

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Diyabetik Farelerde Brokoli Tohum Ekstresi, Roka Tohum Ekstresi ve İmidazol Halkası Bulunduran Prolidin Türevi Molekülün Antioksidan, Antiinflamatuvar, Antidiyabetik ve Kognitif Fonksiyonlar Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Hadice HAZNEVİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Kasım, 2024

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

Diyabetik Farelerde Brokoli Tohum Ekstresi, Roka Tohum Ekstresi ve İmidazol Halkası Bulunduran Prolidin Türevi Molekülün Antioksidan, Antiinflamatuvar, Antidiyabetik ve Kognitif Fonksiyonlar Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Hadice HAZNEVİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 22/11/2024 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Değerlendirilmiş ve Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. Naciye DÖNDAŞ (Danışman)
: Prof. Dr. Gülizar ATLI DEMİRAY
: Doç. Dr. Hasan Ufuk ÇELEBİOĞLU

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: TYL-2023-16263

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

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
2.1. Diabetes Mellitus	9
2.2. Yüksek yağlı diyet	10
2.3. Diyabet ile kognitif fonksiyon ilişkisi.....	12
2.4. Tıbbi bitkiler ve <i>Brassicaceae</i> Familyası.....	12
2.5. Brokoli	14
2.6. Roka	15
2.7. Kombinasyon Çalışmaları.....	17
2.8. Sentetik Kimyasallar	17
2.8.1. İmidazol halkası bulunduran pirolidin türevi molekülü.....	18
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Materyal	19
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	19
3.1.2. Kullanılan Malzemeler.....	19
3.2. Metot	19
3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması.....	19
3.2.2. Karamelli Yüksek Yağlı Diyet (KYYD) Hazırlanması	21
3.2.3. <i>İn vivo</i> Çalışmaları	21
3.2.4. Barnes Maze Davranış Testi	23
3.2.5. <i>İn vitro</i> Çalışmalar:	24
3.2.6. ELISA Analizleri	25
3.2.7. İstatistiksel Analiz.....	25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1. Bulgular.....	27
4.1.1. Farelerde <i>in vivo</i> Deneysel Çalışmaların Bulguları.....	27

4.1.2. Farelerin Açlık Kan Şekeri Ölçümü.....	32
4.1.3. Farelerde <i>In vitro</i> Deneysel Çalışmalar.....	32
4.2. Tartışma	37
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	51
EKLER.....	53



Diyabetik Farelerde Brokoli Tohum Ekstresi, Roka Tohum Ekstresi ve İmidazol Halkası Bulunduran Prolidin Türevi Molekülün Antioksidan, Antienflamatuvar, Antidiyabetik ve Kognitif Fonksiyonlar Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Hadice HAZNEVİ

Danışman: Prof. Dr. Naciye DÖNDAŞ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

ÖZ

Diyabet (şeker hastalığı), hiperglisemi ile kendini gösteren, ömür boyu sürebilen kronik bir hastalıktır. Günümüzde diyabet tedavisinde kullanılan ilaçların hipoglissemik etkileri olmakla birlikte, yan etki sıklığı ve komplikasyonları tersine çevirememeleri nedeniyle, yeni antidiyabetik ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Geleneksel tıpta diyabet tedavisinde geleneksel terapiler olarak çok sayıda bitki ekstreleri kullanılmaktadır. Fitoterapide kullanılan terapötiklerin; antioksidan ve/veya anti-enflamatuvar etkileri nedeniyle birçok hastalığın tedavisinde katkı sağlayabildikleri rapor edilmiştir. Tıbbi bitkilerin ve ilaç adayı olarak sentezlenen kimyasal bileşiklerini farmakolojik etki mekanizmalarını canlı *in vitro* ve *in vivo* hayvan deneyleri ve deneysel hayvan hastalık modellerine yönelik AR-GE çalışmalar gittikçe artmaktadır. Bu tezde, antioksidan ve anti-enflamatuvar özelliklere sahip brokoli tohumu ekstresi (BTE, 300 mg/kg), roka tohumu ekstresi (RTE, 300 mg/kg), kombinasyonları (MİX; 300 mg/kg (BTE, 150 mg/kg + RTE, 300 mg/kg)) ve imidazol halkalı pirolidin molekülü (İHPM, 4 mg/kg) kullanılarak, karamelli yüksek yağlı diyetle beslenen Swiss albino erkek farelerde STZ ile oluşturulan diyabet modelinde kognitif fonksiyon üzerine etkileri Barnes Labirent testiyle incelendi. Karaciğer, böbrek ve beyin dokularında *in vitro* deneysel yöntem olan ELISA ile ilgili bitkisel ekstrelerin ve sentetik kimyasalın antioksidan (SOD), antienflamatuvar (TNF-alfa) ve apoptotik aktivite (BCL-2 ve BAX) tayininin yapılması ve fare izole beyin dokularında AChE düzeyi üzerine etkilerinin gözlemlenmesi gerçekleştirildi.

