

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DİABETİK SIÇAN LENS VE RETİNASINDA MOLEKÜLER SEVİYEDE
MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER VE ANTIOKSİDANLARIN ROLÜ**

Zelal SAVAŞLI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

2005

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DİABETİK SIÇAN LENS VE RETİNASINDA MOLEKÜLER SEVİYEDE
MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER VE ANTİOKSİDANLARIN ROLÜ**

Zelal SAVAŞLI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

2005

Doç.Dr. Nihat DİLSİZ' in danışmanlığında, Zelal SAVAŞLI' nın hazırladığı “Diabetik sıçan lens ve retinasında moleküler seviyede meydana gelen değişiklikler ve antioksidanların rolü” konulu bu çalışma 20.09.2005 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı' nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç.Dr. Nihat DİLSİZ

Üye : Doç. Dr. Davut MUSA

Üye : Prof. Dr. Ziya KARAKILÇIK

Bu tezin Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof.Dr. İbrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu çalışma HÜBAK tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 434

Not: Bu tezde kullanılan özgün veya başka kaynaktan yapılan bildirimlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1. Göz.....	3
2.1.1. Tunica fibrosa bulbi (Dış tabaka).....	4
2.1.2. Tunica vasculosa bulbi (uvea).....	4
2.1.2.1. İris.....	4
2.1.2.2. Siliyer cisim (corpus ciliare).....	4
2.1.2.3. Koroid.....	5
2.1.3. Tunica nervosa bulbi (retina).....	5
2.1.3.1. Retina ve Diabetes Mellitus.....	6
2.1.4. Vitroz cisim.....	7
2.1.5. Lens.....	7
2.1.5.1. Kapsül.....	7
2.1.5.2. Epitel Hücreleri.....	7
2.1.5.3. Lif Hücreleri.....	8
2.2. Diyabet ve Katarakt.....	10
2.3. Diabetes Mellitus.....	10
2.4. İnsülinin Biyokimyası.....	11
2.5. Serbest Radikaller.....	12
2.5.1. Süperoksit serbest radikali (O_2^-).....	14
2.5.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2).....	15
2.5.3. Hidroksil radikali (OH).....	16
2.5.4. Tekli (Singlet) oksijen (1O_2).....	16
2.6. Antioksidanlar.....	17
2.6.1. Enzimatik antioksidanlar.....	18
2.6.1.1. Sitokrom oksidaz.....	18
2.6.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD).....	18
2.6.1.3. Katalaz (CAT).....	18
2.6.1.4. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px).....	19
2.6.2. Enzim olmayan antioksidanlar.....	19
2.6.2.1. Askorbik asit (C vitamini).....	19
2.6.2.2. E Vitamini (alfa-tokoferol).....	20
2.6.2.3. Glutasyon (GSH).....	21
2.6.2.4. <i>Nigella sativa L.</i> (Çörekotu).....	21
2.6.2.5. <i>Cyperus rotundus L.</i>	22
2.6.2.6. <i>Rhus coriaria L.</i>	22
2.6.2.7. <i>Trigonella foenum-graecum L.</i>	22
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	23
3.1. Hayvanların Hazırlanması.....	23
3.2. Deney Hayvanlarının Beslenmesi.....	23
3.3. Deneysel Uygulamalar.....	24
3.4. Bitki Ekstraksiyon Yöntemleri.....	26
3.5. Retina ve Lens Örneklerinin Hazırlanması.....	26
3.6. MDA ve GSH Analizleri.....	27
3.6.1. Retina ve lens örneklerinde MDA analizi.....	27
3.6.1.1. Stok standardın hazırlanması.....	27
3.6.2. Retina ve lens örneklerinde glutasyon (GSH) analizi.....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	31
4.1. Retina GSH Ölçüm Sonuçları.....	31
4.2. Lens GSH Ölçüm Sonuçları.....	35
4.3. Retina MDA Ölçüm Sonuçları.....	39

4.4. Lens MDA Ölçüm Sonuçları.....	43
4.5. Uygulanan İstatistiksel Metot ve Analizler.....	47
4.5.1. Retinada glutasyonun istatistiksel analizi.....	47
4.5.2. Lenste glutasyonun istatistiksel analizi.....	48
4.5.3. Retinada malondialdehitin istatistiksel analizi.....	48
4.5.4. Lenste malondialdehitin istatistiksel analizi.....	49
4.6. Tartışma.....	49
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	64
ÖZET.....	65
SUMMARY.....	67

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

DIABETİK SIÇAN LENS VE RETİNASINDA MOLEKÜLER SEVİYEDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER VE ANTIOKSİDANLARIN ROLÜ

Zelal SAVAŞLI

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Nihat DİLSİZ

Yıl: 2005, Sayfa: 68

Diyabette oksidatif aktivitenin (serbest radikal üretiminin) artışı, antioksidan savunmanın yetersizliği, protein glikozilasyonu, özellikle kontrolsüz diyabette retina ve lensteki glikoz metabolizmasını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum diyabetik retinopati ve katarakta neden olmaktadır. Lipit peroksidasyonu, retinopati ve katarakta sebep olan önemli bir mekanizmadır. Diyabetik katarakt ve retinopatide lipid peroksidasyonunun önemli rol oynadığı malondialdehit (MDA) miktarındaki artışla gösterilmektedir. Bu çalışmada diyabete maruz kalmış sıçan lens ve retina dokularında meydana gelen moleküler değişiklikler, hasarın oluş mekanizması, hasarı önlemede antioksidan maddelerin etkinliği ve etki mekanizmaları araştırılmıştır. Bu amaçla; Kontrol sıçan lens ve retinaları, diyabet oluşturulmuş sıçan lens ve retinaları, *Trigonella foenum-graecum L.*, *Nigella sativa L.*, *Cyperus rotundus L.*, E vitamini ve *Rhus coriaria L.* gibi antioksidan özellikte maddeler uygulanmış diyabetik sıçan lens ve retinalarındaki MDA ve GSH miktarları ölçülmüştür. Diyabetik grubun retina MDA değeri (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubundan (1.18 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) oldukça yüksek bulunmuştur. *C. rotundus L.* (1.17 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *N. sativa L.* (1.03 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *T.foenum-graecum L.* (1.48 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının MDA değerinin kontrol grubu (1.18 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) MDA değerine yakın olduğu görülmüştür. Vitamin E (6.34 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *R. coriaria L.* (6.68 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının MDA değeri ise diyabet grubuna (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın bulunmuştur. Diyabetik grubun lens MDA değeri (0.13 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) kontrol grubundan (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yüksek bulunmuştur. *C. rotundus L.* (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), *T. foenum-greacum L.* (0.09 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), Vitamin E (0.07 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ve *R. coriaria L.* (0.05 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) gruplarının MDA değerlerinin kontrol grubuna (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yakın olduğu görülmüştür. *N. sativa L.* grubunun MDA değeri (0.14 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ise diyabet grubu (0.13 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) MDA değerine yakın bulunmuştur. Diyabetik grubun retina GSH değeri (0.55 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubundan (1.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) düşük bulunmuştur. *T. foenum-greacum L.* grubunun GSH değeri (0.65 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubu GSH değerine (1.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) az da olsa yakın bulunmuştur. *N.sativa L.* (0.46 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), Vitamin E (0.41 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *R. coriaria L.* (0.38 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *C. rotundus L.* (0.30 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının GSH değerlerinin diyabet grubu GSH değerine (0.55 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın olduğu görülmüştür. Diyabetik grubun lens GSH değeri (5.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) kontrol grubundan (28.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) oldukça düşük bulunmuştur. *C. rotundus L.* (26.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), *N. sativa L.* (17.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), Vitamin E (15.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ve *T. foenum-greacum L.* (11.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) gruplarındaki GSH değerlerinin kontrol grubuna (28.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yakın olduğu görülmüştür. Sonuç olarak diyabetin peroksidasyon ürünü olan MDA oluşumunu arttırdığı ve bir antioksidan olan GSH miktarını düşürdüğü bulunmuştur. Kullanılan antioksidanların ise MDA oluşumunu engellediği ve antioksidan olan GSH miktarını koruduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Diyabet, Diyabetik retinopati, Diyabetik katarakt, Serbest radikaller, Antioksidanlar

ABSTRACT

Master Thesis

THE ROLE OF ANTIOXIDANTS ON MOLECULAR IN CHANGES IN DIABETIC RAT RETİNA AND LENS

Zelal SAVAŞLI

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

Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Nihat DİLSİZ

Year: 2005, Page: 68

In diabet, increase in the oxidative activity (production of free radicals), insufficiency in antioxidant defense and protein glycosylation have negative effects in retina and lens on the metabolism of glucose, especially in uncontrolled diabet. This results lead to diabetic retinopathy and cataract. Lipid peroxidation could be one of the mechanisms in retinopathy and cataractogenesis in diabetic retinopathy and cataract, it is shown by the increase in Malondialdehyde (MDA) content that lipid peroxidation. In this study, Molecular changes in diabetic retina and lens tissues of the rats, the mechanism of damage development, influences of the antioksidants on preventing from damage and influence mechanisms were investigated. For this purpose, MDA and GSH contents were measured in control rat retina and lenses, diabet induced in rat retina and lenses, antioxidant materials such as *Trigonella foenum-graecum L.*, *Nigella sativa L.*, *Cyperus rotundus L.*, Vitamin E, *Rhus coriaria L.* applied diabetic rat retina and lenses. Retina MDA level of diabetic group (5.04 nmol/ 100 mg retina wet weight) was found quite higher than the control group (1.18 nmol/ 100 mg retina wet weight). MDA level of the groups *C. rotundus L.* (1.17 nmol/ 100 mg retina wet weight), *N. sativa L.* (1.03 nmol/ 100 mg retina wet weight) and *T. foenum-graecum L.* (1.48 nmol/ 100 mg retina wet weight) was observed close to the MDA level of the control group (1.18 nmol/ 100 mg retina wet weight). MDA level of the group of Vitamin E (6.34 nmol/ 100 mg retina wet weight) and *R. coriaria L.* (6.68 nmol/ 100 mg retina wet weight) was found close to the diabetic group (5.04 nmol/ 100 mg retina wet weight). Lens MDA level of diabetic group (0.13 nmol/ 100 mg lens wet weight) was found higher than the control group (0.08 nmol/ 100 mg lens wet weight). MDA level of the groups *C. rotundus L.* (0.08 nmol/ 100 mg lens wet weight), *T. foenum-graecum L.* (0.09 nmol/ 100 mg lens wet weight), Vitamin E (0.07 nmol/ 100 mg lens wet weight) and *R. coriaria L.* (0.05 nmol/ 100 mg lens wet weight) was observed close to the control group (0.08 nmol/ 100 mg lens wet weight). MDA level of the group *N. sativa L.* (0.14 nmol/ 100 mg lens wet weight) was found close to the MDA level of diabetic group (0.13 nmol/ 100 mg lens wet weight). Retina GSH level of diabetic group (0.55 nmol/ 100 mg retina wet weight) was found lower than the control group (1.04 nmol/ 100 mg retina wet weight). The GSH level of the group *T. foenum-graecum L.* (0.65 nmol/ 100 mg retina wet weight) was found close to control group (1.04 nmol/ 100 mg retina wet weight) of GSH level with a small difference. The GSH level of the groups *N. sativa L.* (0.46 nmol/ 100 mg retina wet weight), Vitamin E (0.41 nmol/ 100 mg retina wet weight), *R. coriaria L.* (0.38 nmol/ 100 mg retina wet weight) and *C. rotundus L.* (0.30 nmol/ 100 mg retina wet weight) was observed close GSH level of diabetic group (0.55 nmol/ 100 mg retina wet weight). Lens GSH level of diabetic group (5.6 nmol/ 100 mg lens wet weight) was found rather less than control group (28.5 nmol/ 100 mg lens wet weight). GSH level of the groups *C. rotundus L.* (26.08 nmol/ 100 mg lens wet weight), *N. sativa L.* (17.6 nmol/ 100 mg lens wet weight), Vitamin E (15.5 nmol/ 100 mg lens wet weight) and *T.foenum-graecum L.* (11.6 nmol/ 100 mg lens wet weight) was observed close to control group (28.5 nmol/ 100 mg lens wet weight). As result, It was found that diabet increased formation of peroxidation substrat MDA and decreased the level of GSH which is an antioxidant. It was observed that antioxidant, which is used, prevented the formation of peroxidation substrat MDA and protected quantity of a antioxidant GSH.

KEY WORDS: Diabet, Diabetic retinopathy, Diabetic cataract, Free radicals, Antioxidants

TEŞEKKÜRLER

Tez çalışmam boyunca her türlü desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışmanım Sayın Doç. Dr. Nihat DİLSİZ'e, Doç. Dr. Davut MUSA'ya, eğitimimdeki katkılarından dolayı bölümdeki bütün hocalarıma, istatistiksel analizleri yapmamda bana yardımcı olan Dr. İsmail YILDIZ'a, Yrd.Doç.Dr. Zeki DOĞAN'a, Gülten ŞENOCAK'a, Arş. Gör. Ayşe ŞAHAPOĞLU'na, her zaman destek ve yardımlarını benden esirgemeyen aileme , projeme destek sağladığı için HÜBAK'a teşekkürü borç bilirim.

SİMGELER DİZİNİ

CAT	Katalaz
dl	Desilitre
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
GSH	Glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
MDA	Malondialdehit
nmol	Nanomol
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Redükte Formu
OH	Hidroksil radikali
SDS	Sodyum dodesil sülfat
STZ	Streptozotosin
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TBARS	Thiobarbitürik asit reaktif maddeleri
TET	Tetraetoksipropan
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar (10 ⁻⁶)

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi.....	23
Çizelge 3.2. Stok standardın hazırlanması.....	28
Çizelge 3.3. MDA standart eğrisinin hazırlanması.....	28
Çizelge 3.4. Çalışma solusyonu.....	29
Çizelge 3.5. GSH Standart eğrisinin hazırlanması.....	30
Çizelge 4.1. Kontrol grubunda GSH değerleri.....	31
Çizelge 4.2. Diyabet grubunda GSH değerleri.....	31
Çizelge 4.3. STZ+ <i>Trigonella foenum-graecum L.</i> grubunda GSH değerleri.....	32
Çizelge 4.4. STZ+ <i>Nigella sativa L.</i> grubunda GSH değerleri.....	32
Çizelge 4.5. STZ+ <i>Cyperus rotundus L.</i> grubunda GSH değerleri.....	32
Çizelge 4.6. STZ+ E vitamini grubunda GSH değerleri.....	33
Çizelge 4.7. STZ+ <i>Rhus coriaria L.</i> grubunda GSH değerleri.....	33
Çizelge 4.8. Tüm gruplardaki GSH ortalama değerleri.....	33
Çizelge 4.9. Kontrol grubunda GSH değerleri.....	35
Çizelge 4.10. Diyabet grubunda GSH değerleri.....	35
Çizelge 4.11. STZ+ <i>Trigonella foenum-graecum L.</i> grubunda GSH değerleri.....	36
Çizelge 4.12. STZ+ <i>Nigella sativa L.</i> grubunda GSH değerleri.....	36
Çizelge 4.13. STZ+ <i>Cyperus rotundus L.</i> grubunda GSH değerleri.....	36
Çizelge 4.14. STZ+ E vitamini grubunda GSH değerleri.....	37
Çizelge 4.15. STZ+ <i>Rhus coriaria L.</i> grubunda GSH değerleri.....	37
Çizelge 4.16. Tüm gruplardaki GSH ortalama değerleri.....	37
Çizelge 4.17. Kontrol grubunda MDA değerleri.....	39
Çizelge 4.18. Diyabet grubunda MDA değerleri.....	40
Çizelge 4.19. STZ+ <i>Trigonella foenum-graecum L.</i> grubunda MDA değerleri.....	40
Çizelge 4.20. STZ+ <i>Nigella sativa L.</i> grubunda MDA değerleri.....	40
Çizelge 4.21. STZ+ <i>Cyperus rotundus L.</i> grubunda MDA değerleri.....	41
Çizelge 4.22. STZ+ E vitamini grubunda MDA değerleri.....	41
Çizelge 4.23. STZ+ <i>Rhus coriaria L.</i> grubunda MDA değerleri.....	41
Çizelge 4.24. Tüm gruplardaki MDA ortalama değerleri.....	41
Çizelge 4.25. Kontrol grubunda MDA değerleri.....	43
Çizelge 4.26. Diyabet grubunda MDA değerleri.....	43
Çizelge 4.27. STZ+ <i>Trigonella foenum-graecum L.</i> grubunda MDA değerleri.....	44
Çizelge 4.28. STZ+ <i>Nigella sativa L.</i> grubunda MDA değerleri.....	44
Çizelge 4.29. STZ+ <i>Cyperus rotundus L.</i> grubunda MDA değerleri.....	44
Çizelge 4.30. STZ+ E vitamini grubunda MDA değerleri.....	45
Çizelge 4.31. STZ+ <i>Rhus coriaria L.</i> grubunda MDA değerleri.....	45
Çizelge 4.32. Tüm gruplardaki MDA ortalama değerleri.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Gözün genel yapısı.....	3
Şekil 2.2. Retina tabakası.....	6
Şekil 2.3. Oksidan-antioksidan denge.....	12
Şekil 2.4. Vitamin E (alfa-tokoferol).....	20
Şekil 4.1. GSH standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.....	34
Şekil 4.2. Sıçan retina örneklerinde GSH miktarı.....	34
Şekil 4.3. GSH standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.....	38
Şekil 4.4. Sıçan lens örneklerinde GSH miktarı.....	38
Şekil 4.5. MDA standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.....	42
Şekil 4.6. Sıçan retina örneklerinde MDA miktarı.....	42
Şekil 4.7. MDA standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi.....	48
Şekil 4.8. Sıçan lens örneklerinde MDA miktarı.....	48

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), pankreasın salgıladığı hormonlardan biri olan insülinin salgılanmaması, yetersizliği veya etkisizliği sebebi ile kan şekeri düzeyinin normalin üzerinde bulunması ve idrarda şekeri çıkması sonucu teşhis edilen bir hastalıktır. Hastalığın iyi kontrol edilmemesi durumunda, başta katarakt ve retinopati olmak üzere , böbrek yetmezliği, koroner kalp hastalığı ve iskemik beyin hasarı gibi önemli komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir (Harding, 1991; Paolisso ve ark., 1996).

Diyabetik hastalardaki yüksek glukoz düzeyi oksidatif hasara yol açan serbest radikallerin meydana gelmesine neden olmaktadır (Çelik ve Yılmaz, 1999). Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, karbohidrat ve DNA gibi tüm önemli bileşenlerini etkilemektedir (Jacob ve Burr, 1996). Serbest radikaller vücutta oldukça önemli miktarlarda üretilen, dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla paylaşılmamış elektron taşıyan, reaktif özellik gösteren bileşiklerdir. Zararlı etkilerinden en önemlisi çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur. Oksidasyonda hidroksil, singlet oksijen ve süperoksit radikalleri ile peroksil ve alkoksil radikalleri rol oynamaktadır (Gutteridge, 1995). Bu reaksiyon doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomunun koparılması ile başlayıp, geride kalan karbon atomunun üzerindeki paylaşılmamış elektronda devam etmektedir. Meydana gelen bu elektron konjuge dienleri meydana getirmekte, bu bileşik ise oksijenle birleşerek peroksil radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır. Bu şekilde peroksidasyon başlamakta, en son olarak siklik peroksitler ve endoperoksitler meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonu son ürünlerinden birisi de malondialdehit (MDA)'dir. Serbest radikaller tüm bu etkileri sonucunda oto katalitik etkiyle lipidlerin okside olmasına ve sonuçta membran hasarına yol açmaktadır (Stringer ve ark., 1989).

