, E., CAPOGRECO, C., HEFFEMAN, S. and ROSS, G.R. 1988. Deficiency of Ascorbic Acid in Experimental Diabetes. 37: s. 359-361.
- MEADOV, R. and NEWELL, S. 2003. Diabetes mellitus. Çevirenler: Adal, E., Akçay, T., Akçay, A., Keles, E.S., Kiliç, H. *Pediatrici*. 7. baskı, İstanbul. Nobel. s. 211-212.
- MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A. and RODWELL, V.W., 1996. *Hersper Biochemistry*. 24. edition. Typo.
- MOGENSEN CE, CHRISTENSEN CK. and VITTINGHUS E. 1983. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes*; 32 (Suppl 2): s. 64-78.
- MOFF, I. and PETERSON, R. 2002. *Endocrinology: diabetes*. Gunn V.L., Nechyba C. (editors). *The Harriet Lane Handbook*. Philedelphia, Mosby. s. 213-215.
- NAKAZAVA, H, GENKA, C. and FUJISHIMA, M. 1996. Patolojik aspects of active oxygens/free radikals. *Japan J Physiol*. 46: s. 15-32.
- NIKI, E. 1987. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lip*.44: s. 227-253
- NOYAN, A. 1998. *Yasamda ve Hekimlikte Fizyoloji*. 10. Baskı. Ankara. Meteksan Anonim Sirketi. S. 606-656.
- ÖCAL, G., BERBEROĞLU, M. 1997. Diabetes mellitus. *Cin. S*(editor). Çocuk hastalıkları. Ankara: Antip. s. 628-639.
- PARVING, H.H, OSTORB, R., ANDERSON, P.W. and HSUOH, W.A. 1996. Diabetic nephropathy. In: Brenner BM (ed). *The Kidney*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1864-92.
- PICKUP, J.C. and WILLIAMS, G. 1997. *Textbook of diabetes*. Second edition. Blackwell Science. Oxford. s. 10-20.
- PHILLIPS, A.O. and STEADMAN, R. 2002. Diabetic nephropathy: The central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury. *Histol Histopathol*. 17: s. 247-52.
- PILKIS, S.J., EL-MAGHRABI, M.R. and CLAUSS, T.H.1988.Hormonal regulation of Hepatic Glukoneogenesis and Glycolysis. *Annu. Rev. Biochem*. 57:755-783.
- POLONOSKY, K.S., STURIS, J. and BELL, G.I. 1996. Noninsulin- dependent diabetes mellitus : A genetically programmed failure of the β -cell to compensate for insulin resistance. *N Eng J Med*. 334: s. 777-784.

- RCILLY, P.M., SCHILLER, H.J. and BULKLEY, G.B. 1991. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J. Surg.* 162: s. 488-503
- REITHER, R.R., TAN, D., POEGGELER, B. and PELAEZ, A.M. 1993. Melatonin as a free radical scavenger: implications for aging and age-related diseases. *Annals New York Academy of Sciences.* 30: s. 1-11.
- RICHARD, M.J., ARNAUD, J., JURKOVITZ, C. and HACHACHE, T. 1991. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron.* 57: s.10-15.
- ROYSON, D. 1988. Free Radicals. Formation, function and potential relevance in anaesthesia. *43:315-20.*
- SAKA, N. 2002. Diabetes mellitus. Neyzi, O., Ertugrul, T.(editors). *Pediatric (cilt 2). Nobel.* 1306- 1321.
- SAKA, H.N. 2003. Diabetes mellitus. *Pediatric Endocrinoloji. 1. Baski, Pediatric Endocrinoloji ve Oksoloji Dernegi, Ankara.* s. 415-455.
- SARSILMAZ, M. 2000. *Anatomi. I. Baski. Ankara: Nobel Yayin Dagitim.* 160-163.
- SAXENA, A.K., Srivastava, P., Baquer, N.Z. 1992. Effects of Vanadate on Glycolytic Enzymes and Malic Enzyme in Inulin-Dependent and Independent Tissues of Diabetic Rats. *Eur. J. Pharmacol.* 216: s.123-126.
- SCARLETT, J.A., OLEFSKY, J.M. and KOTERNAN, G. 1982. Insulin action and resistance in obesity and non insulin- dependent type II diabetes mellitus. *Am J Physiol.* 243 : s. 15-30.
- SONGER TJ. and ZIMMET PZ. 1995. Epidemiology of type II diabetes: an international perspective. *Pharmacoeconomics;8: s.1-11.*
- CHAOUR M, THEROUX P. and GILFIX BM. 1997. True fasting serum insulin resistance syndrome and coronary heart disease. *Coron. Artery Dis; 8:683-688.*
- SCWARTZ, M.W. 2000. *Pediatric Pratik yaklasimlar. Süoğlu, Ö.D., Kara, B.(çevirenler). Istanbul. Nobel.* s. 232-233
- SENCER, E. 1991. Tokoferoller. Sencer, E.(ed). *Beslenme ve diyet. Beta yayin A.S. Istanbul.* 71:725 s.
- SHARMA, R.D., SARKAR, A., HAZRA, D.K. et al; 1996. Use of fenugreek seed powder in the management of non insulin dependent Diabetes mellitus. *Nurt Resemch.* 16: s. 1331,9.
- SNELL, R.F. 1998. *Clinical Anatomy. Yildirim, C(Çeviren).I. Baski. Istanbul. Nobel Yayin Dagitim.*
- SOCHOR, M., BAQUER, N.Z. and McLEAN, P. 1979. Regulation of Pathways of Glucose Metabolism in Kidney. The Effect of Experimental Diabetes on the Activity of the Pentose Phosphate Pathway and the Glucuronate-Xylose Pathway. *Arch. Biochem. Biophys.* s. 198-632.
- SOCHOR, M., KUNJARA, S., BAQUER, N.Z. and McLEAN, P. 1991. Regulation of Glucose Metabolism in Livers and Kidneys of NOD Mice. *Diabetes.*40: s. 1467-1471.
- SÖZMEN, E.Y., SÖZMEN, B., DELEN, Y. ve ONAT, T., 2001. Catalase/Superoxide dismutase (SOD) and Catalase/ Peroxanase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Arch. Med. Res.* 32: s. 283-287.
- SPERLING, M.A. 2000. Diabetes Mellitus. Behrman R.E., Kliegman R.M., Jensen H.B. (Editors) : *Nelson Textbook of Pediatrics. Philadelphia.* s. 1767-1789