Özet olarak, *in vitro* çalışmadaki deneysel veriler MİX'in anti-enflamatuvar, hipoglissemik ve antipro-apoptotik etkiler gösterdiğini, BTE'nin ise anti-enflamatuvar, anti-apoptotik ve AChE aktivitesini inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermektedir. *In vivo* deneysel veriler ise diyabetik farelerde BTE, RTE, MİX ve İHPM'nin kognitif fonksiyonlar üzerinde tedavi edici etkilerini olabileceğini telkin etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Brokoli tohumu ekstresi, roka tohumu ekstresi, diyabet, imidazol halkalı pirolidin molekülü, yüksek yağlı diyet

**Investigating The Effects of Broccoli Seed Extract,
Arugula Seed Extract and Pyrrolidine Derivative Molecule
Containing Imidazole Ring On Antioxidant, Anti-
Inflammatory, Antidiabetic And Cognitive Functions In
Diabetic Mice**

Hadice HAZNEVİ

Advisor: Prof. Dr. Naciye DÖNDAŞ

Department of Biotechnology

ABSTRACT

Diabetes is a lifelong chronic disease characterized by hyperglycemia. Although the drugs currently used in the treatment of diabetes have hypoglycemic effects, new antidiabetic drugs are needed because of the frequency of side effects and inability to reverse complications. In traditional medicine, many plant extracts are used as traditional therapies in the treatment of diabetes. Therapeutics used in phytotherapy have been reported to contribute to the treatment of many diseases due to their antioxidant and/or anti-inflammatory effects. R&D studies on the pharmacological mechanisms of action of medicinal plants and chemical compounds synthesized as drug candidates *in vitro* and *in vivo* animal experiments and experimental animal disease models are increasing. In this thesis, the effects of broccoli seed extract (BSE, 300 mg/kg), arugula seed extract (ASE, 300 mg/kg), combinations (MIX; 300 mg/kg (BSE, 150mg/kg+ ASE, 150 mg/kg)) and imidazole ring pyrrolidine molecule (IRPM, 4 mg/kg), which have antioxidant and anti-inflammatory properties, on cognitive function in STZ-induced diabetes model in high-fat diet with caramel fed Swiss albino male mice were investigated by Barnes Maze test. Determination of antioxidant (SOD), anti-inflammatory (TNF-alpha) and apoptotic activity (BCL-2 and BAX) of the respective herbal extracts and synthetic chemicals and observation of their effects on AChE level in isolated brain tissues of mice were performed by ELISA, an *in vitro* experimental method in liver, kidney and brain tissues.

In summary, the experimental data in the *in vitro* study suggest that MIX has anti-inflammatory, hypoglycemic and anti-apoptotic effects, while BTE has anti-inflammatory, anti-apoptotic and AChE activity inhibitory effects. *In vivo* experimental data suggest that BTE, RTE, MIX and IHPM may have therapeutic effects on cognitive functions in diabetic mice.

Keywords: Arugula seed extract, broccoli seed extract, diabetes, imidazole ring pyrrolidine molecule, high-fat diet

TEŞEKKÜR

Bu tez alıőmasının gerekleőtirilmesi ve tamamlanmasında bana rehberlik eden, bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren baőtta değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Naciye YAKTUBAY DÖNDAŞ'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Kendisi, çalıőmam boyunca bana duyduğu güven ve sabırla yolumu aydınlatmıő, akademik gelişimime büyük katkı sağlamıştır. Ayrıca, çalıőmamın her aőamasında desteklerini esirgemeyen, değerli görüő ve önerileriyle katkıda bulunan kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Ali DÖNDAŞ'a de teőekkürü bir borç bilirim. Onun bilgi birikimi ve yönlendirmeleri, çalıőmamın başarısında büyük rol oynamıőtır.

Bu süreçte birlikte çalıőmaktan büyük mutluluk duyduğum ekip arkadaşlarım Zeynep KATIÇELİK, Beyza Nur ARSLAN, Senanur TAŐ, Mehmet Ali TAMER, Gizem YILDIRIM, Bedriye ÇELİK ve Dr. Abdulselam SAğLAM'a içten teşekkür ederim. Birlikte çalıőtığımız her an, dayanıőma ve uyum içinde bir ekip olmanın önemini bana hissettirdikleri için hepsine minnettarım.

Son olarak, tüm eğitim hayatım boyunca bana her türlü desteği veren, sevgileri ve özverileriyle yanımda olan sevgili annem őefika ALİBEK, ablam Hibe HAZNEVİ, kardeőlerim Basel HAZNAVİ ve Hayrullah HAZNAVİ'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Onların desteği, bu çalışmanın arkasındaki en büyük güç kaynağım olmuőtur.