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (Uysal, 1998). Savunma sistemlerini serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır. Savunma sisteminde

öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz serbest radikallerin birikmesini ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir. Enzimsel savunma yeterli olmayıp lipid peroksidasyonu başlarsa düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları olarak bilinen GSH, E vitamini, Askorbik asit, bilirubin ve karotenler, ürik asit gibi yağ asitleri yerine kendileri yükseltgenerek reaksiyonun devamını engellerler (Freeman ve ark., 1982; Halliwell ve ark., 1989).

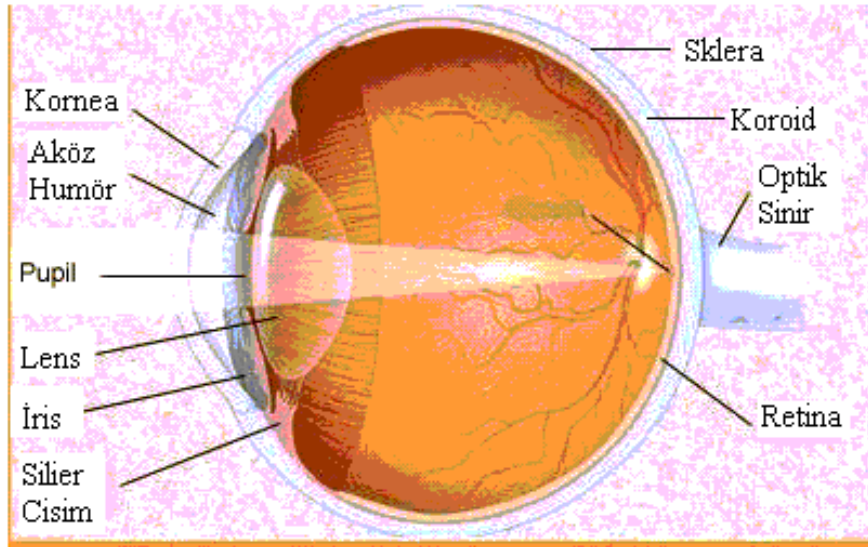
Lens ve retinada serbest radikallerin birikimi sonucu lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan malondialdehit (MDA) birikmeye başlar. Lipid peroksidasyonunun ürünü MDA, proteinler ile birleşir ve onlarda disülfid köprülerinin oluşumu yüksek moleküllü protein oluşumu, agregasyon, deamidasyon ve nonenzimatik glikozilasyon gibi postsentetik değişimlere neden olmaktadır. Glikozilasyonun, protein oksidasyonunu aktive ederek katarakt ve retinopati oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir (Boscia ve ark., 2000).

Antioksidanların serbest radikallere karşı koruyucu etkisi bilinmektedir (Yu, 1994). Serbest radikaller ve antioksidanların hastalıklardaki rolü son yıllarda büyük ilgi uyandırmıştır. Bitkilerin geleneksel olarak tıbbi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. *Trigonella foenum-graecum L.*, *Nigella sativa L.*, *Cyperus rotundus L.* ve *Rhus coriaria L.* tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerdir (Ali ve ark., 1995; Aqel ve Shaheen, 1996; Abdel-Bary ve ark., 1997; Türker ve Bayrak, 1997). Bu çalışmada streptozotosin ile diabet oluşturulmuş sıçan retina ve lenslerindeki MDA ve GSH miktarlarına vitamin E (α - tokoferol), *Trigonella foenum-graecum L.*, *Nigella sativa L.*, *Cyperus rotundus L.* ve *Rhus coriaria L.*'nin etkisi karşılaştırılmalı olarak araştırılmıştır. Böylece göz kusurlarının moleküler düzeyde araştırılması ve bu konuda tıbbi tedavi yöntemlerine katkıda bulunmak amaçlanmaktadır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Göz

Göz, göz yuvarlağı, n. opticus göz kapakları, conjunctiva, lacrimal aparat (göz yaşı aparatı) ve göz kasları ek yapılarını içine alan görme organıdır (Yıldırım, 1996). Göz küresi orbita adı verilen göz çukurunun ön yarısında yağ ve bağ doku ile çevrili bir fasya hamağının üzerinde yer alan, yaklaşık 2.5 cm. çapında 7.5 gr. ağırlığında, yuvarlak bir kameradır. İç boşluğundaki üç odacığa ayrılmış olan göz küresi, üç tabakalı bir duvar yapısına sahiptir. Dıştan içe doğru tunica fibrosa bulbi (sklera ve korneadan oluşur), tunica vasculosa bulbi (koroid, siliyer cisim ve iris tabakası) ve tunica interna bulbi (pigmentli retina ve sensoriyel retina) olmak üzere üç tabakadan oluşur (Yıldırım, 1996; Arıncı ve Elhan, 1997; Apaydın, 2001).



Şekil 2.1. Gözün genel yapısı (<http://www.gata.edu.tr>)

2.1.1. Tunica fibrosa bulbi (Dış tabaka)

Göz küresinin en dışında yer alan bu koruyucu fibröz tabaka arkada gözün altıda beşini oluşturan sklera, önde altıda birini oluşturan kornea ve bunları birleştiren halka, yani limbustan meydana gelir (Akın, 2001). Sklera, donuk beyaz renklidir. Limbustan lamina cribrozaya kadar uzanır. Kalınlığı 1 milimetredir. Damar bakımından fakirdir. Ön silier arterle beslenir. Kısa silier sinirle inerve olur. Kornea, birinci optik ortamdır. Kornea damarsız, şeffaf ve hafif öne çıkık olup ortalama 1 milimetre kalınlığındadır.

2.1.2. Tunica vasculosa bulbi (uvea)

Yoğun pigmentli ve damarlı olan bu tabaka önden arkaya iris, corpus ciliare ve koroid olarak ayrılır.

2.1.2.1. İris

Tunica vasculosa bulbi'nin ön tarafta bulunan bölümü olup, 12 milimetre çapında ortası delik bir bölme şeklinde kornea ve lens arasında bulunur. İris, stromasındaki pigment granül miktarı ile gözün rengini belirleyen, ortada oluşturduğu pupilla açıklığı ile göze giren ışık yoğunluğunu etkileyen yapıdır (Arıncı, 1997).

2.1.2.2. Siliyer cisim (corpus ciliare)

Uveanın iris ile koroid arasında kalan kısmı olan corpus ciliare, bir yandan prosesuslarında ön kamara sıvısının yapımını sürdürürken, öte yandan bu çıkıntıların devamı olan zinn lifleri ile kristalin lensi yerinde tutar ve silier kasın yardımıyla akomodasyon dediğimiz yakına bakışta lensin kırıcılığını artırma olayını yönetir (Akın, 2001).

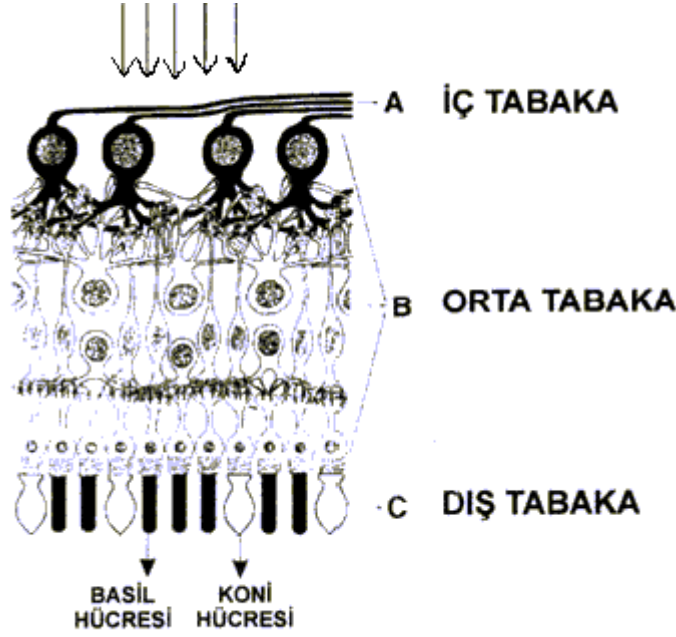
2.1.2.3. Koroid

Retinanın dış tabakasını besleyen, pigmentli ve damar bakımından en zengin olan bölgedir (Akın, 2001). Koroidin kan damarlarının boyutları içten dışarıya doğru artar. Tüm damarlar pigmentli bağ dokusu hücrelerinden oluşan bir stroma içinde yerleşmişlerdir. Koroid, her noktada sklerayla temas halinde olan ileri derecede vasküler bir membrandır (Miller, 1989).

2.1.3. Tunica nervosa bulbi (retina)

Retina önemli kimyasal ve fiziksel olayların merkezidir. Görme mekanizması bu olayların esasına dayanır (Vural, 1997). Renkli görmeden sorumlu olan konileri ve esas olarak karanlıkta görmeden sorumlu olan basilleri içeren, gözün ışığa duyarlı bölümüdür. Basil ve koniler uyarıldıklarında, sinyaller retinadaki ardışık nöronlara ve sonuçta optik sinir liflerine ve buradan da beyin korteksine iletilir. (Guyton ve Hall, 2001).

Retina, sklera ve koroidden sonra göz küresinin en içteki üçüncü katmanıdır. Optik sinirden ora serataya kadar uzanır. İçte vitre, dışta koroid ile komşudur. Retina, pigmentli retina ve saydam bir zar olan sensoriyel retinadan oluşmuştur. Pigment epitelini koroide sıkıca yapışmıştır. Pigmentli retina tek katlı hücre tabakasından oluşur ve yapısında melanin bulunur. Pigment epitelindeki melanin, ışığın koroide ve göz dışına geçmesini engellemesi yanında, fotoreseptörlerdeki foto-kimyasal reaksiyonlar sonucu açığa çıkan ısıyı emerek termostat görevi de yapar. Sensoriyel retina ise mitozlar sonucu fotoreseptörler (basil ve koni hücreleri), sinyalleri basil ve konilerden bipolar hücre dendritlerine yatay olarak ileten horizontal hücreler, sinyalleri basil, koni ve horizontal hücrelerden gangliyon ve amakrin hücrelere ileten bipolar hücreler, sinyalleri bipolar hücrelerden gangliyon hücrelerine ileten amakrin hücreler ve destek hücreleri olan müller hücrelerinden meydana gelmiştir (Thuman ve Hinton, 1997; Bengisu, 1998; Guyton ve Hall, 2001).



Şekil 2.2. Retina tabakası (Güzelmansur, <http://www.afsad.org.tr>)

Retinanın iç tabakaları için besleyici kan desteği, göz küresine optik sinir ile birlikte giren ve sonra tüm iç retina yüzeyine dallanan retinal arterden sağlanır. Bununla beraber retinanın dış tabakalarının çoğu, retina ve sklera arasında damarsal bir yapı olan koroidden beslenir (Harris ve ark., 1997).

2.1.3.1. Retina ve Diabetes Mellitus

Diyabetik retinopati gelişiminde gerçek mekanizma bilinmemekle birlikte birçok teori ileri sürülmektedir. Diyabet gelişiminde hiperglisemik durum serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır. Komplikasyonların gelişmesinde birçok biyokimyasal yol (glukoz otooksidasyonu, poliol yolu, prostanoid sentezi, protein glikozilasyonu) hiperglisemi ile yakından ilişkilidir. Tüm bunlar serbest radikal oluşumunu arttıran olaylardır (Baynes, 1991; Barnet, 1993; Giugliano ve ark., 1996). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, ortamda glukozun artışı (diyabet) başta katarakt ve retinopati olmak üzere birçok hastalığa sebep olmaktadır (Harding, 1991). Katarakt ve retinopati oluşmuş insan ve hayvanlarda bir antioksidan olan GSH düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (Ready, 1990).

2.1.4. Vitröz cisim

Corpus vitreum, %90'ı su olan, jel kıvamında saydam bir oluşumdur (Yıldırım, 1996). Işığı kıran en büyük yapıdır ve ora serrata'nın arkasında kalan boşluğu (camera vitrea) doldurur. Corpus vitreum'un içindeki jelatinöz sıvıya humor vitreus, etrafını saran zara ise membrana vitrea denilir. Corpus vitreum'da kan damarı bulunmaz, bu nedenle beslenmesi komşusu olan retina ve processus ciliaris'in damarlarından beslenir (Arıncı, 1997).

2.1.5. Lens

Lens, irisin arkasında, vitrenin önünde bikonveks, özel biçimde diferansiye olmuş epitel kitlesinden oluşan saydam bir mercektir. Zonüler lifleri aracılığı ile silier cisme asılı durur ve pupilladan göze giren ışığı kırarak retina üzerinde toplar. Işığın retina üzerinde odaklanması siliyer cisim, zonüller ve lens arasındaki bir mekanizma ile gerçekleştirilir. Lens yaşlandıkça ışığın odaklama gücü de azalır (Miller, 1989; Bengisu, 1998, Apaydın, 2001). Damar ve sinir dokusu olmayan lens, kapsül, epitel ve lif hücrelerinden oluşmuştur.

2.1.5.1. Kapsül

Lens kapsülü, embriyonda, plaka devrinden itibaren, epitel hücrelerinin bazal zarı şeklinde mevcuttur. Yetişkinlerde önde epitel, arkada lens lifleri tarafından salgılanır. Saydam ve esnek olan bu kapsül, lensin tamamını çevreler. Hücrelidir. Kalınlığı lensin her tarafında aynı değildir. Şeffaf olan bu kapsül, ön yüzde daha kalındır (Bengisu, 1998).

2.1.5.2. Epitel hücreleri

Embriyonda lens vezikülünün arkadaki epitel katı hücreleri, birincil lens lif hücrelerine dönüşerek embriyoner çekirdeği oluşturduklarından, epitel katı arkada yoktur. Yetişkinlerde epitel sadece önde vardır. 2000 dolayında, küp

şeklinde tek katlı hücrelerden oluşmuştur. Bu epitel hücreleri sadece merceğin ön orta kısmında bu şekillerini korurlar, ekvatora yaklaştıkça uzunlamasına büyürler ve sonunda ince uzun bir lif şeklini alırlar ve ekvatoru dolanarak lens içine girerler. Lens lifine dönüşen hücrede çekirdek, mitokondri ve ribozomlar yok olur. Lens lif üretimi sürekli devam eder ve yeni oluşan lifler eskilerini dıştan sararak sayıları 2000-3000'i bulan lamelleri oluşturur (Bengisu, 1998).

2.1.5.3. Lif hücreleri

Lens lif hücrelerinin gençleri yüzeyde, en yaşlıları da merkezde yer alır. Genç lif hücrelerinin stoplazma ve çekirdekleri belirgin olup merkeze ilerledikçe çekirdek ve mitokondri gibi normal organelleri kaybolur. Merkezdeki yaşlı lifler daha koyu renkte görülürler. Katlar arasındaki optik yoğunluktan ötürü çeşitli optik alanlar ortaya çıkar. Bunlar fötal, embriyoner, infantil, yetişkin çekirdekler ve kabuk olarak ayırt edilir (Arıncı, 1997; Bengisu, 1998; Karel, 2001).

Lens, Zinn lifleri ile corpus ciliare'ye bağlanır. Corpus ciliare'nin yapısındaki düz kas liflerinin kasılıp gevşemeleri sonucu lensin kalınlığı-kırıcılığı değişir. Yakındaki cisimleri net görebilmesi için lensin kırıcılığının artmasına akomodasyon (uyum) denir (Yıldırım, 1996).

Lens ince kenarlı yakınsak bir mercektir. Lensin kırma gücü 20 diyoptridir. Lens bu kırma gücüyle, korneadan sonra gözün ikinci önemli optik mekanizmasını oluşturur. Yakına geldikleri için, görüntüleri retina arkasına düşen cisimlerin net görülebilmeleri için, lens kırma gücünü artırır ve görüntü retina üstüne gelir (Bengisu, 1998). Lens beslenmesini tamamen içinde bulunduğu aköz hümörden sağlar. Sıvı alışverişi kapsülün ve subkapsüler epitelin yarı geçirgenliği ile düzenlenir (Miller, 1989).

Doğumda 60-65 mg olan insan lensi yaş ilerledikçe 250-260 mg ağırlığına kadar ulaşır (Çakınel, 1992). Lensin ağırlığının %66'sını su, %33'ünü protein, %1'ini aminoasit, lipit, karbonhidratlar, elektrolitler ve peptitler oluşturur.

Lens diğer dokulara oranla daha fazla protein içerir. Lens proteinleri, suda eriyen ve suda erimeyen proteinler olmak üzere iki grupta toplanırlar. Suda eriyen proteinler hücre içindedirler ve proteinlerin %90'ını oluştururlar. Alfa, beta ve gama kristalinler olarak üç grupta toplanmışlardır. Alfa kristalinler toplam proteinlerin %32'sini oluştururlar. Üretimleri lens epitelinde gerçekleşir ve lens liflerinde yapımları azalır. Lenste en fazla beta kristalinler (%55) bulunur. Üretimleri, epitel hücrelerinin lens lifine dönüştüğü germinatif bölgede yapılır. Suda eriyen proteinler içerisinde en az gama kristalinler (%15) bulunur. Lens lifine dönüşümde ortaya çıkarlar. Lensin suda eriyen proteinleri yaşlanmayla disülfid bağlarıyla birbirine bağlanarak suda erimeyen proteinlere dönüşürler (Bengisu, 1998; Karel, 2002).

Suda erimeyen proteinler hücrelerin iskeletini oluştururlar ve lensin şeklinin korunmasını sağlarlar. Lensin suda erimeyen proteinleri, üre içerisinde eriyebilen proteinler ile üre içerisinde erimeyen proteinler olmak üzere ikiye ayrılır (Zelenka, 1984). Suda erimeyen proteinler lens liflerinin zarlarında bulunurlar. Epitel hücrelerinde yoktur. Yaşlı ve kataraktlı lenslerde, oksidasyon mekanizmasının artmasıyla birlikte, ürede ve suda erimeyen proteinlerde artma görülür. Yetişkinlerde saydam lenslerde protein oranı %81 iken kataraktlılarda bu oran %51'e kadar düşer (Bengisu, 1998).

İnsan lensinin %66'sını su oluşturur. Bu oran nukleusa doğru gidildikçe azalır. Hücre içi suyun regülasyonu büyük ölçüde sodyum ve potasyum gibi katyonlara bağlıdır (Karel, 2001). Lensin hücre içi kalsiyum oranı çok düşüktür. Bu oranın artması katarakta neden olabilmektedir (Ovalı, 2001).

Lens lipitleri, fosfolipitler, kolesterol ve glikosfingolipitlerdir. Stabil olan lens hücre membranı düşük akıcılığa sahiptir. Lens lif membranının temel yapı taşı olan lipitlerin sentezlerindeki herhangi bir tahribat, lensin transport mekanizmalarını bozmakta ve sonuçta opaklaşma meydana gelmektedir (Zelenka, 1984; Cotlier, 1987).