- TAMER, L., ISPIR, T. VE DORAN, F., 1997. Deneysel diabetik siçan modelinde kalsiyum adenozin 5'trifosfat enzimi, serum malondialdehid ve alfa tokoferol düzeylerinin araştırılması. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi dergisi, 22(3): s. 145-151.
- TUN, R.Y.M., PEAKMAN, M., ALVIGGI, L., HOSKINS, P.J., JOHNSON, C. and HEATON, D. 1994. The importance of persistent cellular and humoral immune changes in the pre-diabetic period: a prospective identical twin study. BMJ. 308: s. 1063-8.
- TUNÇDEMİR, M. ve ÖZTÜRK, M., 2000. Octreotide'nin yenidoğan streptozotocin diyabetik siçan Böbreği ve IGF-1 düzeyleri üzerine etkileri. Cerrahpaşa tıp dergisi.Cilt: 33 Sayı 2. 297: s. 135-144.
- UNGER, R.H. and FOSTER, D.W. 1992. Diabetes mellitus. 'In Williams Textbook of Endocrinology' W.B. Saunders Company , Philadelphia. s. 1255-1299.
- VALENTOVIC, M.A., ELLIOT, C.W. and BALL, J.G.1987. Effect of Steptozotocin induced Diabetes and Insulin Treatment on Angiotensin Converting Enzyme Activity. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol 58(1): s. 27-39.
- VALERA, A., RODRIGUEZ-GIL, J.E. and BOSCH, F.1993. Vanadate Treatment Restores the Expression of Genes for Key Enzymes in the Glukose and Ketone Bodies Metabolism in the Liver of Diabetic Rats.J.Clin. Invest.92: s. 4-11.
- VAN YE, T.M., ROZA, A.M., PIEPER, G.M., HENDERSON, J.R., JOHNSON, C.P. and ADAMS, M.B.1993. Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphological damage. J Surg Res. 55: s. 553-558.
- VUKSAN, V., STAVRE, M.P. and SEIVERPIPER, J.L. et al.; 2000. Similar post prandial glycemicroreduction witherulaytion with dose and administration time of American gensing in type 2 Diabetes. Diabetes Care, 23; s.122-216.
- WING, R.R., BLAIR, E.H., BONONI, P., MARCUS, M.D., WATANABE, R. and BERGMAN, R.N. 1994. Caloric restriction perse is a significant factor in improvements in glycemicro control and insulin sensitivity during weight loss in obese NIDDM patients. Diabetes Care. 17: s. 30-36.
- WOLFF, S.P., GARNER, A. and DEAN, R.T. 1986. Free radicals, lipids and protein degradation. Trends in Biochemical Scieences; January. s. 27-31.
- WOLFF, S.P. 1993. Diabetes Mellitus and free radicals. Br. Med. Bull., 49(3); s. 642-652.
- (WHO) World Health Organization: Report of WHO Consultation. Diagnosis and calsification of diabetes mellitus. 1999. s. 1-6.
- YALÇIN, S. 1998. Antioksidanlar. Klinik gelisim II. 8; 11(1). s. 342-46.
- YILMAZ, S. ve ÜSTÜNDAG, B.Türk J Vet Anim Sci.tübitak. 26, s. 549-553.
- ZIMMET, P.Z. 1992. Kelly West Lecture. Challenges in diabetes epidemiology. From west to the rest. Diabetse Care; 15: s. 232-252.