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından TYL-2023-16263 numaralı proje olarak desteklenmiştir. BAP birimine sağladıkları destek için teőekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans Eğitim Programı ve Yüksek Lisans eğitim-öğretimim boyunca verdiği destekler için Fen Bilimleri Enstitüsü'ne teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 4.1. Farelerin kaçış kutusuna girme oranları.....	27
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Diyabet Komplikasyonları	1
Şekil 1.2. Brokolinin biyoaktif madde içeriği	2
Şekil 1.3. Roka'nın biyoaktif madde içeriği	3
Şekil 1.4. İmidazol halkası bulunduran piroldin türevi molekülün yapısı	3
Şekil 1.5. Piroldin halkasının farmakolojik etkileri	4
Şekil 1.6. Oksidatif stres durumu	4
Şekil 1.7. Glukotoksisite durumu	5
Şekil 1.8. Lipotoksisite durumu	5
Şekil 1.9. Aşırı yağlı ve şekerli beslenmenin Diyabetle olan ilişkisi	6
Şekil 1.10. Oksidatif stres, enflamasyon ve apoptozisin ilişkileri	7
Şekil 1.11. Kognitif bozukluklar	8
Şekil 3.1. Roka tohumunun ekstresinin hazırlanma aşamaları	19
Şekil 3.2. Roka tohumu	20
Şekil 3.3. Brokoli tohumunun ekstresinin hazırlanma aşamaları	20
Şekil 3.4. Brokoli tohumu	21
Şekil 3.5. Karamelli yüksek yağlı diyet hazırlaması	21
Şekil 3.6. Yapılan <i>in vivo</i> deneylerin aşamaları	22
Şekil 3.7. <i>İn vivo</i> deneylerinde kullanılan tedavi karışımları	23
Şekil 3.8. Kullanılan Barnes Maze Platformunun Tasarımı	24
Şekil 3.9. Kullanılan ELISA kitlerin protokol aşamaları	25
Şekil 4.1. Kaçış kutusunu bulma süreleri	28
Şekil 4.2. Kapalı kutu koklama sayısı	29
Şekil 4.3. Platformda geçirilen süre	30
Şekil 4.4. Kontrol grupları ve KYVD grubun davranışsal değişiklikleri	31
Şekil 4.5. Tedavi grupların davranışsal değişiklikleri	31
Şekil 4.6. Açlık kan şekerin seviyeleri	32
Şekil 4.7. Karaciğer dokusunda TNF- α analizi	33
Şekil 4.8. Böbrek dokusunda TNF- α analizi	33
Şekil 4.9. Karaciğer dokusunda SOD2 analizi	34
Şekil 4.10. Böbrek dokusunda SOD2 analizi	34
Şekil 4.11. Karaciğer dokusunda BAX analizi	35
Şekil 4.12. Karaciğer dokusunda BCL2 analizi	36
Şekil 4.13. Beyin dokusunda AChE analizi	36

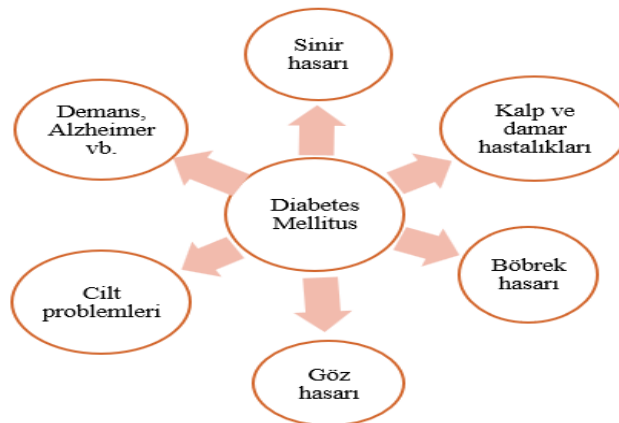
SİMGELER VE KISALTMALAR

α	: Alfa
AChE	: Asetilkolinesteraz
AKŞ	: Açlık kan şekeri
BChE	: Butirilkolinesteraz
BTE	: Brokoli tohumu ekstresi
CRP	: C-Reaktif Protein
CAT	: Katalaz
DM	: Diabetes Mellitus
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DS	: Distile su
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ES	: Eruca sativa
İ.P.	: İntraperitoneal
İHPM	: İmidazol halkası bulunduran pirolidin türevi molekülü
IL-6	: İnterlökin-6
IL-10	: İnterlökin-10
GPx	: Glutasyon peroksidaz
KYYD	: Karamelli yüksek yağlı diyet
LPS	: Lipopolisakkarit
MET	: Metformin
MİX	: Kombinasyon
ÜK	: Ülseratif kolit
RTE	: Roka tohumu ekstresi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STZ	: Streptozotosin
T2DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
VKİ	: Vücut kitle indeksi
YYD	: Yüksek yağlı diyet