2.2. Diyabet ve Katarakt

Serumda glikozun artması, kamaralar sıvısında da glikoz düzeyinin yükselmesine ve diffüzyon yoluyla lens içine girmesine neden olur. Diyabetlilerde glikozun sorbitole dönüşerek lens içinde birikmesi ozmotik basıncın yükselmesine, lens içine su moleküllerinin girmesine ve lensde şişmeye yol açar. Genç diyabetlilerde, başlangıçta ön ve arka kapsül altında, gri-beyaz, çok sayıda, “kar tanecikleri” görünümünde, kesifler ortaya çıkar. Gliseminin kontrol altına alınmadığı olgularda lenste olgun katarakt oluşur. Yaşlı diyabetli hastalarda, lens içinde sorbitol birikimi, oksidasyon reaksiyonları ile birleştiği için katarakt olasılığı normal yaşlılara göre daha fazladır (Bengisu, 1998).

2.3. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM); pankreastaki Langerhans odacıklarının β hücrelerinden salgılanan insülinin hormonunun salgılanmaması, yetersizliği veya etkisizliği sebebi ile kan glikoz seviyesinin normalin üzerinde bulunması ve idrarda şeker çıkması sonucu teşhis edilen bir hastalıktır (Mercangöz, 1991; Wolff, 1993; Güney ve ark., 1996).

Primer diyabetin Tip I (insüline bağımlı diyabet) ve Tip II (insüline bağımlı olmayan diyabet) olmak üzere iki tipi vardır. Tip I DM daha çok çocuklarda ve genç erişkinlerde, Tip II DM ise daha çok erişkinlerde görülmektedir. Her iki tip diyabette de hastalığın iyi kontrol edilmemesi ve ilerlemesi durumunda da böbrek yetmezliği, retinopati, katarakt, koroner kalp hastalığı ve iskemik beyin hasarı gibi önemli komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Diyabetli bir bireyin, normal bir bireye göre kör olma riski 25 kat, böbrek hastalığına yakalanma riski 20 kat, koroner kalp hastalıklarına yakalanma riski de 2 ile 4 kat daha fazladır (Kutlu ve Mercangöz, 1996; Çiğremiş ve ark., 2003).

DM, insülin yapımındaki yetersizlik veya yapılan insülinin etkisini engelleyen faktörlerin varlığına bağlı olarak ortaya çıkan bir sendromdur. İnsülin,

pankreas da üretilen ve glukozun hücrelere girmesini sağlayan bir hormondur. İnsülin yetersizliği veya etkisizliği bir yandan hücrelerin glukozu enerji kaynağı olarak kullanmasını engellerken, diğer yandan da kan şekerinin yükselmesine neden olur. Bu durumda, hücreler enerji gereksinimlerini başka yollardan karşılamaya başlarlar. Bu hiperglisemik durum serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır. Glukozun otooksidasyonu sonucu son yörüngelerinde bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron içeren yüksek reaktif bileşikler olan serbest radikaller aşırı miktarda oluşmakta ve oksidan/antioksidan denge bozulmakta, böylece oksidatif stres artmaktadır (Çiğremiş ve ark., 2003; Öner, 2004).

Diyabetik komplikasyonların oluşumu iki mekanizma ile açıklanmaktadır. İlk mekanizmada, özellikle iyi kontrol edilemeyen diyabette proteinlerin nonenzimatik glikozillenmesinin arttığı ve bu glikozillenen proteinlerin oksidasyonu sonucu serbest radikallerin oluştuğu savunulmaktadır. Plazma membran proteinleri ve insülin bağımsız glukoz alan lens gibi dokuların hücrelerindeki proteinler, uzun süre yüksek konsantrasyonda glukoz ile karşı karşıya kalırsa, glukoz hızla proteinlerin amino gruplarına nonenzimatik yolla bağlanır. Bunun tipik örneği glikozillenmiş hemoglobindir (Öner, 2004).

İkinci mekanizmada, diabetes mellitus'da artan kan glukozuna paralel olarak insülin bağımsız glukoz alan dokuların hücrelerinde glukoz konsantrasyonunun yükseldiği ve dokulardaki artmış glukozun fosforile olmadan enzimatik olarak sorbitol üzerinden fruktoza fazla miktarda dönüştüğü ve bunları metabolize etmeğe yetecek kadar ilgili enzim olmadığından hücre içinde sorbitol ve fruktozun biriktiği iddia edilmektedir. Sorbitol ve fruktozun aşırı miktarda birikmesi ile meydana gelen ozmotik değişimler bu doku ve organların yapısına bağlı olarak patolojik hallerin sebebi sayılmaktadır (Öner, 2004).

2.4. İnsülinin Biyokimyası

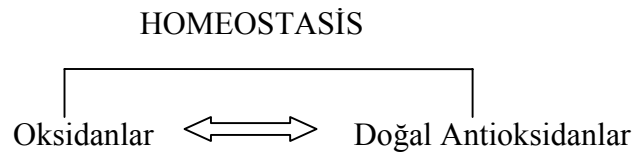
İnsülin β hücrelerinde sentezlenen küçük bir proteindir ve insan insülininin molekül ağırlığı 5808 dalton'dur. β hücreleri tarafından yapılan

insülin, burada depolanır ve porta dolaşıma salınır (Guyton ve Hall, 2001). Endoplazmik retikulum içinde yapılan insülin golgi aygıtına geçer ve burada çevresi bir membranla çevrilir. Burada olgunlaşma devam eder ve proteazlar etkisi ile proinsülin molekülünün bir bölümünü teşkil eden C-peptit veya birleştirici peptit ayrılır. Böylece aktif insülin molekülü oluşur (Alp ve Molvalılar, 1987).

İnsülinin en belirgin etkisi, hücre içine glikoz girişini hızlandırmak ve bunun sonucu glikoz kullanılmasını arttırmaktır. İnsülin bu etkisini göstermeden önce hücre zarındaki reseptörlere bağlanır. İnsülin reseptörlerinin varlığı yağ, karaciğer, monosit, lenfosit ve eritrositlerde gösterilmiştir. İnsülin reseptörlerinin sayısının artması ve/veya affinitesinin yükselmesi insüline duyarlılığı artırır. Bunun aksi ise insülin etkisine karşı direnç yaratır (Alp ve Molvalılar, 1987).

2.5. Serbest Radikaller

Serbest radikal reaksiyonları, normal metabolik yolların işleyişlerinin doğal bir sonucudur. Oksidan moleküller organizmada başlıca glikozun oksidasyonu olmak üzere tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırası ve sonrasında sürekli bir oluşum halindedir. Endojen antioksidanlar adı verilen moleküller tarafından sürekli etkisizleştirme süreci içerisinde. Bu oluşum ve etkisizleştirme olayları organizmalarda bir denge halindedir.



Şekil 2.3. Oksidan-antioksidan denge

Serbest radikal molekülleri, belirli düzeyde kaldıkları sürece, organizmanın yabancı maddelere ve enfeksiyöz ajanlara karşı savunmasında önemli

moleküllerdir. Ancak, serbest radikaller belirli düzeyin üzerinde oluşur ve antioksidanlar yetersiz kalırsa söz konusu serbest radikaller hücrenin yapı elemanları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerin yapılarını bozarak zararlı etkilere yol açarlar (Tamer ve ark., 2000). Lipitler serbest radikal hasarına karşı en hassas yapılardır. Serbest radikaller yağ asitlerindeki doymamış bağlarla kolayca reaksiyona girerek lipitlerin peroksidasyonuna neden olurlar (Halliwell, 1996).

Serbest radikaller iyonların veya uyarılmış moleküllerin ayrılmaları sonucunda oluşan, dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektrona sahip ve genellikle elektriksel açıdan yüksüz atom ya da moleküllerdir. Bunların yaklaşık 10^{-5} saniye gibi ömürleri vardır ve son derece reaktiftirler. Yani diğer atom ya da moleküllerle kolayca reaksiyona girerler. Çünkü, eşleşmemiş elektronların, bir başka radikalın aynı durumdaki elektronu ile eşleşme ya da bir elektron transferi reaksiyonu ile eşleşerek kararlı hale gelme eğilimleri vardır. Bu sebeple serbest radikaller, elektron alıcı (oksitleyici) ya da elektron verici (redükleyici) özelliklere sahiptirler (Özalpan, 2001).

Serbest radikal moleküller; organizmadaki bir çok olağan hücresel tepkimenin (enerji üretimi, lipitlerin ve proteinlerin paçalanması ile inflamatuvar süreçler bunlar arasında yer alır) yan ürünü şeklinde sürekli oluşmaktadır. Hücrelerin çoğunluğu, olağan koşullar altında kendilerini serbest radikallerin hasar verici etkilerine karşı koruyacak hücre içi ve hücre dışı kimyasal mekanizmalarla donatılmışlardır. Radikal moleküller, antioksidan savunma gücü ile dinamik bir denge içinde bulunduğu sürece organizma için yararlıdır. Örneğin; fagositik hücreler tarafından mikroorganizmaların öldürülmesinin ana mekanizması serbest radikal üretimidir. Serbest radikaller apoptozisin tetikleyicisi, habercisi ve efektörü olarak görev yaparlar. Bu şekilde; aşırı hücre poliferasyonunu önleyerek homeostaziste yer alırlar. Antioksidan savunmanın çökmesinde apoptozisi tetiklemektedir. Serbest radikaller ikinci haberci olup, transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. Hücreler arası haberleşmede görev alırlar. Hücrenin büyümesini sağlayan olayları düzenlerler. Sitololde ve mitokondride üretilen serbest oksijen radikali, protein sistein

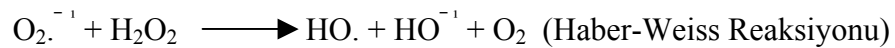
kalıntılarının redoksunu düzenleyerek proteinlerin yapı ve işlevinin düzenlenmesinde rol oynarlar (Hatungil, 2002). Serbest oksijen radikalleri üretimi ve antioksidatif savunma mekanizması arasındaki denge bozulduğunda, serbest oksijen radikalleri düzeyi artar. Radyasyon, oksijen toksisitesi, postiskemik reperfüzyon hasarı, enfeksiyonlar, enflamasyonlar yanı sıra yaşlanma ile ilgili hastalıklardan katarakt, ateroskleroz, karsinogenez, diyabet ve nörolojik hastalıklar serbest oksijen radikalleri üretimin arttırır.

2.5.1. Süperoksit serbest radikali (O₂⁻)

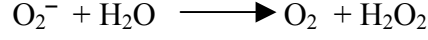
Bu radikal mitokondri kaynaklı olup, elektron transport zinciri esnasında meydana gelir (Mates, 2000). Moleküler oksijenin tek elektron alıp indirgenmesi ile oluşur ve oksijen metabolizmasında en sık karşılaşılan radikal tipidir. Süperoksit anyonu başta hem, flavin, demir ve sülfür merkezleri içeren proteinler olmak üzere pek çok enzimatik tepkimelerde, mitokondride elektron taşınımı sırasında çeşitli biyolojik moleküllerin otooksidasyonunda ve fagositozda olduğu gibi hücrel metabolizmanın normal bir ürünü olarak sürekli üretilen bir oksijen metabolitidir (Robinson ve Badwey, 1995; Kılınç ve Kılınç, 2002).

Süperoksit anyon radikali diyabette aşırı miktarda üretilmektedir (İşlekel ve ark., 2000). Süperoksit anyonu, en az zararlı olan serbest radikaldir. Asıl önemi anında ortadan uzaklaştırılmadığında hidrojen peroksit kaynaklık etmesi ve geçiş iyonlarının redüktanı olmasıdır (Ünal, 1999; Baykal ve ark., 2002). Ortamdan uzaklaştırılmayan süperoksit anyonunun çeşitli tepkimelerle oluşturduğu radikaller:

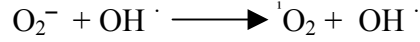
1. Ortamdan bir hidrojen alarak perhidroksit radikali (HO₂) oluşturabilir.
2. O₂ ile H₂O₂ ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe³⁺ ve Cu²⁺ katalizörlüğünde birbirleriyle reaksiyona girerek en güçlü radikal olan HO[•] radikalini ve oksijeni oluşturabilirler.



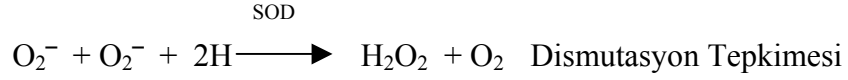
3. Perhidroksit radikali ile tepkimeye girerek oksijen ve hidrojen peroksit oluşturabilir.



4. Hidroksil radikali ile tepkimeye girerek tekli (singlet) oksijen oluşturabilir.

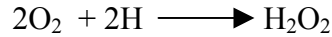


5. Süperoksit radikalının ortamdan temizlendiği tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu tepkime süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından iki süperoksit radikali kendi aralarında etkileşerek H_2O_2 ve O_2 oluşur (Kılınç ve Kılınç, 2002).

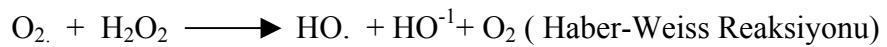


2.5.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Peroksit anyonu ortamdaki hidrojen iyonları ile protonlanarak hidrojen peroksidi verir (Tamer ve ark., 2000).



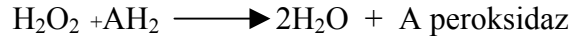
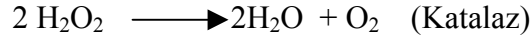
Oksijen ve hidrojen peroksit, ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe^3 veya Cu^2 katalizörlüğünde birbirleri ile reaksiyona girerek en güçlü radikal olan HO. molekülünü oluştururlar.



Ayrıca geçiş metallere varlığında (özellikle Fe²⁺) hızlıca hidroksil radikaline dönüşürler.



Hidrojen peroksit molekülü bir non-radikal olup çok az reaktif özelliktedir. Süperoksit grubundan daha az etkili olan H₂O₂, dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır (Floyd, 1995; Kaya ve ark., 1998; Mates, 2000).



2.5.3. Hidroksil radikali (OH)

Hidroksil radikali hem süperoksit anyonundan (Haber-weiss) hem de hidrojen peroksitten meydana gelirler. Her iki reaksiyonda da geçiş metallere (Fe³⁺, Cu²⁺ gibi) ihtiyaç duyarlar (Basaga, 1990). Yarılanma ömrü çok kısa olduğu için hemen oluştuğu yerde büyük tahribata yol açarlar (Erden, 1992). Oldukça reaktif olan hidroksil radikali hücre bileşenleri ile reaksiyona girer. Örneğin, aminoasit residülerini schiff bazı oluşturmak üzere okside eder. DNA molekülünde pürin ve pirimidin bazlarında kimyasal değişiklik ve kırılmalara neden olur. Hücre membranına etki ederek lipit peroksidasyonu adı verilen serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatır (Practido, 1999; Tamer ve ark., 2000).

2.5.4. Tekli (Singlet) Oksijen (¹O₂)

Tekli (singlet) oksijen (¹O₂), ortaklanmamış elektron içermediği için radikal olmayan reaktif bir oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları

sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasınada sebep olur (Kılınç ve Kılınç, 2002). Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur (Facchinetti ve ark., 1998).

Singlet oksijen, uyarılmış elektronların daha düşük enerji seviyelerine inmesiyle ışık yayar. Singlet oksijenin kimyasal bir bileşikle etkileşimi sonucu kemiluminesans meydana gelmesi ve bunun ölçülmesi ile reaktif oksijen türlerinin direkt tayini yapılabilmektedir. O_2^- ve H_2O_2 radikallerinin birbirine rastlaması 1O_2 ve OH^- oluşmasına neden olur (Wolff, 1986; Kılınç ve Kılınç, 2002).

2.6. Antioksidanlar

Dokularda hasara yol açan ajanlardan bir çoğu zararlı etkilerini serbest radikal diye adlandırılan reaktif türler aracılığı ile gerçekleştirirler. Serbest radikal, dış yörüngesinde bir veya birden fazla çiftlenmemiş elektron içeren atom veya organik ya da inorganik moleküllere verilen addır (Hatungil, 2002).

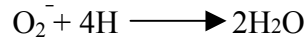
Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Bu sistemin düzenli işlemesi organizmanın sağlıklı yaşamını sürdürmesi bakımından oldukça önemlidir (Poli ve ark., 1993; Halliwell, 1996).

Normal koşullarda canlı organizmaların, serbest oksijen radikallerini metabolize edebilen enzimatik (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), sitokrom oksidaz gibi) ve non enzimatik (A, C ve E vitamini, glutatyon gibi) antioksidan savunma sistemleri vardır (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

2.6.1. Enzimatik antioksidanlar

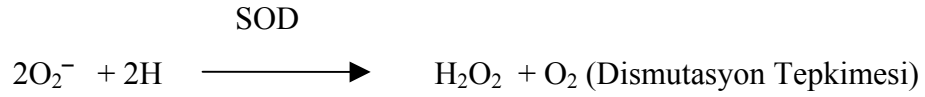
2.6.1.1. Sitokrom oksidaz

Solunum zincirinin en son basamağı olan sitokrom oksidaz bakır içeren bir enzimdir. Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli oluşur ve süperoksit radikalının suya dönüşümünü sağlayarak oksidatif hasar oluşumunu engeller (Akkuş, 1995; Gassen, 1999).



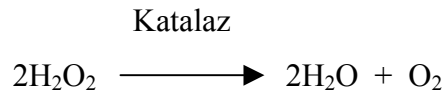
2.6.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD toksik süperoksit-radikalleri elimine eden, serbest radikallere karşı doğal bir defans sistemi olup, süperoksit anyonunun H_2O_2 ye dismutasyonunu katalizler (Fulbert ve ark., 1992; Durakve ark.,1993).



2.6.1.3. Katalaz (CAT)

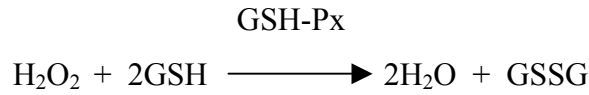
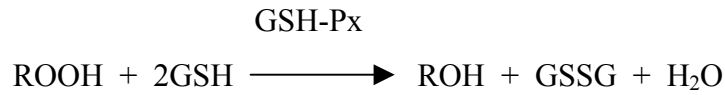
Katalaz; kanser, diabet, katarakt, retinopati, ateroskleroz, iskemik – reperfüzyon hasarı, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanmayı içine alan pek çok patolojik şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli bir enzimidir. Katalaz tarafından hidrojen peroksit (H_2O_2), su ve moleküler oksijene dönüştürülerek metabolize edilmektedir (Serin, 1998).



Katalaz enzimi peroksizomlarda yerleşmiş olup yapısında dört tane hem grubu vardır. Peroksidaz aktivitesinde olan bu enzim hidrojen peroksit, metil peroksit gibi küçük moleküllere etki eder. Büyük moleküllü lipit hidroperoksitlerine etki etmez (Akgül, 1996; Yalçın, 1998).

2.6.1.4. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz pirimer enzimatik savunma sistemi olup, mitokondrilerde ve sitosolde bulunur. Hücreleri, organik hidroperoksitler ve hidrojen peroksitler tarafından oluşturulan oksidatif tahribata karşı korur. GSH-Px 2 adet glutatyon molekülünü 1 adet glutatyon disülfite okside etmektedir (Yalçın, 1998; Mates, 2000).



2.6.2. Enzim olmayan antioksidanlar

2.6.2.1. Askorbik asit (C vitamini)

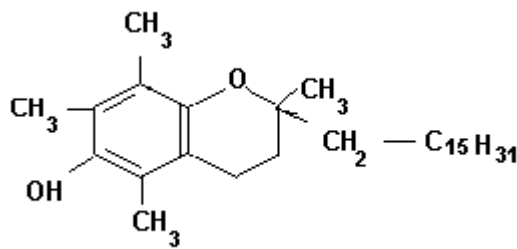
C vitamini suda çözünen ve vücutta sentezlenemeyen bir bileşiktir. Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. C vitamini aynı zamanda oksidan etki de göstermektedir. Çünkü; C vitamini ferri demiri (Fe^3), ferro demire (Fe^2) indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek hücresel ajandır. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir (Akkuş, 1995; Floyd, 1995).