ÖZGEÇMİS

05.06.1980 Elazig’da dogdu.. İlk, orta ve lise öğrenimini Elazig’ da tamamladi. 1997’ de girdigi İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü’nü 2001 yılında tamamladi. 2002 yılında Sanli Urfa’nin Bozova ilçesine öğretmen olarak atandı. 2003 yılında Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Bir çocuk annesidir ve halen görevini sürdürmektedir.

ÖZET

21 wistar albino cinsi hayvan Elazig Veteriner Kontrol ve Arastirma Merkezi'nden temin edildi. Deney hayvanlari üç esit gruba ayrildi GrupD₀, kontrol; GrupD₁, STZ; GrupD₂ STZ + 150mg/kg *Trigonella foenum greacum L.* ekstresi verilmek üzere hazirlandi. Iki hafta ortama uyumlarinin saglanmasi için beklendikten sonra açlık kan sekerleri ölçüldü. Kontrol grubuna hiçbir islem uygulanmadi. GrupD₂'ye üç gün, günde bir kez endoskopik olarak ekstrakt verildi. Bu islemden bir gün sonra gruplara 65mg/kg STZ uygulandi. Haftada bir ağırlıkları ve açlık glukoz düzeyleri ölçüldü. Kan glukoz düzeyi 250 mg/dl altında olan siçanlar deneye alınmadi. Ölçümlerin ertesi günü ekstraktlar verildi. 7. hafta sonunda sag böbrekleri alınarak histolojik çalismalar için %10'luk formaldehitte fikse edildi, sol böbrekleri ise GSH ve MDA analizleri için -80⁰ C de bekletildi.

Yaptigimiz histolojik çalismalar sonucunda kontrol grubunda (GrupD₀) böbrek tübülleri ve glomerüllerinde bir degisiklik olmadigi ancak diyabet grubunda, tübül epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon ve fırçamsi kenar kaybi, glomerül kapiller bazal membranlarında hyalin madde birikimi ve sekonder kalinlasma, glomerüler mezengial matriks artisi, mezengial hücre poliferasyonu ve glomerül bazal membranlarında (GBM) kalinlasma oldugu görülmektedir.

Trigonella foenum greacum L ekstrakti verilen grupta (grupD₂) ise diyabet grubuna göre (grupD₁), glomerül bazal membranlarda daha az kalinlasma oldugu, mezengial matriksin ve hücre sayisinin normal oldugu, arterlerdeki hyalin birikiminin diyabet grubuna göre az oldugu görülmüştür.

Biyokimyasal analizlerden MDA analizi yapıldiginda, diyabet grubu ile *Trigonella* ekstrakti verilen gruplar arasında ileri düzeyde önemli farklar oldugu görülmüştür. GSH miktarlari degerlendirildiginde diyabet ve *Trigonella* gruplarının birbirlerine çok yakin bulundugu görülmektedir.

Kontrol grubunda MDA degeri ortalama olarak 3.18, diyabet grubunda 6.31 ve *Trigonella* grubunda 2.98 olarak hesaplanmistir. Diyabet grubu ile *Trigonella* ekstrakti verilen gruplar arasinda ileri düzeyde önemli farklar oldugu görülmüştür. MDA miktarlari degerlendirildiginde kontrol grubu ile *Trigonella* ekstrakti verilen gruplari birbirlerine çok yakin bulunduğu anlasilmaktadir. Kontrol ile diabet gruplari arasinda ise önemli farklar mevcuttur.

SUMMARY

21 Wistar albino rats were obtained from the veterinary research control center (ELAZIG). The rats were divided into three equal groups (n=7). They were named as Group D₀ normal control untreated group, group D₁ diabetic control group each rat was treated with 65 mg/kg body weight streptozotocin, group D₂ is experimental group was treated with 150 mg/kg *Trigonella foenum greacum* extract respectively. All rats were kept for two weeks and the blood glucose levels were estimated. The glucose levels of diabetic rats with 250 mg/dl or more are taken for experiment. After 7 weeks treatment with *Trigonella* extracts all rats in the experiment were killed by dislocation the kidneys of rats were removed, the Wright kidneys were fixed into %10 formaldehyde. The left kidneys were used for determination of MDA and GSH level.

The histological studies were revealed that there are no changes in kidney sections of group D₀. The diabetic control group D₁ showed changes of the tubule epithelial cells, vacuolar degeneration and loss of terminal brushes of cells.

Accumulation of hyaline materials in the basal membrane of glomerular capillary and secondary thickness, elevation in the mesangial glomerular matrix. Mesangial cell proliferation and thickening in the glomerular basal membrane (GBM) was observed.

Group D₂ treated with *Trigonella foenum greacum* showed less thickness in the GBM. Mesangial matrix and cell counts normal and the accumulation of hyaline is markedly less than of diabetic control group.

Biochemical analysis the level of MDA of levels of treated group D₂ significantly decreased when compared with control D₁ group, while no significant changes in GSH levels.

The mean value of MDA group was 3.18; while the diabetic groups were 6.31

and the MDA levels of *Trigonella* treated group was 2.98. These are significant values between *Trigonella* treated group and control group showed significant changes in MDA value.