1. GİRİŞ

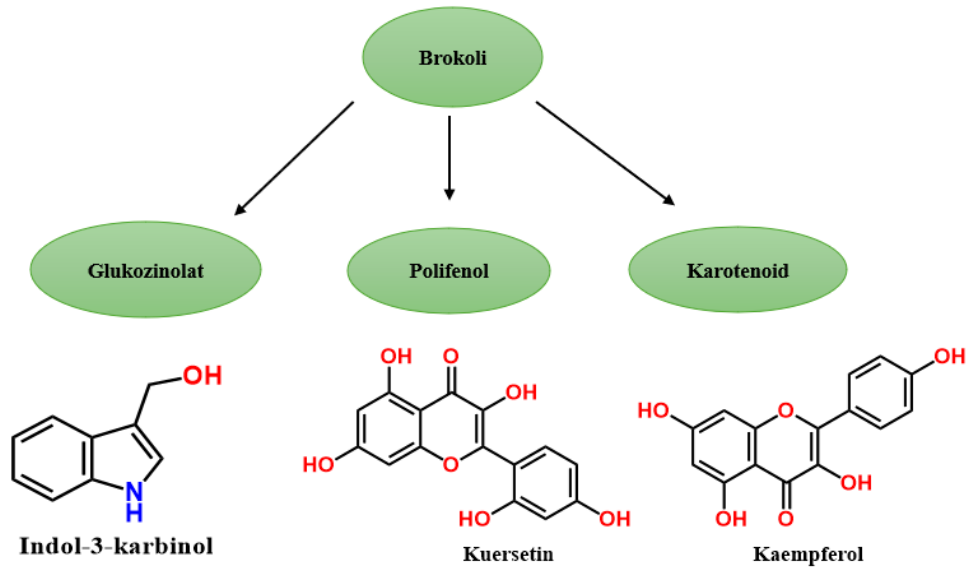
Son zamanlarda, tedavi yaklaşımlarında sentetik kimyasal ilaç yaygın olarak kullanılmaktadır bunun yanı sıra fitoterapiye olan ilgi gittikçe artmaktadır. Fitoterapide kullanılan terapötiklerin; antioksidan ve/veya anti-enflamatuvar etkileri nedeniyle birçok hastalığın tedavisinde katkı sağlayabildikleri rapor edilmiştir (Hamidpour ve ark., 2013). Örneğin diyabet hastalığı gibi sağlık sorunlarında doğal tedavi yaklaşımlarına olan ilgi gittikçe artmakta ve bu alanda sentetik kimyasal bileşik ile birlikte paralel olarak bitkisel tedavi araştırma ve geliştirme (AR-GE) çalışmalarında bulunmaktadır. Bu alandaki AR-GE faaliyetleri, bitkisel bileşiklerin ve kimyasal ilaçların etkilerini anlamak için hem kontrollü laboratuvar ortamında yapılan *in vitro* çalışmaları hem de canlı organizmalar üzerinde gerçekleştirilen *in vivo* deneyleri ile diyabet hastalığına yönelik yeni tedavi yaklaşımları geliştirmeye çalışmaktadır.

Diabetes Mellitus (DM), kan şekeri seviyelerinin yüksekliği (hiperglisemi) ile karakterize olan, karbonhidrat metabolizmasındaki defektlere bağlı olarak protein ve yağ metabolizmalarının bozulmasına da neden olan metabolik bir hastalıktır (Demir ve ark., 2021). Bu kronik hastalıkta makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Komplikasyonları önlemek ve oluşan komplikasyonları tedavi edebilmek için DM hastalarına sürekli tıbbi bakım ve destek verilmesi gerekmektedir (Demir ve ark., 2021). DM, dünya genelinde milyonlarca kişide görülmesi ve hastalığın tedavi maliyetinin oldukça yüksek olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. DM zaman içerisinde hastada; görme bozukluğuna, böbrek yetmezliğine, alt ekstremitte amputasyonlarına, koroner kalp hastalığına, inme vb. sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Dünya Sağlık Örgütü [WHO], 2016). Günümüzde tedavi amacıyla kullanılan antidiyabetik ilaçlar kuvvetli etkiye sahip olmalarına rağmen diyabete bağlı komplikasyonları tersine çevirememekte ve uzun süreli kullanımları ilaç direncine ve akut böbrek hasarı gibi yan etkilere yol açabilmektedir. Geleneksel tıpta diyabet tedavisinde geleneksel terapiler olarak çok sayıda bitki ekstraktları kullanılmaktadır (Othman ve ark., 2021).



Şekil 1.1. Diyabet Komplikasyonları

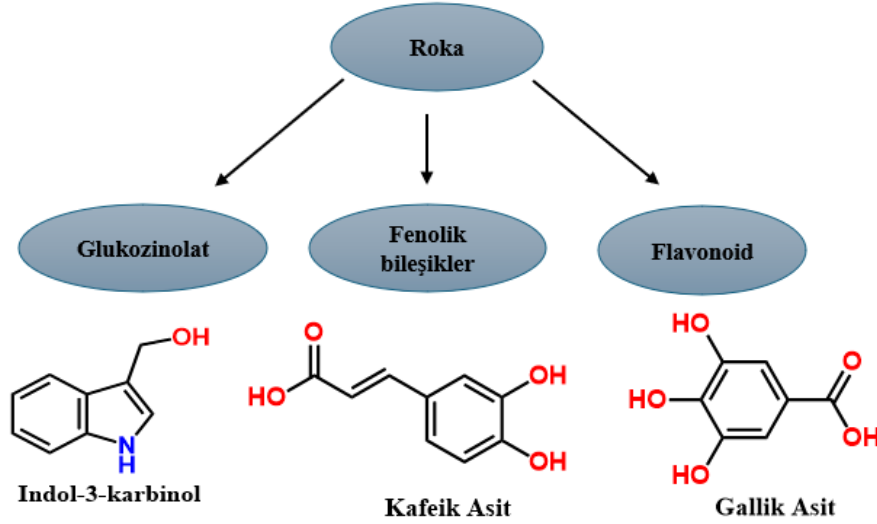
Brassica oleracea L. var. italica (Brassicaceae) halk arasında 'brokoli' olarak bilinmektedir. Brokoli yüksek konsantrasyonlarda selenyum, glukozinolat, glukorafanin, izotiyosiyanat sülforafan ile birlikte polifenoller (hidroksisinnamik asit esterleri, kuersetin glukozitler, kaempferol, lutein, zeaksantin ve α -tokoferol) gibi çeşitli fitokimyasallar içermektedir (Gupta ve ark.,2021; Gupta ve ark.,2022). Brokolinin; antioksidasyon, antienflamasyon, antikanser, antimikrobiyal etkileri ile metabolik sendromların düzenlenmesi, nöroprotektif ve renoprotektif gibi yararlı etkileri literatürde gösterilmiştir. İzotiyosiyanatlar arasında en yaygın olarak çalışılan sülforafandır ve bu bileşiğin faydalı etkilerine dair kanıtlar mevcuttur (Xu ve ark., 2020; Li ve ark.,2022). Sülforafan; obezite, nörodejeneratif rahatsızlıklar, diabetes mellitus ve kanser gibi durumların yanı sıra oksidatif stresle ilişkilendirilen diğer rahatsızlıkların tedavisi için de test edilmiştir (Xu ve ark., 2020).