Askorbik asit, A ve E vitamini gibi daha nadir bulunan antioksidanları da korur (Floyd, 1995). Yapılan çalışmalarda C vitamininin diyabette görülen serbest radikal hasarına karşı hücreleri korumakta görev yaptığı anlaşılmıştır (Nazıroğlu ve ark., 1999).

2.6.2.2. E Vitamini (alfa-tokoferol)

Yağda eriyen vitaminlerden olan Vitamin E, biyolojik sistemlerde önemli bir antioksidandır. Biyolojik membranların lipit tabakaları arasında bulunur ve bu bölgede yapısal rol oynar. Vitamin E tokoferol ve tokotrienol türevlerini kapsayan bir vitamindir. Tokoferoller alfa (α), beta (β), gama (γ) ve delta (δ) olmak üzere 4 çeşit molekül ve bunların stereoizomerlerinden oluşur. Bunlardan α -tokoferol en aktif olanıdır (Akkuş, 1995).

Lipitte çözünbilme özelliğinden dolayı hücre zarlarının lipit tabakasında konsantre olabilen E vitamini membranda düşük seviyelerde bulunmasına karşı hücrede başlıca zincir kırıcı antioksidan olarak görev yapmaktadır. Ayrıca hidroksil radikali, peroksil radikali ve süperoksitlerle direkt reaksiyonlara girerek onların zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır (Seven ve Candan, 1996).



Şekil 2.4. E Vitamini (alfa-tokoferol)

DM'lu insan ve hayvanlarda vitamin E'nin lipit peroksidasyonunu azalttığı ve böylece pankreasın beta hücrelerinin tahribatını önlediği ileri sürülmektedir (Poolisso ve ark., 1993).

2.6.2.3. Glutasyon (GSH)

Glutasyon, başta karaciğerde olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan ve glutamat, sistein, ve glisinden oluşan, düşük molekül ağırlıklı önemli bir tripeptittir. Glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Frei, 1994; Yalçın, 1998).

Antioksidan olarak hücre savunmasında rol oynaması dışında DNA ve protein sentezleri, enzim aktivitelerinin düzenlenmesi, hücre içi ve dışı transportlar gibi hücresel fonksiyonlarda da önemli rolü vardır (Meister, 1983).

Glutasyonun peroksitlerle ve disüflitlerle reaksiyonu sonucu okside glutasyon (GSSG) oluşur. GSSG konsantrasyonundaki artış oksidatif stresin bir göstergesidir. GSSG tiyol içeren proteinlerin konformasyon ve aktivitesi üzerinde etkili olan maddedir. Canlıların yaşayabilmesi için yüksek miktarda glutatyona ve düşük miktarda okside glutatyona ihtiyaç vardır. Reaksiyonlar sonucu oluşan GSSG, NADPH'nin de kullanıldığı bir reaksiyonla tekrar GSH'a çevrilir (Seven ve Candan, 1996).

2.6.2.4. *Nigella sativa* L. (Çörekotu)

Çörekotu, *Ranunculaceae* (düğünçiçeğigiller) familyasının *Nigella sativa* L. türüne giren bitkilerin kapsül içerisinde oluşan tohumudur. Günümüzde Güney Avrupa, Rusya, Kuzey Afrika, Sudan, Etiyopya, Türkiye, Suriye, İran, Afganistan ve Hindistan'da çörekotu büyük ölçüde üretilmekte ve tüketilmektedir (Türker ve Bayrak, 1997). Çörekotu çoğu Ortadoğu ve Uzakdoğu ülkelerinde doğal tıbbi ilaç olarak 2000 yılı aşkın bir süredir tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalar çörekotu ekstraktlarının insektisid, bronkodilatör, immunomodülatif, antibakteriyel, hipotensif, koleretik, antitümöral, antifungal, antelmantik, antiastmatik gibi birçok terapötik etkilerinin olduğunu göstermiştir (Hanafy ve Hatem, 1991; Salomi ve ark., 1992; Aqel ve Shaheen, 1996). *N. sativa* L. tohumlarının esas etken maddeleri, uçucu yağ asitlerinin temel

komponenti olan Thymoquinone ve Dithymoquinone içermektedir (Dhar ve ark., 1968).

2.6.2.5. *Cyperus rotundus* L. (Topalak)

Cyperus rotundus L. Amerika Bileşik Devletleri'nin güneydoğusu ile Florida bölgesi boyunca düzensiz olarak genişçe yayılış gösterir. Dünyanın tropikal ve sıcak ılıman bölgeleri boyunca, hemen hemen her çeşit toprakta özellikle nemli topraklarda yayılımını sürdürür (Hall ve ark., 2004).

2.6.2.6. *Rhus coriaria* L. (Sumak)

2-3 metre boylarında, kışın yapraklarını döken, çalı tipinde ağaççıklardır. Yurdumuzda Ege, Akdeniz ve Doğu Anadolu bölgelerinde yetişir. Yaprakları tanen ve sarı renkli boya maddeleri taşırlar. Kabız edici, kan kesici, antiseptik etkili olup, ayrıca yünlü kumaşların boyanmasında kullanılırlar. Boğaz ve diş etleri hastalıklarında da gargara halinde kullanılır. Sumak meyveleri de tanen, uçucu yağ ve organik asitler ihtiva eder.

2.6.2.7. *Trigonella foenum-graecum* L. (Çemenotu)

Fabaceae familyasında bulunan *Trigonella foenum-graecum* L. yurdumuzda ve Akdeniz havzasında yetişen tek yıllık ve otsu bir bitkidir. Yurdumuzda, Hindistan'da, Güney Afrika'da ve Akdeniz ülkelerinde kültürleri yapılmaktadır (Alhabori ve Raman, 1998). Yaprakları trifoliat, çiçekler tek başına, yaprakların koltuğunda ve sarı renklidir. Meyvesi yay gibi kıvrık, uzun ve uç tarafta sivrilmiştir. Tohumları prizma şeklinde olup müsilaj ve yağ taşır. Baharat karışımında kullanılır ve iştah açıcıdır. Bitkinin kuvvetli ve kalıcı bir kokusu vardır. Koku trigonelin alkaloidinden ileri gelir (Koyuncu ve ark., 1989). Kanda lipid peroksidasyonunu engellediği deneylerle gösterilmiştir (Ravikumar ve Anuradha, 1999).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Hayvanların Hazırlanması

Bu çalışma, Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Denekler, Elazığ Hayvan Kontrol Merkezi Müdürlüğü'nden temin edilen 200-250 gram ağırlığında erkek cins 49 adet Wistar-albino cinsi erkek sıçanlardan oluşmuştur. Penceresinde havalandırma tertibatı bulunan, sabit sıcaklıktaki odada, özel olarak hazırlanmış kafeslerde bakıma alınan sıçanların, deneysel uygulama yapılıncaya kadar bu bakımlarına devam edildi.

3.2. Deneysel Hayvanlarının Beslenmesi

Deneysel hayvanlarının beslenmesinde kullanılan yem Ankara Yem Fabrikasında özel olarak yaptırıldı. Ankara Yem Fabrikasından temin edilen yemin bileşiminde bulunan yemin katkı maddeleri, Çizelge 3.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneysel hayvanlarına verilen yemin bileşimi

Yem Maddeleri	Yüzdesi
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
Kemik Unu	4
Melas	4
Tuz	4
Vitamin Karması	1
Mineral Karması	1

3.3. Deneysel Uygulamalar

Deneysel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacı ile ön çalışmalar yapıldı. Mevcut laboratuvar şartlarımızda deneysel diyabet oluşumunun kaçınıcı günlerde meydana geldiğini gözlemleyerek; Kontrol, Streptozotosin (STZ), STZ+*Trigonella foenum-graecum L.*, STZ+*Nigella sativa L.*, STZ+*Cyperus rotundus L.*, STZ+E Vitamini, STZ+*Rhus coriaria L.* olmak üzere 7 grup oluşturulup deneysel uygulama başlatıldı.

1. **Grup:** Kontrol grubu (n= 9)
2. **Grup:** STZ grubu (n= 8)
3. **Grup:** STZ+*Trigonella foenum-graecum L.* (n=6)
4. **Grup:** STZ+*Nigella sativa L.* grubu (n=7)
5. **Grup:** STZ+*Cyperus rotundus L.* (n=6)
6. **Grup:** STZ+E Vitamini (n=7)
7. **Grup:** STZ+*Rhus coriaria L.* (n=6)

Çalışmada vücut ağırlıkları ortalama 200 gram olan 49 adet Wistar-albino türü erkek sıçanlar kullanıldı. Her grupta bulunan sıçanlar aynı laboratuvar ortamında tutuldu. Sıçanlar oda sıcaklığında 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta kalacak şekilde kafeslere konuldu. Tüm gruplara aynı standart sıçan yemi verilerek yiyecek alımları sağlandı ve hayvanların günlük takipleri yapıldı. Çalışmanın başlangıcında ve her hafta düzenli olarak hayvanların ağırlıkları kaydedildi.

1. Grup; Kontrol Grubu: 9 adet sıçandan oluşan bu grubun 7. hafta sonunda gözleri enükle edildi. Retina ve lensler alınarak GSH ve MDA analizleri için -70°C’ de bekletildi. Gruptaki sıçanların ilk hafta ve 7. hafta sonunda kesimden önce olmak üzere toplam 2 kez açlık kan şekerlerine bakıldı.

2. Grup; STZ Grubu: 8 adet sıçandan oluşan bu grubun ağırlıkları ölçüldükten sonra, STZ miktarı her 200 gramlık hayvan için 12 miligram STZ olarak belirlendi. Her bir mililitre için; 12 mg STZ fosfat sitrat tamponu kullanılarak

çözüldü. Sonuçta; 200 gramlık bir hayvan için 1.2 ml STZ (1 ml fosfat sitrat tamponunda çözülmüş 12 mg STZ) intraperitoneal olarak uygulandı. Bir hafta sonra açlık durumunda kuyruk veninden alınan kan glikometre cihazında ölçüldü. Açlık kan glukozu 250 mg/dl' yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildiler. Deneklerin açlık kan glukoz düzeylerine haftada bir kez olmak üzere 12 saatlik açlık sonrasında sabah 10:00-11:00 arasında bakıldı.

3. Grup; STZ+Trigonella foenum-graecum L. Grubu: 6 adet sıçandan oluşan bu gruba; STZ' den önce her hayvana 0.25ml (12.5 mg/kg) *Trigonella foenum-graecum L.* ekstraktı orogastrik yöntem ile verildi. Bu uygulamadan bir gün sonra gruptaki sıçanlar ikinci gruptaki sıçanlar gibi diyabetik hale getirildi. Her pazartesi sıçanların ağırlık ve açlık kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Her hafta salı günleri 0.25 ml dozunda *Trigonella foenum-graecum L.* ekstraktı sıçanlara orogastrik yöntem ile verildi.

4. Grup; STZ+Nigella sativa L. Grubu: 7 adet sıçandan oluşan bu gruba, STZ' den önce her hayvana 0.25 ml (12.5 mg/kg) *Nigella sativa L.* ekstraktı orogastrik yöntemle verildi. Bu uygulamadan bir gün sonra gruptaki sıçanlar ikinci gruptaki sıçanlar gibi diyabetik hale getirildi. Her pazartesi sıçanların ağırlık ve açlık kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Her hafta salı günleri 0.25 ml dozunda *Nigella sativa L.* ekstraktı sıçanlara orogastrik yöntemle verildi.

5. Grup; STZ+Cyperus rotundus L. Grubu: 6 adet sıçandan oluşan bu gruba, STZ' den önce her hayvana 0.25 ml (12.5 mg/kg) *Cyperus rotundus L.* ekstraktı orogastrik yöntemle verildi. Bu uygulamadan bir gün sonra gruptaki sıçanlar ikinci gruptaki sıçanlar gibi diyabetik hale getirildi. Her pazartesi sıçanların ağırlık ve açlık kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Her hafta salı günleri 0.25 ml dozunda *Cyperus rotundus L.* orogastrik yöntemle sıçanlara verildi.

6. Grup; STZ+ E Vitamini Grubu: 7 adet sıçandan oluşan bu gruba STZ' den önce her hayvana 0.25 ml (12.5 mg/kg) E Vitamini ekstraktı orogastrik yöntemle verildi. Bu uygulamadan bir gün sonra gruptaki sıçanlar ikinci gruptaki

sıçanlar gibi diyabetik hale getirildi. Her pazartesi sıçanların ağırlık ve açlık kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Her hafta salı günleri 0.25 ml dozunda E Vitamini ekstraktı orogastrik yöntemle sıçanlara verildi.

7. Grup; STZ+ *Rhus coriaria L.* Grubu: 6 adet sıçandan oluşan bu gruba, STZ' den önce her hayvana 0.25 ml (12.5 mg/kg) *Rhus coriaria L.* ekstraktı orogastrik yöntemle verildi. Bu uygulamadan bir gün sonra gruptaki sıçanlar ikinci gruptaki sıçanlar gibi diyabetik hale getirildi. Her pazartesi sıçanların ağırlık ve açlık kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Her hafta salı günleri 0.25 ml dozunda *Rhus coriaria L.* ekstraktı orogastrik yöntemle verildi.

3.4. Bitki Ekstraksiyon Yöntemleri

Bitkiler Şanlıurfa'da bulunan aktarlardan satın alınmıştır. Bitkiler teşhis edilip temizlendikten sonra 500 gr tartılmıştır. *Trigonella foenum-graecum L.* ve *Nigella sativa L.* bitkilerinin tohumu, *Rhus coriaria L.* bitkisinin meyvesi kullanılırken *Cyperus rotundus L.* bitkisinin rizomları kullanılmıştır. Tartılan bitkiler robotta iyice çekilerek toz haline getirildikten sonra *Trigonella foenum-graecum L.*, *Nigella sativa L.* ve *Cyperus rotundus L.* 1 ml metanolde, *Rhus coriaria L.* 1ml saf suda 24 saat bekletilmiştir. 24 saat sonunda süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sıvı kısımdaki metanol ve su, rotary evaporeyter cihazı yardımıyla uzaklaştırılarak bitki ekstraktları elde edilmiştir.

3.5. Retina ve Lens Örneklerinin Hazırlanması

7. hafta sonunda sıçanlar desikatörde CO₂ gazı verilerek öldürülmüş ve gözler enükle edilmiştir. Her gruptaki enükle edilen gözler incelenmeye alınmıştır. Biyokimyasal analizler için alınan gözler enüklasyon sonrası süratle buz kabı üzerine alınıp bistüri yardımıyla pars plana bölgesinden ikiye ayrıldı. Bir pens yardımıyla lens dokusu alındı. Lens örnekleri hassas terazi ile tartıldıktan sonra ependorf tüplere aktarılmış ve analiz edilinceye kadar -80°C' de bekletilmiştir.

Bir pens ile sinir dokusundan tutularak ikinci pensle de sklera sıyrılarak vitreus dokusu uzaklaştırılmış, ikinci bir sıyırma işlemi ile de retina dokusu koroidden ayrılmıştır. Retina örnekleri hassas terazi ile tartıldıktan sonra ependorf tüplere aktarılmış ve analiz edilinceye kadar -80°C ' de bekletilmiştir.

Biyokimyasal İncelemeler: 1. Doku örnekleri 1/9 oranında %6'lık perklorik asit içerisinde cam homojenizatör yardımıyla homojenize edilmiştir.

2. Homojenize edilen lens ve retina örnekleri tekrar kendi tüplerine aktarılarak vortekslenip, 6000 rpm' de 10 dakika süreyle santrifüj edildi.

3. Süpernatantlar yeni tüplere aktarılarak GSH ve MDA analizleri yapılmaya kadar -80°C ' de bekletilmiştir.

3.6. MDA ve GSH Analizleri

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

3.6.1. Retina ve lens örneklerinde MDA analizi

3.6.1.1. Stok Standardın Hazırlanması

Birinci çalışma solüsyonu: 4.05 M konsantrasyonlu orijinal stok tetraetoksipropan (TET, Sigma) solüsyonundan 24.7 μl alınarak 10 ml suda vortekslenerek seyreltildi. Böylece 10 mM konsantrasyonlu birinci çalışma solüsyonu hazırlanmış oldu.

İkinci çalışma solusyonu: Birinci çalışma solusyonundan (10 mM) alınan 10 µl' ye 990 µl saf su ilave edilerek 100 µM konsantrasyonlu TET hazırlanmıştır.

Üçüncü çalışma solusyonu: İkinci çalışma solusyonundan 100 µl alınıp üzerine 900 µl saf su ilave edilip vortekslenerek 10 µM konsantrasyonlu TET hazırlandı.

Çizelge 3.2. Stok standardın hazırlanması

Standartlar	TET (µl)	Saf Su (µl)	Konsantrasyon (nmol)
W1	2.47	997.53	10.000
W2	10	990	100
W3	10	990	1.0 (1.0 nmol için 1 ml)

Çizelge 3.3. MDA standart eğrisinin hazırlanması

Standart No	Saf Su (µl)	W3 (µl)	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 solusyonlar ilave edilmiştir.

- Örnek ve standartların her birinden.....100 µl
- %10 SDS162 µl
- Asetik asit200 µl
- TBA (12 mg TBA 1.5 ml metanolde çözüldü).....200 µl
- nH₂O.....338 µl

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Zelal SAVAŞLI

3. Karışımlar iyice vortekslendi. Örnekleri içeren ependorf tüpler 95 °C' ye ayarlanmış sıcak su banyosunda 45 dakika bekletildikten sonra musluk suyu altında soğutuldu.

4. Örneklerin olduğu tüpler 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.

5. Üst fazdan 800 µl alınıp spektrofloreometre yardımıyla (Jasco FP- 6300) eksitasyon 520 nm ve emisyon 555 nm' de absorbans değerleri okundu.

6. Konsantrasyonları bilinen standartlardan okunan absorbans değerlerinden bir standart eğri oluşturuldu. Excel programı yardımıyla yapılan standart eğri sonucunda bir formül elde edildi. Okunan örnek absorbansları, Standart eğri formülünde örnek olarak ifade edilen X yerine konularak gerçek değerleri nmol cinsinden tespit edilmiştir.

3.6.2. Retina ve lens örneklerinde glutatyon (GSH) analizi (Obrosova, 2000)

Stok solusyonu: 3.073 mg indirgenmiş GSH (Sigma) 10 ml saf suda çözüldü. Böylece 1 mM' lık stok solusyonu hazırlanmış oldu.

Çalışma solusyonu: Stok solusyondan 100 µl alındı. Buna 900 µl saf su ilave edilip iyice vortekslenerek 100 µM konsantrasyonlu çalışma solusyonu hazırlanmış oldu.

Çizelge 3.4. Çalışma solusyonu

Standartlar	1 mM Stok GSH(µl)	nH ₂ O (µl)	Konsantrasyon (µM)
W ₁	100	900	100 µM (100 nmol)

Çizelge 3.5. GSH Standart eğrisinin hazırlanması

Standart No	nH ₂ O (µM)	W ₁ (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

1. 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 oftaldialdehit (10 mg Ophthaldialdehit/ 1 ml metanol) ilave edilerek vortekslenmiştir.

2. Örnekler oda sıcaklığında ışıktan korunabilecek bir yerde reaksiyon oluşması için 6-7 dakika bekletildi. Daha sonra absorbans değerleri spektrofloreometre yardımıyla eksitasyon 345 nm ve emisyon 425 nm'de okunarak, standartlardan elde edilen eğrideki formüle uygulanarak nmol cinsinden hesaplandı ve elde edilen sonuçlar 100 mg doku yaş ağırlığına göre değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Retina ve lens örneklerinde bulunan GSH konsantrasyonları spektrofloreometre yardımıyla ölçüldü. Ölçümler yapılmadan önce konsantrasyonları bilinen standartlar spektrofloreometre ile ölçülerek standart eğri ve formülü elde edildi. GSH miktarını saptamak için GSH ve ophthaldialdehitin oluşturduğu renkli kompleksin spektrofloreometre ile absorbansının ölçülmesi prensibi kullanıldı. Örneklerden okunan absorbans değerleri formüldeki yerine konarak GSH miktarları belirlendi ve daha sonra ortalama değerler hesaplandı. Gruplardan elde edilen ortalama değerler aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

4.1. Retina GSH Ölçüm Sonuçları

Çizelge 4.1. Kontrol grubunda GSH değerleri

Grup Kontrol	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.8	1.04 ± 0.22
2	1.3	
3	0.8	
4	0.9	
5	1.26	
6	1.1	
7	0.81	
8	1.17	
9	1.26	

Çizelge 4.2. Diyabet grubunda GSH değerleri

Grup Diyabet	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.8	0.55 ± 0.21
2	0.5	
3	0.5	
4	0.6	
5	0.3	
6	0.3	
7	0.9	
8	0.5	

Çizelge 4.3. STZ+ *Trigonella foenum-graecum L.* grubunda GSH değerleri

Grup STZ+ <i>T. foenum-graecum L.</i>	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.3	0.65 ± 0.21
2	0.7	
3	0.9	
4	0.6	
5	0.8	
6	0.6	

Çizelge 4.4. STZ+ *Nigella sativa L.* grubunda GSH değerleri

Grup STZ+ <i>N. sativa L.</i>	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.5	0.46 ± 0.10
2	0.5	
3	0.6	
4	0.4	
5	0.3	
6	0.4	
7	0.5	

Çizelge 4.5. STZ+ *Cyperus rotundus L.* grubunda GSH değerleri

Grup STZ+ <i>C. rotundus L.</i>	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.3	0.3 ± 0.09
2	0.2	
3	0.4	
4	0.4	
5	0.3	
6	0.2	

Çizelge 4.6. STZ+ E vitamini grubunda GSH değerleri

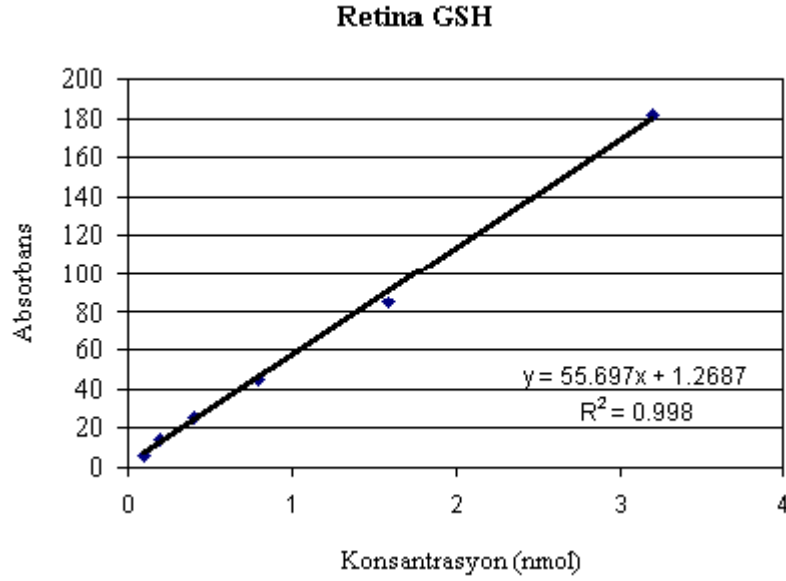
Grup STZ+ E vitamini	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.3	0.41 ± 0.09
2	0.4	
3	0.5	
4	0.5	
5	0.4	
6	0.5	
7	0.3	

Çizelge 4.7. STZ+*Rhus coriaria L.* grubunda GSH değerleri

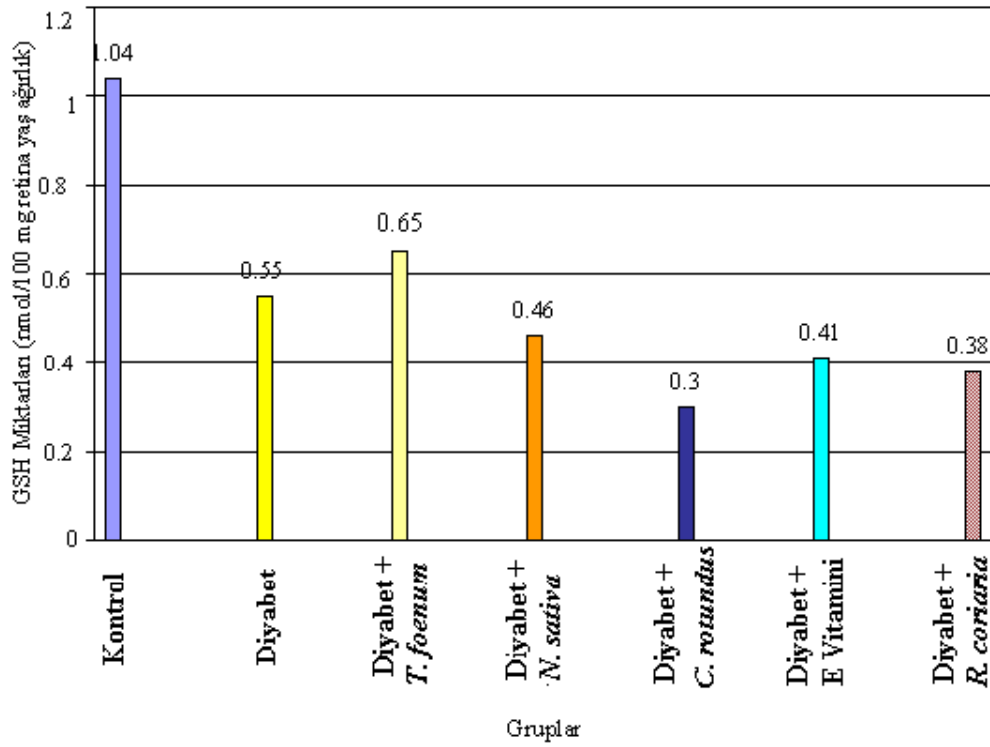
Grup STZ+ <i>R. coriaria L.</i>	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.6	0.38 ± 0.16
2	0.4	
3	0.2	
4	0.2	
5	0.5	
6	0.4	

Çizelge 4.8. Tüm gruplardaki GSH ortalama değerleri

Gruplar	Ortalama Konsantrasyon Değerleri (nmol GSH/ 100mg retina yaş ağırlığı)
Kontrol	1.04
Diyabet	0.55
Diyabet + <i>T. foenum-graecum L.</i>	0.65
Diyabet + <i>N. sativa L.</i>	0.46
Diyabet + <i>C. rotundus L.</i>	0.30
Diyabet + E vitamini	0.41
Diyabet + <i>R. coriaria L.</i>	0.38



Şekil 4.1. GSH standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2. Sıçan retina örneklerinde GSH miktarı

GSH miktarları değerlendirildiğinde kontrol grubuna (1.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) en yakın değer *T. foeneum-greacum L.* grubunda (0.65 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) olduğu görülmüştür. *C. rotundus L.* (0.30 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *R. coriaria L.* (0.38 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), Vitamin E (0.41 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *N. sativa L.* (0.46 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının GSH değerleri ise diyabet grubuna (0.55 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın bulunmuştur.

4.2. Lens GSH Ölçüm Sonuçları

Çizelge 4.9. Kontrol grubunda GSH değerleri

Grup Kontrol	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	31	28.5 ± 5.24
2	29	
3	24.5	
4	26	
5	34.3	
6	27.7	
7	25.7	
8	20.6	
9	37.8	

Çizelge 4.10. Diyabet grubunda GSH değerleri

Grup Diyabet	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	7.9	5.6 ± 2.21
2	2.1	
3	2.9	
4	6.3	
5	5.5	
6	6.8	
7	8.3	
8	5.5	

Çizelge 4.11. STZ+ *Trigonella foenum-graecum L.* grubunda GSH değerleri

Grup STZ+ <i>T. foenum-graecum L.</i>	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	8.7	11.6 ± 2.84
2	13	
3	8.1	
4	14	
5	11	
6	15	

Çizelge 4.12. STZ+ *Nigella sativa L.* grubunda GSH değerleri

Grup STZ+ <i>N. sativa L.</i>	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	15.6	17.6 ± 6.72
2	17.9	
3	22.3	
4	13.2	
5	30.2	
6	10.6	
7	13.4	

Çizelge 4.13. STZ+ *Cyperus rotundus L.* grubunda GSH değerleri

Grup STZ+ <i>C. rotundus L.</i>	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	38	26.08 ± 8.10
2	17.2	
3	32.6	
4	19.7	
5	27.6	
6	21.4	

Çizelge 4.14. STZ+ E vitamini grubunda GSH değerleri

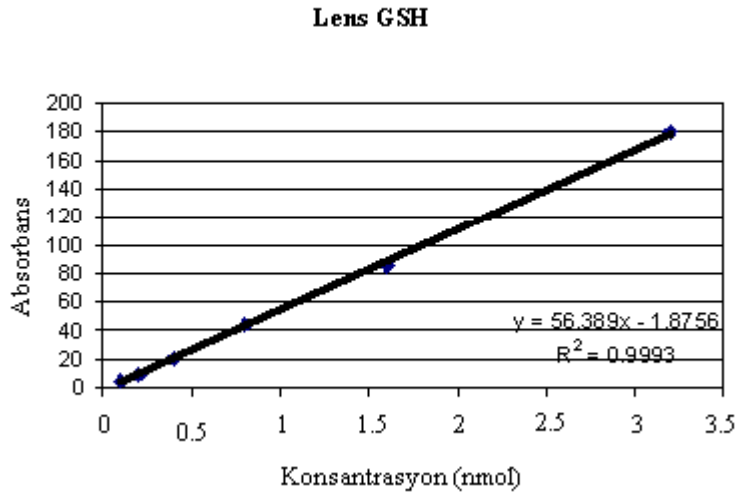
Grup STZ+ E vitamini	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	19.2	15.5 ± 7.25
2	7.6	
3	23	
4	26	
5	8.7	
6	11	
7	13	

Çizelge 4.15. STZ+ *Rhus coriaria L.* grubunda GSH değerleri

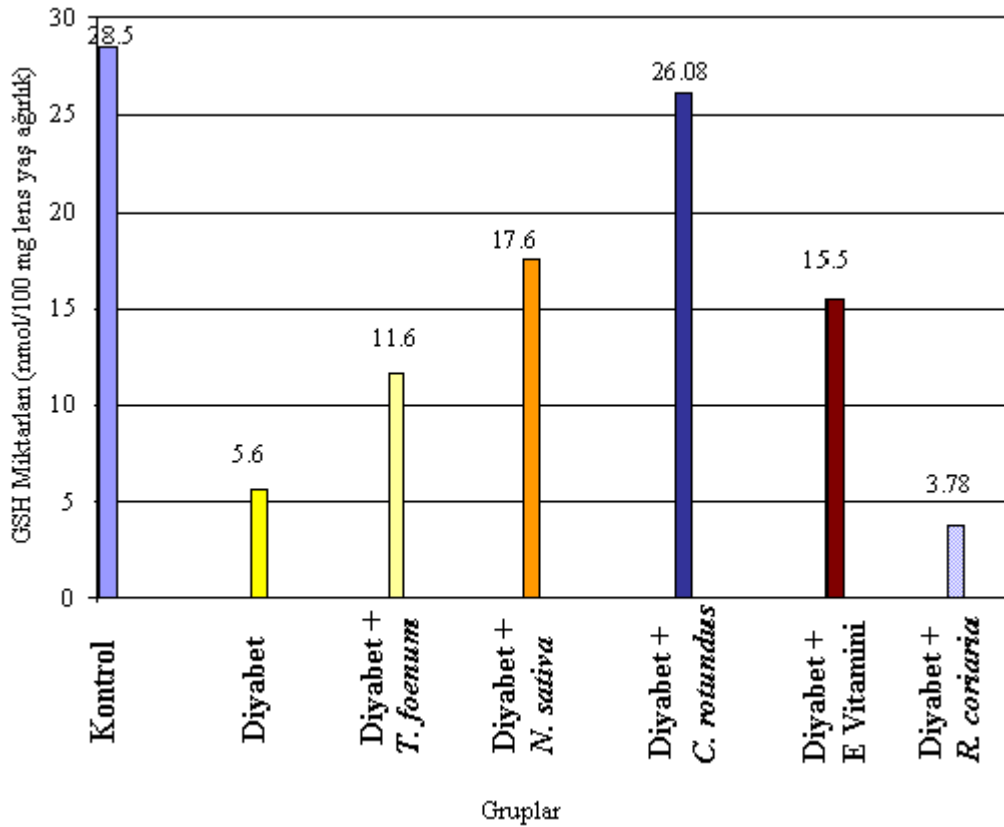
Grup STZ+ <i>R. coriaria L.</i>	Konsantrasyon (nmol GSH/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	2	3.78 ± 1.53
2	5.7	
3	3.3	
4	5.3	
5	2.3	
6	4.1	

Çizelge 4.16. Tüm gruptaki GSH ortalama değerleri

Gruplar	Ortalama Konsantrasyon Değerleri (nmol GSH/ 100mg lens yaş ağırlığı)
Kontrol	28.5
Diyabet	5.6
Diyabet + <i>T. foenum-graecum L.</i>	11.6
Diyabet + <i>N. sativa L.</i>	17.6
Diyabet + <i>C. rotundus L.</i>	26.08
Diyabet + <i>E vitamini</i>	15.5
Diyabet + <i>R. coriaria L.</i>	3.78



Şekil 4.3. GSH standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4. Sıçan lens örneklerinde GSH miktarı

Lens örneklerine ait GSH miktarları değerlendirildiğinde kontrol grubuna (28.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) en yakın değer *C. rotundus L.* grubunda (26.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) olduğu görülmüştür. Buna göre, *C. rotundus L.* grubunun (26.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), *N. sativa L.*'den (17.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), *N. sativa L.*'nin Vitamin E'den (15.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), Vitamin E'nin *T. foenum- graecum L.*'den (11.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) daha iyi koruma sağladığı görülmüştür.

4.3. Retina MDA Ölçüm Sonuçları

Retina ve lens örneklerinde bulunan MDA konsantrasyonları spektrofotometre yardımıyla ölçüldü. MDA miktarının saptanması için, MDA ile Thiobarbitirik asit reaksiyonu sonucu oluşan renkli kompleksin spektrofotometre ile absorbansının ölçülmesi prensibi kullanıldı. Ölçümler yapılmadan önce konsantrasyonları bilinen standartlar spektrofotometre ile ölçülerek standart eğri ve formülü elde edildi. Örneklerden okunan absorbans değerleri formüldeki yerlerine konarak MDA miktarları belirlendi ve daha sonra ortalama değerler hesaplandı. Gruplardan elde edilen ortalamalar aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Çizelge 4.17. Kontrol grubunda MDA değerleri

Grup Kontrol	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.6	1.18 ± 1.13
2	2.1	
3	2.6	
4	3.2	
5	0.3	
6	0.8	
7	0.2	
8	0.4	
9	0.5	

Çizelge 4.18. Diyabet grubunda MDA değerleri

Grup Diyabet	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	6	5.04 ± 1.45
2	4.7	
3	5.6	
4	7.8	
5	3.8	
6	3.7	
7	3.5	
8	5.2	

Çizelge 4.19. STZ+ *Trigonella foenum-graecum L.* grubunda MDA değerleri

Grup STZ+ <i>T. foenum-graecum L.</i>	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.6	1.48 ± 1.09
2	0.4	
3	0.5	
4	2.1	
5	2.6	
6	2.7	

Çizelge 4.20. STZ+ *Nigella sativa L.* grubunda MDA değerleri

Grup STZ+ <i>N. sativa L.</i>	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.6	1.03 ± 0.59
2	0.7	
3	0.7	
4	2.3	
5	1.2	
6	0.9	
7	0.8	

Çizelge 4.21. STZ+ *Cyperus rotundus L.* grubunda MDA değerleri

Grup STZ+ <i>C. rotundus L.</i>	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	1.6	1.17 ± 1.31
2	1.4	
3	0.9	
4	1.3	
5	1	
6	0.8	

Çizelge 4.22. STZ+ E vitamini grubunda MDA değerleri

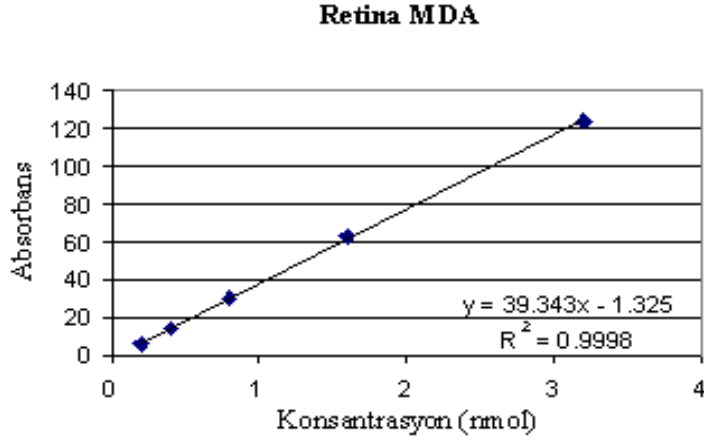
Grup STZ+ E vitamini	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	2.7	6.34 ± 2.19
2	4.3	
3	8.1	
4	8.3	
5	5.6	
6	7.5	
7	7.9	