Şekil 1.2. Brokolinin biyoaktif madde içeriği

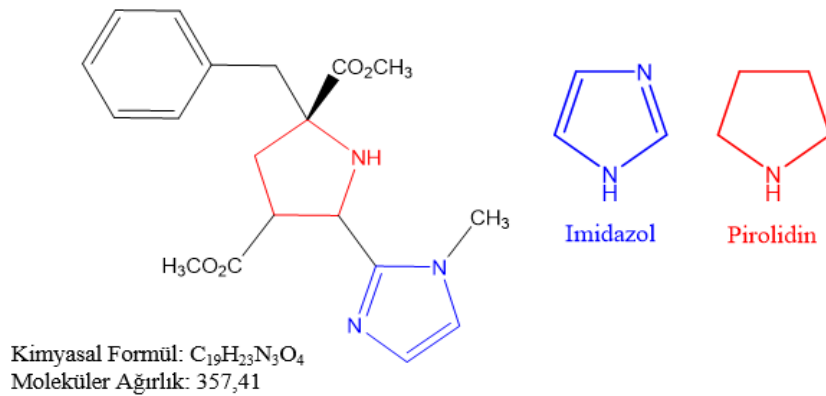
Antioksidan ve antidiyabetik etkilere sahip olan bir diğer bitkimiz ise roka (*Eruca sativa*) (ES), *Brassicaceae* (turpgiller) familyasına ait bir bitki türüdür ve özellikle Akdeniz ülkeleri ile Batı Asya'da yetiştirilmektedir (Elsadek ve ark.,2021). ES; içinde lifler, proteinler, kalsiyum, demir, magnezyum, A ve C vitaminleri ile karotenoidler ve flavonoidler gibi birçok sağlığı destekleyici madde barındırır. Bu bileşenlerin bir kısmının güçlü antioksidanlar olduğu bilinmektedir (Gugliandolo ve ark.,2018; Elsadek ve ark.,2021). Ayrıca, ES yüksek düzeyde glukozinolat, flavonoid ve fenolik bileşikler içerir. İçerisindeki glukozinolatlar, kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyerek antikanser etkide bulunurken, flavonoidler ve fenolik bileşikler güçlü antioksidan özellikleriyle hücresel hasarı önler ve kardiyovasküler hastalık riskini azaltır. Bu bileşiklerin bir kısmı, ülseri, kardiyovasküler ve bilişsel hastalık riskini önleyebilme ile hepatoprotektif etki potansiyeline sahiptir (Kishore ve ark., 2017). Roka tohumları; yüksek yağ, protein, glukozinolat ve erusik asit içeriğine sahiptir. Rokanın hiperglisemiye düzelttiği ve bazı klinik çalışmalarda kan

şekerini düşürdüğü gösterilmiştir (Alam ve ark., 2007; Kishore ve ark., 2017). Bitkide bulunan potansiyel flavonoid bileşikler göz önüne alındığında, bu bitkinin diyabetin yanı sıra diyabetle ilişkili komplikasyonlarını potansiyel olarak tedavi edebileceği düşünülmektedir (Alam ve ark., 2007). Ancak, roka ve bileşenlerinin bu etkilerinin tam olarak anlaşılması ve klinik olarak kullanılabilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

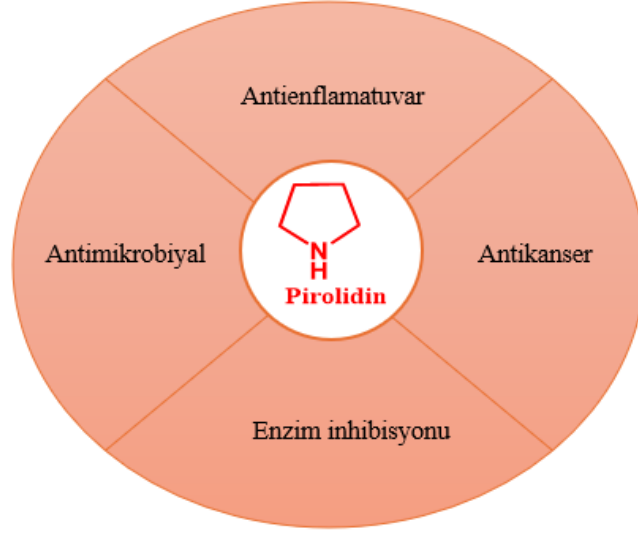


Şekil 1.3. Rokanın biyoaktif madde içeriği

Pirolidin halkası yapısında beş üyeli azot atomu bulunduran önemli heterosiklik yapılarıdır. Yapısında pirolidin halkası taşıyan bileşiklerin antienflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal ve enzim inhibisyonu gibi önemli biyolojik ve farmakolojik etkilerinin olduğu literatürde bilinmektedir (Döndaş ve ark., 2017). Yapılan bir çalışmada, 1-metil-1H-imidazol-2-il parçası taşıyan N-benzoil tiyoüre pirolidin karboksilik asit türevleri sentezlenmiş ve asetilkolin asteraz (AChE) enzimlerine karşı güçlü inhibisyon etkiye sahip olduklarını rapor edilmiştir (Poyraz ve ark., 2023).