Çizelge 4.23. STZ+ *Rhus coriaria L.* grubunda MDA değerleri

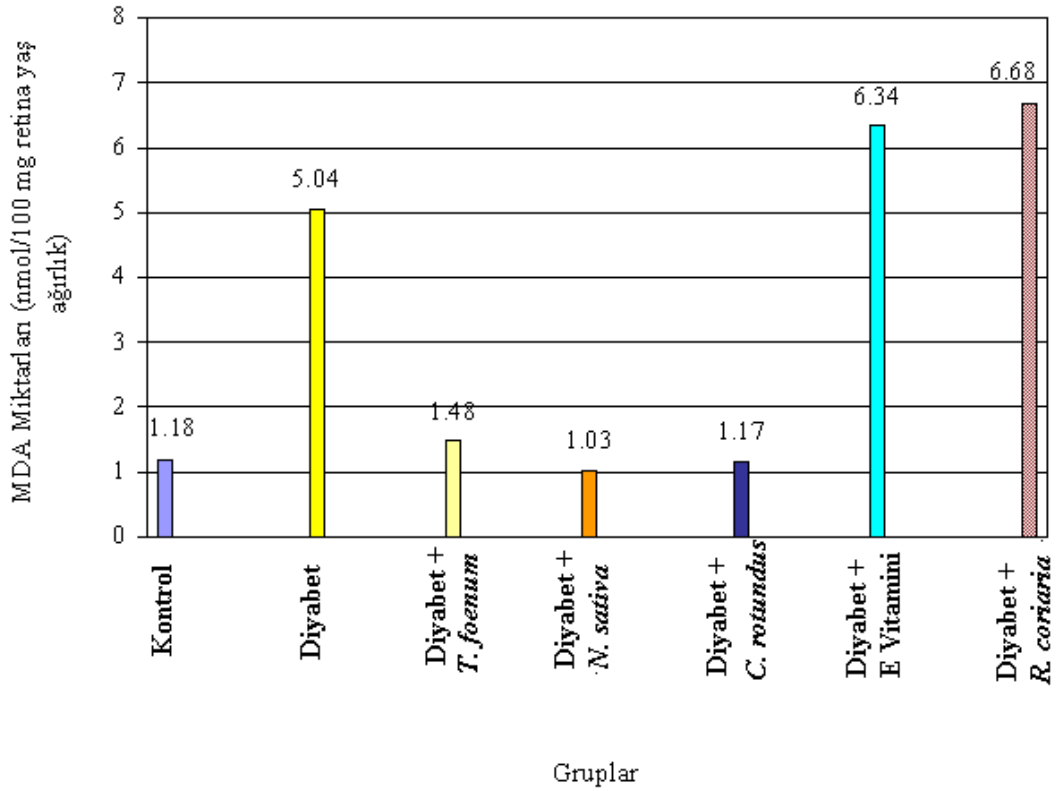
Grup STZ+ <i>R. coriaria L.</i>	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg retina yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	5.6	6.68 ± 3.89
2	2.7	
3	14	
4	4.7	
5	5.8	
6	7.3	

Çizelge 4.24. Tüm gruplardaki MDA ortalama değerleri

Gruplar	Ortalama Konsantrasyon Değerleri (nmol MDA/ 100mg retina yaş ağırlığı)
Kontrol	1.18
Diyabet	5.04
Diyabet + <i>T. foenum-graecum L.</i>	1.48
Diyabet + <i>N. sativa L.</i>	1.03
Diyabet + <i>C. rotundus L.</i>	1.17
Diyabet + E vitamini	6.34
Diyabet + <i>R. coriaria L.</i>	6.68



Şekil 4.5. MDA standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.6. Sıçan retina örneklerinde MDA miktarı

Çalışmamızda retina dokusunun MDA miktarları değerlendirildiğinde; diyabet oluşturulan grubun MDA değerinin (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), kontrol grubu MDA değerinden (1.18 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmektedir. *C. rotundus L.* grubunun MDA değerinin (1.17 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubuna (1.18 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) en yakın değere sahip olduğu görülür. *C. rotundus L.* (1.17 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *N. sativa L.* 'den (1.03 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *N. sativa L.* *T. foenum-graecum L.* 'den (1.48 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) daha iyi koruma sağladığı görülmüştür. Vitamin E (6.34 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *R. coriaria L.* (6.68 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının MDA değeri ise diyabet (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) grubuna yakın bulunmuştur.

4.4. Lens MDA Ölçüm sonuçları

Çizelge 4.25. Kontrol grubunda MDA değerleri

Grup Kontrol	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.05	0.08 ± 0.03
2	0.13	
3	0.09	
4	0.1	
5	0.07	
6	0.04	
7	0.1	
8	0.09	
9	0.05	

Çizelge 4.26. Diyabet grubunda MDA değerleri

Grup Diyabet	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.12	0.13 ± 0.04
2	0.17	
3	0.13	
4	0.07	
5	0.18	
6	0.11	
7	0.08	
8	0.13	
9	0.14	

Çizelge 4.27. STZ+ *Trigonella foenum-graecum L.* grubunda MDA değerleri

Grup STZ+ <i>T. foenum-graecum L.</i>	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.08	0.09 ± 0.07
2	0.07	
3	0.06	
4	0.09	
5	0.07	
6	0.03	
7	0.24	

Çizelge 4.28. STZ+ *Nigella sativa L.* grubunda MDA değerleri

Grup STZ+ <i>N. sativa L.</i>	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.09	0.14 ± 0.08
2	0.25	
3	0.2	
4	0.09	
5	0.24	
6	0.05	
7	0.08	

Çizelge 4.29. STZ+ *Cyperus rotundus L.* grubunda MDA değerleri

Grup STZ+ <i>C. rotundus L.</i>	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.09	0.08 ± 0.02
2	0.04	
3	0.09	
4	0.1	
5	0.08	
6	0.08	

Çizelge 4.30. STZ+ E vitamini grubunda MDA değerleri

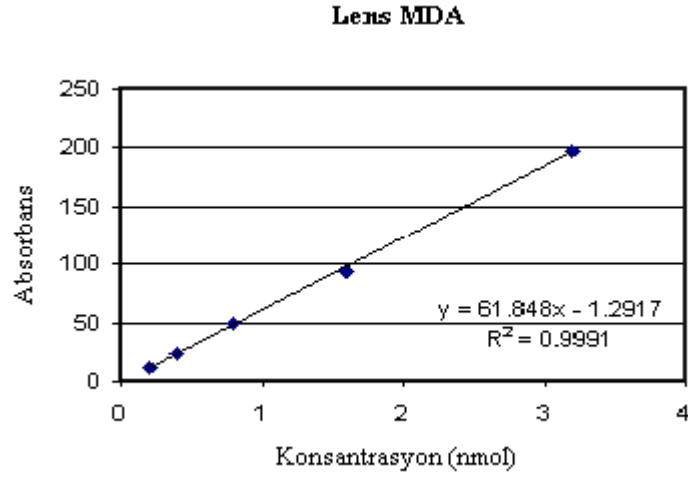
Grup STZ+ E vitamini	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.16	0.07 ± 0.04
2	0.05	
3	0.04	
4	0.07	
5	0.04	
6	0.07	
7	0.07	

Çizelge 4.31. STZ+ *Rhus coriaria L.* grubunda MDA değerleri

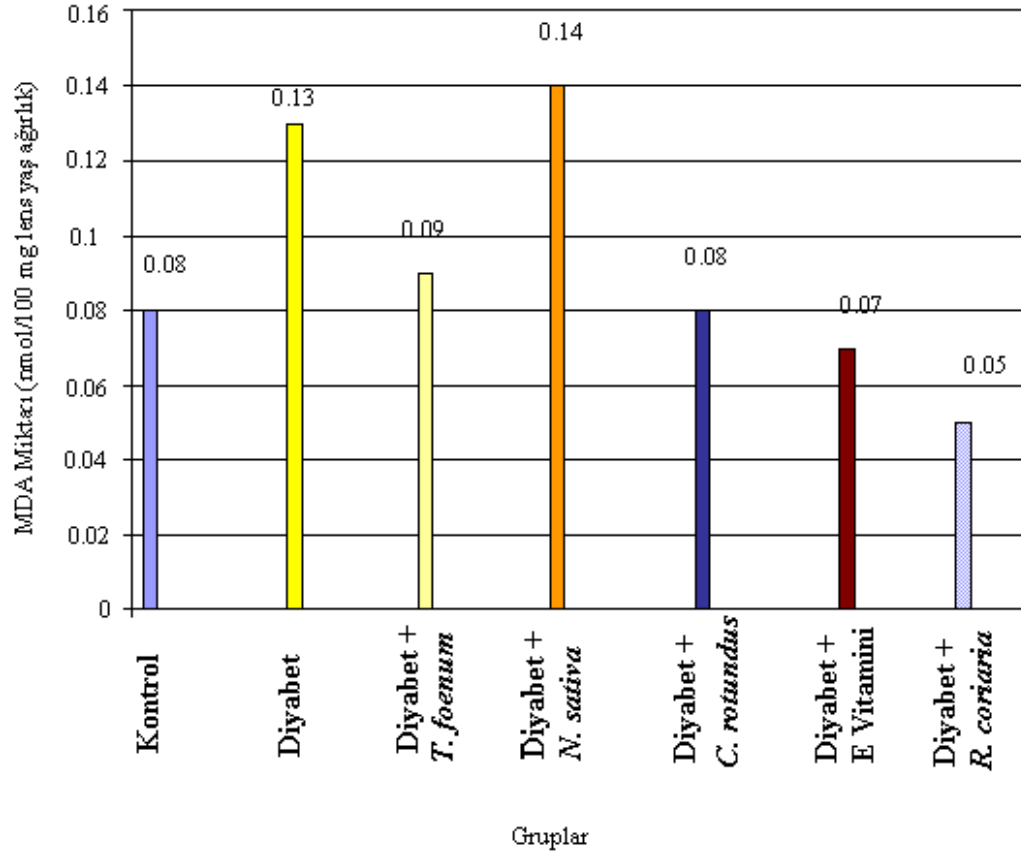
Grup STZ+ <i>R. coriaria L.</i>	Konsantrasyon (nmol MDA/ 100 mg lens yaş ağırlığı)	Ortalama Değer ± SD
1	0.02	0.05 ± 0.02
2	0.05	
3	0.04	
4	0.06	
5	0.04	
6	0.06	

Çizelge 4.32. Tüm gruplardaki MDA ortalama değerleri

Gruplar	Ortalama Konsantrasyon Değerleri (nmol MDA/ 100mg lens yaş ağırlığı)
Kontrol	0.08
Diyabet	0.13
Diyabet + <i>T. foenum-graecum L.</i>	0.09
Diyabet + <i>N. sativa L.</i>	0.14
Diyabet + <i>C. rotundus L.</i>	0.08
Diyabet + E vitamini	0.07
Diyabet + <i>R. coriaria L.</i>	0.05



Şekil 4.7. MDA standartlarından elde edilen değerler ve kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8. Sıçan lens örneklerinde MDA miktarı

Çalışmamızdaki lens MDA düzeyleri değerlendirildiğinde; diyabet oluşturulan grubun MDA düzeyi (0.13 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) kontrol grubundan (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) daha yüksek bulunmuş ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur. *C. rotundus L.* (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) grubuna ait MDA düzeyinin kontrol grubu (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ile aynı olduğu görülmüştür. *R. coriaria L.* (0.05 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ile kontrol grubu (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) arasında anlamlı fark gözlenmişken, diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.

4.5. Uygulanan İstatistiksel Metot ve Analizler

Deneysel çalışma için oluşturulan kontrol, diyabet, *T. foenum-greacum L.*, *N. sativa L.*, *C. rotundus L.*, Vitamin E ve *R. coriaria L.* gruplarında bulunan örneklerden elde edilen GSH ve MDA değerleri SPSS programında Mann-Whitney U testi, gruplar arasındaki farklılıklar ise bağımsız t testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen “p” değerleri “0.05, 0.01 ve 0.001” düzeylerine göre değerlendirilerek anlamlılıkları saptanmıştır. $p < 0.05$ ise “karşılaştırılan gruplar arasında anlamlı bir fark vardır”, $p > 0.05$ ise “karşılaştırılan gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur”, $p < 0.01$ ise “karşılaştırılan gruplar arasında çok önemli farklılıklar vardır”, $p < 0.001$ ise “karşılaştırılan gruplar arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar vardır” şeklinde ifade edilmektedir.

4.5.1. Retinada glutatyonun istatistiksel analizi

- Kontrol ile diyabet grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).
- Kontrol ile *T. foenum-greacum L.* grupları arasında çok önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.01$).
- Kontrol ile *N. sativa L.* grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).
- Kontrol ile *C. rotundus L.* grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).

- Kontrol ile Vitamin E grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).
- Kontrol ile *R. coriaria L.* grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).

4.5.2. Lenste glutatyonun istatistiksel analizi

- Kontrol ile diyabet grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).
- Kontrol ile *T. foenum-greacum L.* grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).
- Kontrol ile *N. sativa L.* grupları arasında çok önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.01$).
- Kontrol ile *C. rotundus L.* grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$).
- Kontrol ile Vitamin E grupları arasında çok önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.01$).
- Kontrol ile *R. coriaria L.* grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).

4.5.3. Retinada malondialdehitin istatistiksel analizi

- Kontrol ile diyabet grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).
- Kontrol ile *T. foenum-greacum L.* grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$).
- Kontrol ile *N. sativa L.* grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$).
- Kontrol ile *C. rotundus L.* grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$).
- Kontrol ile Vitamin E grupları arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.001$).
- Kontrol ile *R. coriaria L.* grupları arasında çok önemli farklılıklar görülmüştür ($p < 0.01$).

4.5.4. Lenste malondialdehitin istatistiksel analizi

- Kontrol ile diyabet grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$).
- Kontrol ile *T. foenum-graecum L.* grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$).
- Kontrol ile *N. sativa L.* grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$).
- Kontrol ile *C. rotundus L.* grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).
- Kontrol ile Vitamin E grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$).
- Kontrol ile *R. coriaria L.* grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$).

4.6. Tartışma

Diyabetes mellitus'lu olgularda dokuda ne gibi değişiklikler olduğu, dokularda oluşan hasarın mekanizmaları ve bu hasarda oksijen serbest radikallerinin ve serbest radikal giderici ajanların etkinliği konusunda son yıllarda birçok araştırmalar yapılmıştır (Tosun ve Demir, 1999). DM, tüm dünyada 100 milyondan fazla kişiyi etkileyen insülin hormonunun yokluğu, yetersizliği veya etkisizliği nedeniyle, hiperglisemi ile birlikte özel komplikasyonlara yol açan kronik bir metabolizma hastalığı olup, etyolojisi henüz saptanamamıştır.

Diabetes mellitus'ta en önemli problem glukozun metabolize edilememesi sonucu kanda birikmesi, enerji üretiminde lipidlerin kullanılması ile zararlı serbest radikallerin artmasıdır. Bu, hastalıkta, glukozun otooksidasyonu hızlanmakta ve okside olan glukoz, glukoz asitlerine dönüşürken bir taraftan da serbest radikalleri oluşturmaktadır (Giugliano ve ark, 1995; Cho ve ark, 2002). Diabette serbest radikallerin üretiminin artmasına yol açan diğer önemli bir etki de, antioksidan miktarının azalması sonucu oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasıdır. Poliol yolunda glukozun sorbitole metabolize edilmesi sonucu NADPH miktarının azalması, okside glutatyonun redükte forma dönüşüm hızını yavaşlatarak antioksidan kapasiteyi negatif yönde etkilemektedir (Sechi ve ark., 1997; Sözmen ve ark., 2001).

Diabette serbest yağ asitleri ve serbest radikal türevli çeşitli oksidanların arttığı, bu artışın pek çok sistemik bozukluklara neden olduğu bilinmektedir. Serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının nukleustaki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir. Organizmada meydana gelen serbest radikalleri, sürekli olarak zararsız hale getirmeye çalışan süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi çeşitli antioksidan enzimler bulunmaktadır (Büyükakyüz ve ark., 2000). Normal fizyolojik koşullar altında, serbest radikal üretimi ve antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge bulunmaktadır. Artmış oksidatif stress, radikal üretiminin artması ya da antioksidan savunma sistemlerinin azalması sonucu meydana gelebilir ve diabetik hastalarda bu her iki olay içinde delil mevcuttur. Diabet hastalarında ve STZ ile deneysel diabet oluşturulmuş sıçanlarda yapılan bir çok çalışmada artmış MDA düzeyleri rapor edilmiştir (Tamer ve ark., 1997).

Diyabetin neden olduğu komplikasyonların incelenmesi ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde deneysel diyabet modelleri önemli bir yer tutmaktadır. Günümüzde deney hayvanlarına çeşitli kimyasal ajanlar uygulanarak deneysel diyabet oluşturulmaktadır. Laboratuvar hayvanlarında kimyasal diyabet (tip I), yaygın olarak streptozotosin (STZ) ya da alloxan enjeksiyonuyla oluşturulmaktadır (Onay, 1997; Alkan, 1998). Biz çalışmamızda sıçanlarda diyabeti STZ enjeksiyonuyla oluşturduk.

Diyabetik hastalarda meydana gelen oksidanlar özellikle aşırı doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonuna neden olmaktadır. Birçok araştırmacı diyabetlilerde lipid peroksidasyonu ürünlerinin arttığını ifade etmişlerdir. MDA lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir (Kirhgeßner ve ark., 1995; Hayashi ve ark., 1982; Gurr ve Harwood, 1991).

Diyabetin gözde en önemli hasarı retina ve lens üzerinde oluşmaktadır. Gözde görüntünün oluşması sırasında lensin görevi; cisimlerden gelen paralel ışınları kırarak lensin arkasındaki retina üzerine odaklanmasını sağlamaktır. Lensin zamana bağlı olarak saydamlığını ve esnekliğini kaybetmesi ile lenste

meydana gelebilecek herhangi bir opasite katarakt olarak adlandırılır. Sklera ve koroidden sonra, retina, göz küresinin en içteki ikinci katmanıdır. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, ortamda glukozun artışı (diyabet) başta katarakt ve retinopati olmak üzere birçok hastalığa sebep olmaktadır (Harding, 1991).

Bir veya daha çok sayıda eşleşmemiş elektron içeren serbest radikaller; membran lipidlerinin peroksidasyonuna, permeabilitesinin artmasına, enzimlerin ve proteinlerin sülfidril gruplarının oksitlenmesine ve çapraz bağlanmasına, proteolitik enzimlerin aktivasyonuna, DNA yapısında mutasyonlara, mukopolisakkaridlerin depolimerizasyonuna ve sonuçta hücre ölümüne neden olmaktadır (Çelebi ve ark., 2002; Baykal ve Kocabalkan, 2000). Lens ve retinada serbest radikallerin birikimi sonucu lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan malondialdehit (MDA) birikmeye başlar. Lipid peroksidasyonunun ürünü MDA, proteinler ile birleşir ve onlarda yüksek moleküllü protein oluşumu (agregasyon), disülfid köprülerinin oluşumu, deamidasyon ve nonenzimatik glikozilasyon gibi postsentetik değişimlere neden olmaktadır. Glikozilasyon, protein oksidasyonunu aktive ederek katarakt ve retinopati oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir (Boscia ve ark., 2000).

Diyabet, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasının karmaşık bir bozukluğu olup, vücudun tüm damar yataklarını etkiler. Diyabetin en önemli etkilerinden biri de retinada oluşmaktadır. Diyabetin patogenezi, özellikle de oküler dolaşıma olan etkileri, tam olarak aydınlatılamamıştır. Diyabetli hastaların oküler damar yataklarında ve kan akışkanlığında oluşan değişikliklerin retina kan akımında bozukluğa neden olabileceği öne sürülmektedir (Mendivil ve ark., 1995; Güven ve ark., 1996).

Retina, diyabetik hastaların en önemli hedef organı olarak bilinir. Çünkü, retina bol oksijene ve doymamış lipitlere sahiptir. Bu nedenle retina, lipit peroksidasyonu ve oksijen radikallerinin üretimi için seçilmiş yer olarak bilinir. Son zamanlarda diyabet ve miyop gibi gözle ilgili oksidatif değişikliklerde kaynak olarak retina gösterilmektedir (Grattagliano ve ark., 1998).

Öner (2004)'in yaptığı bir çalışmada, diyabete maruz kalmış sıçan retina örneklerinde meydana gelen değişiklikleri, hasarın oluş mekanizmasını, retinopatide antioksidan maddelerin etkinliğini araştırmış. Bu amaçla kontrol sıçan retinalarının, diyabetik sıçan retinalarının ve antioksidan uygulanmış diyabetik sıçan retinalarının MDA ve GSH miktarlarını ölçmüştür. Diyabet grubundaki MDA miktarı kontrol grubundaki MDA miktarından yüksek, diyabet grubundaki GSH miktarı ise kontrol grubundan daha düşük bulmuştur. Antioksidan uygulanan gruplarda ise diyabet grubuna kıyasla MDA miktarında düşüş, GSH miktarında ise artış kaydetmiştir (Öner, 2004). Biz de çalışmamızda diyabet grubunun retina MDA miktarını kontrol grubundan yüksek, GSH miktarını ise düşük bulduk. Antioksidan uygulanan grupların retina MDA miktarında düşüş, GSH miktarında ise yükseliş kaydettik.

Uzel ve arkadaşları (1987), retinopatisi olan diyabetlilerde retinopatisi olmayan diyabetlilere göre retina lipid peroksit düzeylerinin daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Bu artışın serbest radikallerin aşırı üretimi ve hücre içi antioksidan sisteminin bozulmasından ileri geldiğini öne sürmüşlerdir.

Körlük, diyabetik komplikasyonlar sonucu sıklıkla karşılaşılan bir tablodur. Oküler komplikasyonların başında lensdeki biyokimyasal değişimler sonucu oluşan katarakt gelmektedir. Oğuz ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada 5 haftalık kontrolsüz akut diyabette lensinde etkilendiğini, glutatyonun azaldığını, lens proteinlerinin nonenzimatik glikozilasyonunun ve yüksek molekül ağırlıklı protein komplekslerinin arttığını göstermişlerdir (Oğuz ve ark., 1995).

Emre tarafından yapılan bir çalışmada, kataraktlı insan lensindeki MDA miktarının normal lensdekinden daha yüksek, GSH miktarının ise daha düşük olduğu gösterilmiştir (Emre, 2002).

Bizim çalışmamızda da diyabet grubundaki lens MDA değerinin kontrol grubundan yüksek, GSH değerinin ise düşük olduğu görülmüştür. Antioksidan uygulanan gruplarda ise MDA düzeyinde düşüş, GSH düzeyinde yükseliş görülmüştür.

Öner (2003)'in bildirdiğine göre; diyabette oksidatif aktivitenin (serbest radikal üretiminin) artışı antioksidan savunmanın yetersizliği, protein glikozilasyonu, özellikle kontrolsüz diyabette lensdeki glukoz metabolizmasını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum diyabetik katarakta neden olmaktadır. Diyabetik kataraktlı lenslerde lipid peroksidasyonunun katarakt oluşumunda önemli rol oynadığı MDA miktarındaki artışla gösterilmektedir. Bunun sonucunda lens proteinlerinde çapraz bağlı ileri glikasyon ürünleri oluşmaktadır. Glikozilasyonun, protein oksidasyonunu aktive ederek katarakt oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir.

Diyabet, populasyon içinde teşhis edilmiş, bir o kadar da teşhis edilememiş olarak bulunan ve insanlar arasında en yaygın olarak görülen hastalıklardan birisidir. Serbest radikal kaynaklı bir hastalık olduğu bildirilen diyabette çeşitli oksidan stres kaynaklı ürünlerin arttığı da saptanmıştır. Bu nedenle, oksidan stres kaynaklı patolojilerin tedavisinde dışarıdan verilen antioksidanların etkileri günümüzün araştırma konularını oluşturmaktadır. Birçok bitkinin toplumda tedavi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. *T. foenum-graecum L.*, *N. sativa L.*, *C. rotundus L.* ve *R. coriaria L.* tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerdendir.

Mert ve arkadaşları (2000), yaptıkları çalışmada *N. sativa*'nın iz elementlerini artırıcı etkisini göstermişlerdir. Şahin ve arkadaşları (2003), alkolik karaciğer hasarı olan hastaların MDA düzeylerinin *N. sativa L.* uygulaması ile kontrole yaklaştığını göstermişlerdir. *T. foenum-graecum*'un tip I (Sharma ve ark., 1990) ve tip II diyabette kan glukoz seviyesini düşürdüğü, kandaki trigliserid ve kolesterol seviyesini düşürdüğü (Madar ve ark., 1988; Sharma ve ark., 1996), yapısında bulunan 4-hidroxyisoleucine etkisiyle insülin salgılanmasını arttırdığı (Marles ve Farnsworth, 1995; Fetrow ve Avila, 1999), kandaki lipit peroksidasyon oluşumunu engellediği ve antioksidanların miktarını arttırdığı (Ravikumar ve Anuradha, 1999) deneysel çalışmalarla gösterilmiştir.

Ekin, kobay retinaları ile yaptığı çalışmada, E vitamininin lipid peroksidasyonu üzerine etkisi olduğunu ve lipit peroksidasyon ürünü olan MDA değerini anlamlı bir şekilde düşürdüğünü göstermiştir (Ekin, 2002). Yıldız, sıçan

retinaları ile yaptığı çalışmada vitamin E'nin ve *T. foenum-graecum*'un MDA değerini dūřurdūęünü gōstermiřtir (Yıldız, 2004). Aydemir ve elebi yaptığı çalışmada E vitaminin lipit peroksidasyonunu belirgin olarak azalttığını ve GSH dūzeyinde koruma sağladığını bulmuşlardır (Aydemir ve elebi, 2002).

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, lipid peroksidasyon ürünü olan ve lipid peroksidasyonunun iyi bir göstergesi olarak kabul edilen MDA analizi yapıp lipid peroksidasyonu indirekt olarak gösterilmiştir. Çalışmamızda retina ve lens dokusunun MDA ve GSH düzeyleri değerlendirildiğinde; diyabetik grubun MDA değerinin anlamlı bir şekilde arttığı, GSH değerinin ise düştüğü görülmektedir.

Diyabetik grubun retina MDA değeri (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubundan (1.18 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) oldukça yüksek bulunduğu gruplar arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar olduğu görülmüştür ($p<0.001$). *C. rotundus* (1.17 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *N. sativa* (1.03 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *T. foenum-graecum* (1.48 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının MDA değerleri kontrol grubu (1.18 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) MDA değerine yakın olduğundan gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$). Vitamin E grubunun (6.34 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) MDA değeri diyabet grubuna (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın bulunduğu gruplar arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0.001$). *R. coriaria* (6.68 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) grubunun MDA değeri diyabet grubuna (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın bulunduğu gruplar arasında çok önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0.01$).

Diyabetik grubun lens MDA değeri (0.13 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) kontrol grubundan (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yüksek bulunduğu gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$). *C. rotundus* (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), *T. foenum-graecum* (0.09 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), Vitamin E (0.07 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ve *R. coriaria* (0.05 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) gruplarının MDA değerleri kontrol grubuna (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yakın olduğundan gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$). *N. sativa* grubunun MDA değeri (0.14 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ise diyabet grubu

(0.13 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) MDA değerine yakın bulunduğu gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$).

GSH miktarları değerlendirildiğinde; diyabetik grubun retina GSH değeri (0.55 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubundan (1.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) düşük bulunduğu gruplar arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0.001$). *T. foenum-graecum* grubunun GSH değeri (0.65 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubu GSH değerine (1.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın olduğundan gruplar arasında çok önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0.01$). *N. sativa* (0.46 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), Vitamin E (0.41 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *R. coriaria* (0.38 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *C. rotundus* (0.30 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının GSH değerlerinin diyabet grubu GSH değerine (0.55 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın olduğundan gruplar arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0.001$).

Diyabet (5.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), *T. foenum-graecum* (11.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ve *R. coriaria* (3.78 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) gruplarının lens GSH değerleri kontrol grubu GSH değerinden (28.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) oldukça düşük bulunduğu gruplar arasında ileri düzeyde önemli farklılıklar olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Vitamin E (15.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ve *N. sativa* (17.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) gruplarının GSH değerleri kontrol grubu GSH değerine (28.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yakın olduğundan gruplar arasında çok önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0.01$). *C. rotundus* (26.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) grubunun GSH değeri kontrol grubuna (28.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) oldukça yakın bulunduğu gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Sonuç olarak kullanılan antioksidanların genel anlamda peroksidasyon ürünü olan MDA oluşumunu engellediği ve bir antioksidan olan GSH miktarını koruduğu tespit edilmiştir. Vitamin E (alfa tokoferol) maddesinin diyabetin lens üzerinde oluşturduğu hasarı önlemede kullanılabileceği tespit edilip, *T. foenum-graecum*, *N. sativa*, *C. rotundus* ve *R. coriaria* bitkilerindeki etken maddelerin tespit edilip saflaştırılarak etkilerinin araştırılmasının gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- ABDEL-BARRY, J.A., ABDEL-HASSAN, I.A., and AL-HAKIEM, M.H., 1997. Hypoglycaemic and Antihyperglycaemic Effects of *Trigonella foenum-graecum* L. Leaf in Normal and Alloxan Induced Diabetic Rats. J. Ethnophar, 58:126-129.
- AKGÜL, E., 1996. Tip II diyabetes mellituslu hastalarda oksidan ve antioksidan mekanizmaların incelenmesi. Uzmanlık tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Ana Bilim Dalı, 86s.
- AKIN, C., 2001. <http://med.ege.edu.tr/~ophthal/anatomi.html>
- AKKUŞ, İ. 1995. Serbest Radikaller ve Patolojik Etkileri. Konya Mimoza Yayınları, 157s.
- AL-HABORI, M., and RAMAN, A., 1998. Antidiabetic and Hypocholesterolic Effects of Fenugreek. Phytother. Res, 12:233-242.
- ALI, L., AZADKHAN, A.K., HASSAN, Z., and MOSIHUZZAM, M., 1995. Characterization of Hypoglycemic Effects of *Trigonella foenum-graecum* Seed. Planta Med., 61:358-360.
- ALKAN, A., 1998. Doksisisiklin'in experimental diabetes mellitusta kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkisinin histomorfometrik olarak incelenmesi. Doktora Tezi, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 71s.
- ALP, H., MOLVALILAR, S., 1987. Endokrin Hastalıklar. Bayda Basım Yayın, s.220-227.
- ANONYMOUS, 1999. Monograph: *Gymnema slyvestre*. Alternative Med Rev, 4:46-47.
- APAYDIN, C., 2001. Temel Göz Hastalıkları, Editörler: Apaydın, C., Akova, Y. Güneş Kitabevi, Bölüm:1, s.3-25.
- AQEL, M., and SHAHEEN, R., 1996. Effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on the uterine smooth muscle of rat and guinea pig. J. Ethnopharm, 52: 2326.
- ARINCI, K., ve ELHAN, A., 1997. Anatomi. Günüş Kitabevi, s.446-466.
- AYDEMİR, O., ve ÇELEBİ, S., 2002. Deneysel retinal iskemi ve reperfüzyon oluşturulan kobaylarda vitamin E türevlerinin glutatyon düzeyine etkisi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 16(3-4):257-261.
- BARNET, A.H., 1993. Origin of the microangiopathic changes in diyabetes. Eye, 7: 218-22.
- BASAGA, H.S., 1990. Biochemical aspects of free radicals. Biochem Cell Biol., 68(7-8): 989-998.
- BAYKAL, Y., ve KOCABALKAN, F., 2000. Serbest radikaller ve hücre hasarı yapma mekanizmaları. Sendrom, s.31-38.
- BAYKAL, Y., GÖK, F., ve EREKÇİ, S., 2002. Demir, Serbest Radikaller ve Oksidatif Hasar. Sendrom, s.94-100.
- BAYNES, J.V., 1991. Role of oxidative stres in development of complication in diabetes. Diabetes, 40: 405-12.
- BENGİSU, Ü. 1998. Göz Hastalıkları, 5. Baskı. Beta Basım Yayın Dağıtım A.Ş. s.161-166.

- BOSCIA, F., GRATAGLIANO, I., VENDEMIALE, G., MICELLI-FERRARI, T., and ALTOMARE, E., 2000. Protein oxidation and lens opacity in humans. *Invest. Ophth.& Vis. Sci.* 41: 2461-2465.
- BÜYÜKAKYÜZ, N., ALTUĞ, T., ve YALTIRIK, M., 2000. Kanser proflaksisinde antioksidan maddelerden E vitamin ve selenyumun önemi. *Diş hekimliği Klinik Derg.*, 12:136-139.
- CERIOLE, A., GIUPTIANO, D., QUATROZA, A., DONZELLO, C., DIPALO, G., and LEFEBUER, P.J., 1991. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetics: New prospect for prevention of diabetic complications. *Diabetic Care.* 14: 68-72.
- 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 supplementantation of dandelion water extract. *Clin. Chim. Acta.*, 317:109- 117.
- COSTAGLIOLA, C., LULONA, G., MENZIONA, A., NESTI, A., SIMONELLI, F., and RINOLDI, E., 1998. Systematic human disease as oxidative risk factor in cataractogenesis. *Ophthalmic Res.* 20:308-316.
- COTLIER, E., 1987. The lens. *Adler's physiology of the eye.* C.V. Mosby Company, Saint Louis, s.268- 290.
- ÇAKINEL, T., 1992. Suda eriyen dana lensi proteinleri üzerine kalsiyum ve glukozun etkileri. *Doktora Tezi, İ.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul,* 79s.
- ÇELEBİ, S., DİLSİZ, N., YILMAZ, T., ve KUKNER, A.S., 2002. Effects of melatonin, vitamin E and octreotide on lipid peroxidation during ischemia-reperfusion in the guinea pig retina. *Eur J. Ophthalmol*, 12(2): 77-83.
- ÇELİK, S. ve YILMAZ, O., 1999. Diabetik Ratlarda Vitamin E'nin Serum Lipidleri ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkisi. *TÜBİTAK.* 23:39-46.
- ÇİĞREMİŞ, Y., KÖSE, M., ÖZUGURLU, F., TÜRKÖZ, Y., ve EĞRİ, M., 2003. Tip II Diabetes mellitus'lu hastaların eritrosit içi Cu, Zn-SOD, CAT ve GSH-Px antioksidan enzim düzeylerinin araştırılması. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*; 16(2): 239-244.
- DHAR, M.L., DHAR, M.M., DHAWAN, B.N., MEHROTA, B.N., and RAY, C., 1968. Screening of Indian plants for biological activity, part 1. *Indian J Exp. Biol.*, 6: 232-247.
- DURAK, İ., YURTASIAN, Z., CANBOLAT, O., ve AKYOL, Ö.A., 1993. Methodological approach to superoxide dismutase activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium reduction *Clin. Chim. Acta.*, 214:103-104.
- EKİM, T., KOYUNCU, M., ERİK, S., ve ÜLKERASLAN, R., 1989. Türkiye' nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri: Türkiye Tabiatını Koruma Derneği. Yay. No: 18, Ankara.
- EKİN, İ., 2002. Çeşitli antioksidanların kobaylarda oluşturulan retinal iskemi-reperfüzyon üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Elazığ, 42s.
- EMRE, İ., 2002. Senil kataraktlı lens ve ön kamara sıvısında meydana gelen değişimlerin moleküler biyolojisi. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Elazığ, 42s.
- ERDEN, M., 1992. Serbest Radikaller. *Temel Klinik Tıp Bilimleri*, 12:201-206.

- FACCHINETTI, F., DAWSON, V.L., and DAWSON, T.M., 1998. Free radicals as mediators of neuronal injury. *Cell. Mol. Neurobiol.*, Böl.:18, s. 667-682.
- FECOND, J.V., and AUFUSTEYN, R.C., 1983. Superoxide dismutase, catalase, and glutathion peroxidase in the human cataractous lens. *Exp. Eye Res.* 36:15-32.
- FETROW, C.W., and AVILA, J.R., 1999. *Professional's Handbook of Complementary and Alternative Medicines*. Springhouse, PA: Springhouse Corporation.
- FREEMAN, B.A. and CRAPO, J.D., 1982. Biology of disease free radical and tissue injury. *Lab Invest*; 47: 26-412.
- FREI, B., 1994. *Natural Antioxidants in Human Health and Disease*. Academic Press. Seven, A. ve Candan, G., 1996. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Med.*, 27: 41-51.
- FULBERT, J.C., SUCCARI, M., and CALS, M.J., 1992. Semi- automated assay of erythrocyte Cu-Zn Superoxide dismutase activity. *Clin. Biochem.*, 25:115-119.
- GASSEN, M., and Yöйдim, M.B., 1999. Free radical scavengers: Chemical concept and clinical relevance. *J Neural Trans*, s.193-210.
- GIUGLIANO, D., PAOLISSO, G., and CERIELLO, A., 1996. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, 19(3): 257-67.
- GRATTAGLIANO, I., VENDEMIALE, G., and BOSCIA, F., 1998. Free Radical Biology and Medicine. Oxidative retinal products and ocular damages in diabetic patients, s.369-372.
- GURR, M.I., and HARWOOD, J.L., 1991. *Lipid Biochemistry an introduction*. London: Chapman & Hal, p: 406.
- GUTTERIDGE, J.M., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*; 41: 1819-1828.
- GUYTON, A.C., and HALL, J.E., 2001. *Tıbbi Fiyoloji*. 10. Baskı. Editör: Çavuşoğlu, H., Nobel Tıp Kitabevi, Böl.: 50, s.578-588.
- GÜNEY, Y., SATMAN, İ., DİNÇÇAĞ, N., ve ALPTEKİN, S., 1996. Salivary Peroxidase Activity in Whole Saliva of Patients with Insulin-Dependent (type- 1) Diabetes mellitus. *J. Clin Periodontol*, 23: 879-881.
- GÜVEN, D., ÖZDEMİR, H., ve HASANREİSOĞLU, B., 1996. Hemodynamic alterations in diabetic retinopathy. *Ophthalmology*, 103: 1245-1249.
- GÜZELMANSUR, İ., http://www.afsad.org.tr/_goruntu/bilgidag/bilgidag.htm#c
- HALL, D.W., VANDIVER, V.V. and FERRELL, J.A., 2004. Purple Nutsedge, *Cyperus rotundus L.*, University of Florida. s.37.
- HALLIWELL, B., 1996. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Res.* 25, 57-74.
- HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 1989: *Free radicals in Biology and Medicine*. Oxford, Clarendon Press; s.177-8.
- HANAFY, M.S., and HATEM, M.E., 1991. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa L.* seed (black cumin). *J. Indiana State Med. Assoc.* 34: 275-278.
- HARDING, J.J., 1991. *Cataract: Biochemistry, Epidemiology and Pharmacology*. Chapman and Hall, London.