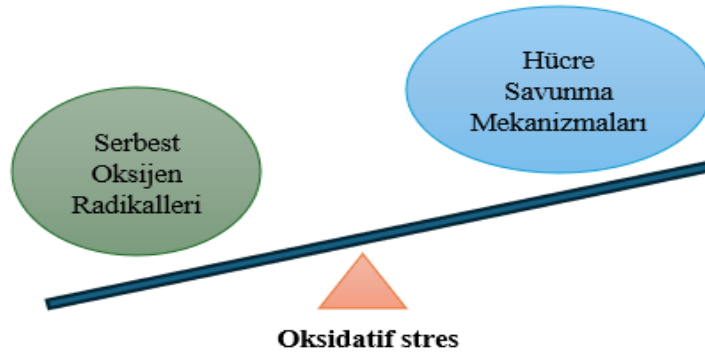


Şekil 1.4. İmidazol halkası bulunduran pirolidin türevi molekülün yapısı



Şekil 1.5. Pirolidin halkasının farmakolojik etkileri

Oksidatif stres; diyabet, kanser ve diğer birçok kronik hastalığın patogenezinde önemli rol oynayan bir durumdur. Oksidatif stres, hücrenin redoks dengesindeki bozulma durumunda ortaya çıkar ve membranlar ile DNA, proteinler ve lipitler gibi hayati biyomoleküllerde hasara yol açmaktadır (Wu ve Cederbaum 2003; Bartsch ve Nair 2004; Speakman ve Selman 2011; Ighodaro 2018). Diyabette, oksidan bileşikler beta hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve sayılarının azalmasına yol açabilmektedirler (Rains ve Jain, 2011). Diyabet sırasında oksidatif stresin, insülinin salgılanmasında ve etkisini göstermesinde soruna neden olabildiği gösterilmiştir (Evans ve ark., 2003; Bloch-Damti ve Bashan, 2005; Seino ve ark., 2011; Giacco ve Brownlee, 2012; Rorsman ve Braun, 2013; Ferrannini ve ark., 2016; Ighodaro 2018). Bu durum sadece diyabetin başlamasını tetiklemekle kalmaz, aynı zamanda hastalık durumunu ve buna bağlı komplikasyonları da şiddetlendirir. (Ighodaro 2018; Prattichizzo ve ark., 2018). Ek olarak, hipergliseminin *de novo* serbest radikal üretimini artırdığı, antioksidan savunma sistemlerini baskılandığı ve böylece oksidatif stresi artırdığı rapor edilmiştir (Giacco ve Brownlee, 2010; Ighodaro 2018). Oksidatif stres, insülin direncinin gelişmesi ve bunun sonucunda insülin sinyalizasyonu ve adipositokinlerin bozulması ile ilişkilidir.