- HARRIS, A. BINGMAN, D.P., CIULLA, T.A., and MARTIN, B.J., 1997. Retinal and Choroidal blood Flow in Health and Disease. Basic Science, inherited retinal disease, and tumors. s.68-89.
- HATUNGİL, R., 2002. Serbest radikallerin yol açtığı doku hasarları. Mersin Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi. 3: 460-469.
- HAYASHI, D., and SHIMIZU, T., 1982. Metabolic and functional significance of prostaglandins in lipid peroxide research. In lipid peroxides and Medicine (Yagi K. Ed) New York Academic Pres, pp. 41-53.
- İŞLEKEL, H., İŞLEKEL, S., ve GÜNER, G., 2000. Biochemical Mechanism and Tissue Injury of Cerebral Ischemia and Reperfusion. J Nuero Sci, 17: 45-49.
- JACOB, R.A., and BURR, B.J., 1996. Oxidative damage and defence. Am J Clin Nutr; 63: 985-990.
- JO, C., and AHN, D.U., 1998. Fluoremetric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in Turkey. Poultry, 77: 475-480.
- KAREL, F., 2001. Temel Göz Hastalıkları, Editörler: Aydın, P., Akova, Y. Güneş Kitabevi. Böl.: 9, s.191-204.
- KAYA, S., PİRİNÇÇİ, İ., ve BİLGİLİ, A., 1998. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi: 35, Ankara, s.222, 232, 273, 276,355.
- KILINÇ, K., ve KILINÇ, A., 2002. Oksijenin Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. Hacetepe Tıp Dergisi, 33: 100-118.
- KIRHGESNER, M., HARTMANN, S., and EDER, K., 1995. The effect of selenium deficiency on the fatty acid composition of various tissues and the osmotic fragility of erythrocytes in the growing pig. J. Ann. Physiol. Ann Nutr. 73: 76-85.
- KUTLU, H.M., ve MERCANGÖZ, A., 1996. Tip I ve Tip II Diabetes mellitus' ta bazı serum enzim aktivite düzeyleri. Anadolu Üniversitesi Fen -Edb. Derg., 2: 145-159.
- MADAR, Z., ABEL, R., SAMISH, S., and ARAD, J., 1988. Glucose-lowering effect of fenugreek in non-insulin dependent diabetics. Eur J. Clin Nutr, 42: 51-54.
- MARLES, R.J., and FARNSWORTH, N.R., 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine, 2: 137-189.
- MATES, J.M., 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. Toxicology, 153: 83-104.
- MEISTER, A., 1983. Selective modification of glutathione metabolism, 220: 472-477.
- MENDIVIL, A., 1995. Ocular blood flow velocities in patients with proliferative diabetic retinopathy and healthy volunteers: a prospective study. Br. J. Ophthalmol; 79: 413-416.
- MERCANGÖZ A.,1991. Şeker hastalığının (Diabetes mellitus) fizyolojik mekanizması Anadolu Üniversitesi Fen-Edb. Derg. 3(2): 133-138.
- MERT, N., AĞAOĞLU, Z.T., GÜNDÜZ, H., ERTEKİN, A., ve DEDE, S., 2000. *Nigella sativa L.* (Çörekotu), Vitamin C, E ve Selenyum, Nitrosoguanidin Uygulanan Tavşanların Tüylerindeki İz Element Seviyelerine Etkileri. Uludağ Üniversitesi Tıp Fak. Derg. 26(3) 87-90.

- MILLER, S.J.H., 1989. Parson's Temel Göz hastalıkları Teşhis ve Tedavi. Editör: Özçetin, H., Atlas Tıp Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. Yayınları, Böl:1, s.3-15.
- NAYAK, M.S., KITA, M., and MARMOR, M.F., 1993. Protection of Rabbit Retina from Ischemic Injury by Superoxide Dismutase and Catalase. Invest Ophthalmol Vis Sci, 34: 2018-2022.
- NAZIROĞLU, M., DİLSİZ, N., ve ÇAY, M., 1999. Protective role of intraperitoneally administered vitamins C and E and selenium on the levels of lipid peroxidation in the lens of rats made diabetic with streptozotocin. Biol Trace Elem Res. 79: 223-232.
- NIELSIN, J.C., NAASH, M.I., and ANDERSON, R.E., 1987. The Regional Distribution of Vitamin E and C in Mature and Premature Human Retinas. Invest Ophthalmol Vis Sci. 29: 22-26.
- OBROSOVA, I.G., and STEVENS, M., 1998. Effect of dietary taurine supplementation on GSH and NAD(P)-redoks status lipid peroxidation, and energy metabolism in diabetic precataractous lens. Invest Opht Vis Sci, 40: 680-688.
- OĞUZ, Z., TAAN, E., YATAT, A., ve HATEMİ, H., 1995. Kısa Süreli Akut Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Lens Glutasyonu, Lens Proteinlerinin Non-Enzimatik Glikolizasyonu Elektroforezi. Endokronolojide Yönelişler Dergisi. 4(2): 2-6.
- OVALI, T., 2001. Temel Göz Hastalıkları, Editörler: Aydın, P., Akova, Y. Güneş Kitabevi. Böl.: 3, s.39-51.
- ONAY, A., 1997. Hipergliseminin endotel-bağımlı ve endotel-bağımsız vasküler gevşeme yanıtları üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 70s.
- ÖNER, A., 2003. Diyabet oluşturulmuş albino sıçanların lens kataraktını önlemede çeşitli antioksidanların rolü. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 66s.
- ÖNER, İ.Ö., 2004. Deneysel diyabetik retinopati oluşturulmuş sıçanlarda çeşitli antioksidanların koruyucu etkisi Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 40s.
- ÖZALPAN, A., 2001. Radyobiyojoloji. Haliç Üniversitesi Yayınları: İstanbul, s. 30-35.
- PAOLISSO, G., and GIUGLIANO, D., 1996. Oxidative stres and insülin action: Is there a relationship? Diabetologia, 39: 357-363.
- POLI, G., ALBANO, E., and DIANZANI, M.U., (1993). Free Radicals: From Basic Science to Medicine. Birkhauser, Basel (Switzerland), s.47.
- POOLISSO, G.D., AMORE, A., GRUPLIANO, D., CERIELLO, A., VARRCEHIO, M., and DONOFRIO, F., 1993. Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non insulin dependent diabetic patients. Am.J.Clin Nutr. 57: 650-656.
- PRACTIDO, D., PASIN, M., and BARRY, O.P., 1999. Iron dependet human platelet activation and hydroxil radikal formation: involvement of protein. Circulation, 99:3118-24.

- RAVIKUMAR, P., and ANURADHA, C.V., 1999. Effects of Fenugreek Seeds on Blood Lipid Peroxidation and Antioxidants in Diabetic Rats. *Phytother. Res*, 13: 197-201.
- READY, V.N. 1990. Glutathione and its function in the lens an overview. *Exp.Eye Res.*, 50: 771-778.
- ROBINSON, J., and BADWEY, J., 1998. The NSDPH oxidase complex of phagocytic leukocytes: Biochemical and cytochemical view. *Histochem.*, 103:163-180.
- SALOMI, N.J., NAIR, S.C., JAYAWARAHANAN, K.K., and VARGHESE, C.D., 1992. Antitumor principles from *Nigella sativa L.* seeds. *Johns Hopkins Alumni. Mag.*, 63(1): 33-36.
- SECHI, L.A., CERIELLO, A., and GRIFFIN, C.A., 1997. Renal antioxidant enzyme mRNA levels are increased in rats with experimental diabetes mellitus. *Diabetologia*, 40: 23-29.
- SERİN, E., YILMAZ, E., YILMAZ, S., ÜNSALDI, E., ve DURMUŞ, AS., 1998. İskemi-reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri. *Artroplastik Artroskopik Cerrahi*. 9: 36-39.
- SEVEN, A., ve CANDAN, G., 1996. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Med*. 27: 41-50.
- SHARMA, R.D., RAGHURAM, T.C., and RAO, N.S., 1990. Effect of Fenugreek seeds on blood glucose and serum lipids in type 1 diabetes. *Eur J Clin Nutr*, 44:301-306.
- SHARMA, R.D., SARKAR, A., HAZRA, D.K., MISHRA, B., SING, J.B., SHARMA, S.K., MAHESHWARI, B.B., and MAHESHWARI, D.M., 1996. Use of fenugreek seed powder in the management of non-insulin dependent diabetes mellitus. *Nutr. Res*.16: 1331-1339.
- SIMONELLI, F., NESTI, A., and PENSA, M., 1989. Lipid peroxidation and human cataractogenesis and severe myopia-exp. *Exe Res*. s.181-187.
- SÖZMEN, E.Y., SÖZMEN, B., DELEN, Y., ve ONAT, T., 2001. Catalase/Superoxide dismutase (SOD) and Catalase/Paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Arch. Med. Res*. 32: 283-287.
- STRINGER, M.D., GOROG, P.G., FREEMAN, A., and KASKAR, V.V., 1989. Lipid peroxides and atherosclerosis. *BMJ*; 298: 281-284.
- ŞAHİN, A., YENER, Z., DAĞOĞLU, G., DEDE, S., OTO, G., ve ALKAN, M., 2003. Karbontetraklorid (CCI₄) ile Deneysel Olarak Karaciğer Nekrozu Oluşturulan Ratlarda Vitamin E + Selenyum ve *Nigella sativa L.* (Çörekotu)'nun Karaciğer Yıkımını Engelleyici Etkileri. *TÜBİTAK*, 27: 141-152.
- TAMER, L., İSPİR, T., ve DORAN, F., 1997. "Deneysel diyabetik sıçan modelinde kalsiyum adenozin 5'-trifosfataz enzimi, serum malondialdehid ve alfa tokoferol düzeylerinin araştırılması" *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 22(3): 145-151.
- TAMER, L., POLAT, G., ESKANDARİ, G., ERCAN, B., ve ATİK, U., 2000. Serbest radikaller. *Mersin Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi*, 1: 52-58.

- THUMAN, G., and HINTON, D.R., 1997. Cell Biology of the retinal pigment Epithelium. Basic Science, inherited retinal disease and tumors. s.104-112.
- TOSUN, H., ve DEMİR, S., 1999. Serbest radikallerin ve antioksidanların yaşlanmadaki rolü. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Öğrenci Bülteni. s.12-22.
- TÜRKER, L., ve BAYRAK, A., 1997. Çörekotu (*Nigella sativa L.*)'nun Sabit ve Uçucu Yağ Kompozisyonunun Araştırılması. Standard, 430:128-137.
- UYSAL, M., 1998. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. Klinik Gelişim, 11: 336-341.
- UZEL, N., SİVAS, A., UYSAL, M., ÖZ, H., 1987. Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus. Horm.Metab. Res. 19: 89-90.
- ÜNAL, D., 1999. Serbest Radikaller. Sendrom , 11(3): 68-80.
- VURAL, F., 1997. Anatomi Atlası. Birol Yayınları, 260, İstanbul.
- WOLFF SP., 1993. Diabetes mellitus and free radicals. Br. Med. Bulletin., 49(3): 642-652.
- YALÇIN, AS., 1998. Antioksidanlar. Klinik Gelişim, 11: 409-411.
- YILDIRIM, M., 1996. İnsan Anatomisi. Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., s. 252-256.
- YILDIZ, Z., 2004. Deneysel iskemi-reperfüzyon oluşturulmuş sıçan retinasında çeşitli antioksidanların koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- YU, B.P., 1994. Cellular defences against damage from reactive species. Physiol Rev., 74: 139-162.
- ZELENKA, S., 1984. Lens lipids. Current Eye Research. 3(11):1337-1359.

ÖZGEÇMİŞ

17.12.1974'de Şanlıurfa'nın Hilvan ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi çeşitli il ve ilçelerde tamamladım. Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü bitirdim. 2002 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Moleküler Biyoloji alanında Yüksek Lisans çalışmalarına başladım. 2002 yılında öğretmen olarak atandım ve halen aynı görevde çalışmaktayım.

ÖZET

Bu çalışma için hayvanlar (Wistar-albino) Elazığ Veteriner Kontrol Merkezi Müdürlüğü'nden temin edildi. Denekler yedi gruba ayrıldı. 1. grup (kontrol), 2. grup (STZ), 3. grup (STZ + *T. foenum-graecum* L.), 4. grup (STZ + *N. sativa* L.), 5. grup (STZ + *C. rotundus* L.), 6. grup (STZ + E vitamini) ve 7. grup (*R. coriaria* L.) olarak adlandırıldı. Herhangi bir işlem uygulanmadan önce grupların açlık kan şekerleri ölçüldü. Kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmadı. 2. gruba 1.2 ml (60 mg/kg) STZ peritoneal enjeksiyonla uygulandı. STZ'den önce 3. gruba *T. foenum-graecum*, 4. gruba *N. sativa*, 5. gruba *C. rotundus*, 6. gruba E vitamini ve 7. gruba *R. coriaria* ekstraktı 0.25 ml orogastrik yöntemle verildi. Ekstrakt uygulamasından bir gün sonra 3., 4., 5., 6. ve 7. gruplara 1.2 ml STZ enjeksiyonu yapıldı. Haftada bir kez olmak üzere bütün grupların açlık kan şekeri 7 hafta boyunca düzenli olarak ölçüldü ve haftada bir kez 3. gruba *T. foenum-graecum*, 4. gruba *N. sativa*, 5. gruba *C. rotundus*, 6. gruba E vitamini ve 7. gruba *R. coriaria* ekstraktı 0.25 ml (12.5 mg/kg) olmak üzere 7 hafta boyunca düzenli olarak verildi. 7. hafta sonunda hayvanlar öldürülerek gözleri enükle edildi. Daha sonra retina ve lensler izole edilerek biyokimyasal analizler için kullanıldı. Biyokimyasal incelemede MDA ve GSH miktarları ölçüldü.

Diyabetik grubun retina MDA değeri (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubundan (1.18 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) oldukça yüksek bulunmuştur. *C. rotundus* (1.17 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *N. sativa* (1.03 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *T. foenum-graecum* (1.48 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının MDA değerinin kontrol grubu (1.18 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) MDA değerine yakın olduğu görülmüştür. Vitamin E (6.34 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *R. coriaria* (6.68 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının MDA değeri ise diyabet grubuna (5.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın bulunmuştur. Diyabetik grubun lens MDA değeri (0.13 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) kontrol grubundan (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yüksek bulunmuştur. *C. rotundus* (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), *T. foenum-graecum* (0.09 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), Vitamin E (0.07 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ve *R. coriaria* (0.05 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) gruplarının MDA değerlerinin kontrol grubuna (0.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yakın olduğu görülmüştür. *N. sativa* grubunun MDA değeri (0.14 nmol/100 mg lens

yaş ağırlık) ise diyabet grubu (0.13 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) MDA değerine yakın bulunmuştur.

Diyabetik grubun retina GSH değeri (0.55 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubundan (1.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) düşük bulunmuştur. *T. foenum-graecum* grubunun GSH değeri (0.65 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) kontrol grubu GSH değerine (1.04 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) az da olsa yakın bulunmuştur. *N.sativa* (0.46 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), Vitamin E (0.41 nmol/100 mg retina yaş ağırlık), *R. coriaria* (0.38 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) ve *C. rotundus* (0.30 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) gruplarının GSH değerlerinin diyabet grubu GSH değerine (0.55 nmol/100 mg retina yaş ağırlık) yakın olduğu görülmüştür. Diyabetik grubun lens GSH değeri (5.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) kontrol grubundan (28.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) oldukça düşük bulunmuştur. Buna karşılık, *C. rotundus* (26.08 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), *N. sativa* (17.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık), Vitamin E (15.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) ve *T. foenum-graecum* (11.6 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) gruplarındaki GSH değerlerinin kontrol grubuna (28.5 nmol/100 mg lens yaş ağırlık) yakın olduğu görülmüştür. Sonuç olarak diyabetin peroksidasyon ürünü olan MDA oluşumunu arttırdığı ve bir antioksidan olan GSH miktarını düşürdüğü bulunmuştur. Kullanılan antioksidanların ise peroksidasyon ürünü olan MDA oluşumunu engellediği ve antioksidan olan GSH miktarını koruduğu tesbit edilmiştir.

SUMMARY

The animals, for this study, were obtained from The Veterinary Control Center (Elazığ). Rats were divided into seven groups. These were named as group 1 (control), group 2 (STZ), group 3 (STZ + *T. foenum-graecum*), group 4 (STZ + *N. sativa*), group 5 (STZ + *C. rotundus*), group 6 (STZ + Vitamin E) and group 7 (STZ + *R. coriaria*). Before any process was applied, the blood sugar of the hunger of the groups were measured. The control group was not gone under any process. 1.2 ml of STZ (60 mg/kg) administered peritoneally to the group 2 (STZ) with injection. Before STZ, 0.25 ml (12.5 mg/kg) was given into the groups of 3, 4, 5, 6 and 7 extract of *T. foenum-graecum*, extract of *N. sativa*, extract of *C. rotundus*, Vitamin E and extract of *R. coriaria* with orogastric method. After one day of administration, 1.2 ml STZ (160 mg/kg) was injected to the groups 3, 4, 5, 6 and 7. Just about once a week, the blood sugar of the hunger of the groups were measured regularly throughout seven weeks and groups 3, 4, 5, 6 and 7 administered with 0,25 ml extract of the *T. foenum-graecum*, extract of the *N. sativa*, extract of the *C. rotundus*, Vitamin E (alfa-tokoferol) and extract of the *R. coriaria* once a week for the period of seven weeks. At the end of 7th week, animals were killed and their eyes were enucleated. Then retina and the lens were isolated from eyes and used to for the determination of MDA and GSH level.

Retina MDA level of diabetic group (5.04 nmol/ 100 mg retina wet weight) was found quite higher than the level of the control group (1.18 nmol/ 100 mg retina wet weight). MDA level of the groups *C. rotundus* (1.17 nmol/ 100 mg retina wet weight), *N. sativa* (1.03 nmol/ 100 mg retina wet weight) and *T. foenum-graecum* (1.48 nmol/ 100 mg retina wet weight) was observed close to the MDA level of the control group (1.18 nmol/ 100 mg retina wet weight). MDA level of the group of Vitamin E (6.34 nmol/ 100 mg retina wet weight) and *R. coriaria* (6.68 nmol/ 100 mg retina wet weight) was found close to the diabetic group (5.04 nmol/ 100 mg retina wet weight). Lens MDA level of diabetic group (0.13 nmol/ 100 mg lens wet weight) was found higher than the control group (0.08 nmol/ 100 mg lens wet weight). MDA level of the groups *C. rotundus* (0.08 nmol/ 100 mg lens wet weight),

T. foenum-graecum (0.09 nmol/ 100 mg lens wet weight), Vitamin E (0.07 nmol/ 100 mg lens wet weight) and *R. coriaria* (0.05 nmol/ 100 mg lens wet weight) was observed close to the control group (0.08 nmol/ 100 mg lens wet weight). MDA level of the group *N. sativa* (0.14 nmol/ 100 mg lens wet weight) was found close to the MDA level of diabetic group (0.13 nmol/ 100 mg lens wet weight).

Retina GSH level of diabetic group (0.55 nmol/ 100 mg retina wet weight) was found lower than the control group (1.04 nmol/ 100 mg retina wet weight). The GSH level of the group *T. foenum-graecum* (0.65 nmol/ 100 mg retina wet weight) was found close to control group (1.04 nmol/ 100 mg retina wet weight) of GSH level with a small difference. The GSH level of the groups *N. sativa* (0.46 nmol/ 100 mg retina wet weight), Vitamin E (0.41 nmol/ 100 mg retina wet weight), *R. coriaria* (0.38 nmol/ 100 mg retina wet weight) and *C. rotundus* (0.30 nmol/ 100 mg retina wet weight) was observed close GSH level of diabetic group (0.55 nmol/ 100 mg retina wet weight). GSH level in lens of diabetic group (5.6 nmol/ 100 mg lens wet weight) was found rather less than control group (28.5 nmol/ 100 mg lens wet weight). In contract, GSH level of the groups *C. rotundus* (26.08 nmol/ 100 mg lens wet weight), *N. sativa* (17.6 nmol/ 100 mg lens wet weight), Vitamin E (15.5 nmol/ 100 mg lens wet weight) and *T.foenum-graecum* (11.6 nmol/ 100 mg lens wet weight) was observed close to control group (28.5 nmol/ 100 mg lens wet weight). As result, It was found that diabet increased the formation of peroxidation substrat MDA and decreased the level of GSH which is an antioxidant. It was noticed that antioxidant, which is used, prevented the formation of peroxidation substrat MDA and protected quantity of a antioxidant GSH.