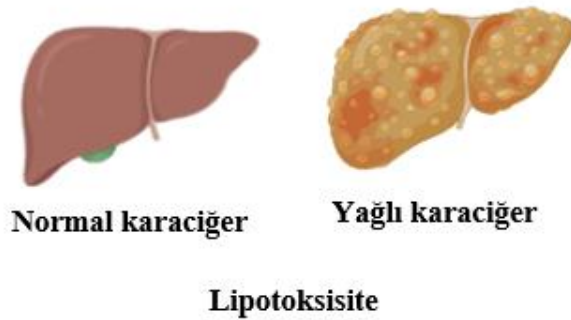


Şekil 1.6. Oksidatif stres durumu

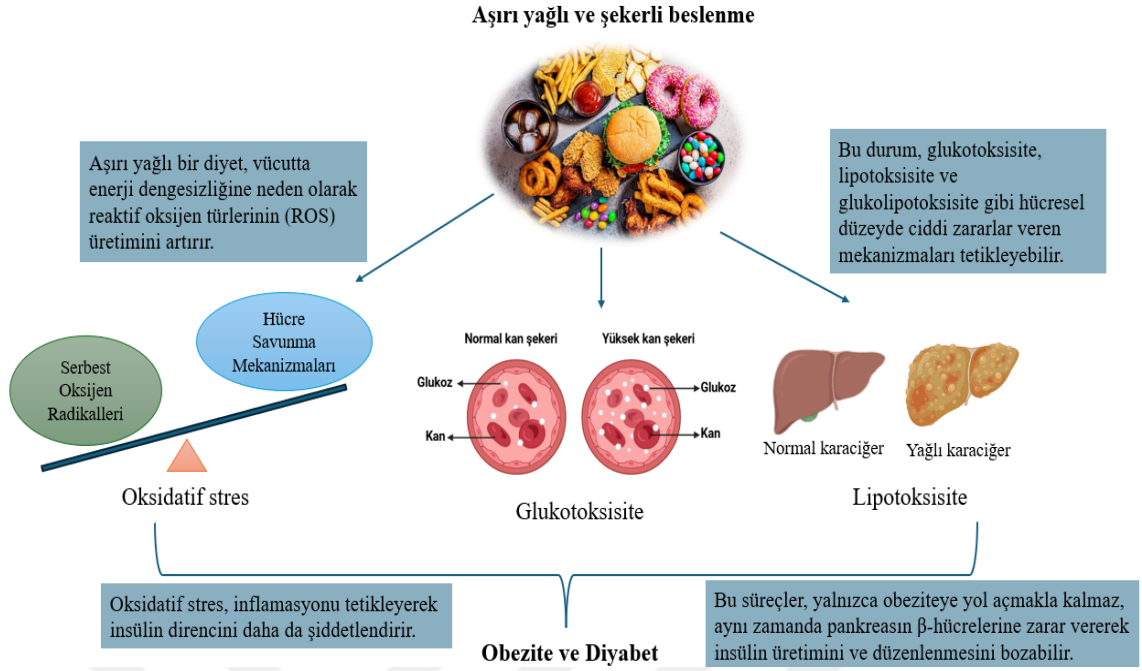
Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, karaciğer ve yağ dokusunda artan reaktif oksijen türevlerin (ROS) üretimi insülin direnci ile ilişkilendirilmiş olup antioksidan tedavi ile oluşan bu direnç geri döndürülebilmektedir (Houstis ve ark., 2006; Kunitomo ve ark., 2008; Matsuzawa-Nagata ve ark., 2008; Rani ve ark., 2016). Aşırı yağlı beslenmeye bağlı olarak ortaya çıkan metabolik ve oksidatif stres, glukotoksisite (kanda aşırı yüksek glikoz seviyesi), lipotoksisite (kas dokusu, karaciğer ve pankreasta aşırı yağ depolanması) ve glukolipotoksisite (Kas, karaciğer ve pankreas adacık hücrelerinde aşırı trigliserid depolanması, bu hücrelerin fonksiyonlarını bozar) gibi faktörler, başta obezite olmak üzere β -hücresi hasarına neden olabilmektedir (Poitout ve ark., 2010; Halban ve ark., 2014). Son yıllarda, birçok hastalığın ortaya çıkışında kronik enflamasyonun rolü olduğunun anlaşılması, araştırmacıları beslenmenin enflamasyon üzerindeki etkisini araştırmaya yönlendirmiştir (Galland, 2010). Diyetle doymuş yağların alımı, adipoz dokuda enflamasyonu artırarak insülin duyarlılığının azalmasına neden olur (Maffeis ve ark., 2012). Kötü beslenme alışkanlıkları enflamasyona yol açan faktörlerden biridir ve enflamasyonun insülin direnci ile yakından ilişkili olduğu gittikçe daha açık hale gelmektedir (Esposito ve Giugliano, 2004).



Şekil 1.7. Glukotoksisite durumu



Şekil 1.8. Lipotoksisite durumu



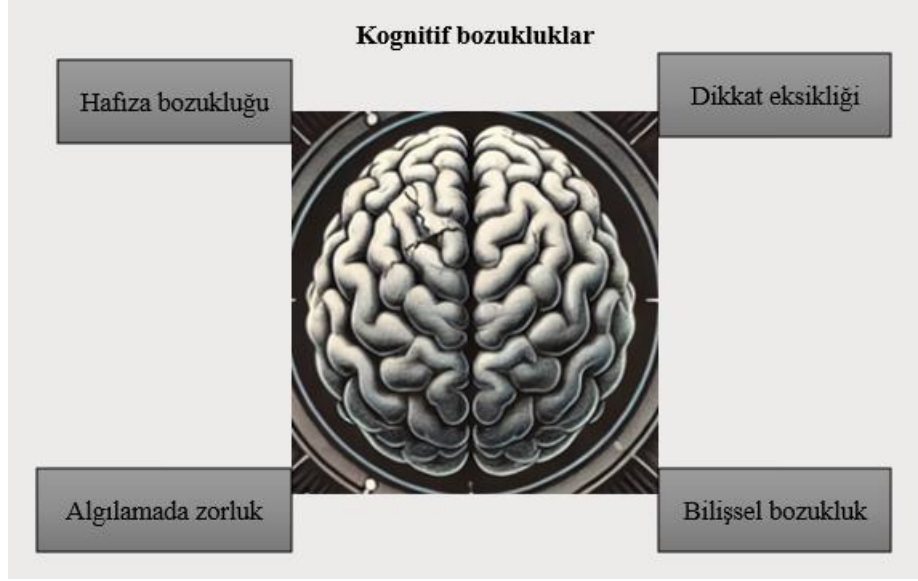
Şekil 1.9. Aşırı yağlı ve şekerli beslenmenin Diyabetle olan ilişkisi

Enflamatuvar süreçler; lipotoksisite (kas dokusu, karaciğer ve pankreasta aşırı yağ depolanması), glukotoksisite (kanda aşırı yüksek glikoz seviyesi) ve oksidatif stres gibi patolojik mekanizmalarla yakından ilişkilidir (Osborn ve Olefsky, 2012). Beslenme ve fiziksel aktivitenin yetersiz olmasından kaynaklanan aşırı vücut yağı, Tip 2 Diyabet (T2DM) gelişimi için en önemli risk faktörlerinden biridir. Doymuş yağların aşırı alımı, glisemik indeksi ve basit şeker içeriği yüksek içeceklerin tüketimi, yetersiz lif alımı gibi kötü beslenme uygulamaları vücut ağırlığı artışıyla birlikte T2DM riskini artırarak kronik düşük dereceli enflamasyona neden olmaktadır (Dünya Sağlık Örgütü [WHO], 2016; Tsalamandris ve ark., 2019). Öte yandan, insülin direncinin enflamasyon kaynaklı olduğu ve bu durumda kanda enflamatuvar bir belirteç olan C-Reaktif Protein (CRP) gibi akut faz proteinlerinin arttığı gözlemlenmektedir (Amirian ve ark., 2020). Diyabetik hastalarda, TNF- α , CRP gibi enflamatuvar belirteçlerin yüksek seviyeleri, kronik düşük dereceli enflamasyonun varlığını yansıtmaktadır (Vilahun ve ark., 2017; Luc ve ark., 2019).



Şekil 1.10. Oksidatif stres, enflamasyon ve apoptozisin ilişkileri

Bunlara ek olarak diyabetli hastalarda kognitif fonksiyon bozukluklarının da ortaya çıkabildiği bilinmektedir. Kognitif fonksiyon bozukluklarında algıda eksiklik ve öğrenmede zorluk görülür. Kognitif fonksiyon bozukluklarında oksidatif stresin rol oynadığı rapor edilmiştir (Nunomura ve ark., 2001). Beyin, oksidatif strese karşı oldukça hassastır (Nunomura ve ark., 2001). Bazal ön beyin ve amigdala, öğrenme ve hafıza oluşumunda rol oynarlar ve oksidatif strese karşı daha savunmasız alanlardır (Mattson ve ark., 1999). Oksidatif stresin mitokondriyal disfonksiyona ve nörodejeneratif bozukluklara neden olabileceği düşünülmektedir (Swerdlow, 2011). Oksidatif stresin birçok hastalığa neden olabileceği rapor edilmiştir. Oksidatif strese bağlı olarak gelişen diyabet hastalığında nöronal sinir sistem ilgili sağlık sorunları da oluşabilmektedir (Kassab ve ark., 2019). Merkezi sinir sistemi sağlık sorunlarının biri olan Kognitif bozukluklarda; bilgi işleme hızında azalma, dikkat ve uzun süreli bellekte bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli problemler görülebilmektedir. Hafızadaki bozukluklar, hafif bilişsel bozukluktan demansa kadar değişen boyutlarda olabilmektedir ve diyabetle birlikte gelişebilen bu kognitif sağlık "diyabetle ilişkili bilişsel gerileme" olarak adlandırılmaktadır (Kassab ve ark., 2019). Diyabete dayalı sağlık sorunlarının moleküler mekahnizmaları aydınlatılması yeni tedavi yaklaşımlarına olanak sağlayacaktır.



Şekil 1.11. Kognitif bozukluklar

Tez çalışmamızda, dünyada tek olan bir yaklaşımla, yüksek oranda doymuş yağlı ve karamelli diyet uygulanan ve streptozotosin (STZ) ile diyabetin (DM) indüklendiği farelerde hem doğal hem de sentetik bileşiklerin antioksidan, anti-inflamatuar, anti-apoptotik ve kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkilerini araştırdık. Bu kapsamda, antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklere sahip brokoli (*Brassica oleracea L. var. Italica*) ve roka (*Eruca sativa*) tohum ekstraktları, bu ekstraktların kombinasyonu ve yapısında hem pirolidin hem de imidazol halkası bulunduran imidazol halkalı pirolidin molekülünün (İHPM) tedavi edici etkileri inceledik.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) dünya genelinde milyonlarca kişide görülmesi ve hastalığın tedavi maliyetinin oldukça yüksek olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. DM zaman içerisinde hastada; görme bozukluğu, böbrek yetmezliği, alt ekstremitte amputasyonları, koroner kalp hastalığı, inme vb. sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (World Health Organization, 2016). DM, hiperglisemi ile karakterize olan, karbonhidrat metabolizmasındaki defektlere bağlı olarak protein ve yağ metabolizmalarının da bozulmasına neden olan metabolik bir hastalıktır (Demir ve ark., 2021).

Diyabetin patogenezinde önemli rol oynayan fizyolojik durumlardan biri oksidatif strestir. Oksidatif stres, temel olarak reaktif oksijen türevlerinin (ROS) üretimi ve parçalanması arasındaki dengenin bozulması sonucunda ortaya çıkan fizyolojik durumu tanımlamak için de kullanılmaktadır. Vücutta reaktif oksijen türevlerinin oluşumu; hücrenin protein, lipit ve nükleik asit yapısına zarar vererek hücre fonksiyonlarını bozabilmektedir ve hatta apoptozise kadar ilerleyebilmektedir (Rains ve Jain, 2011).

Oksidatif strese neden olan faktörlerin başında işlenmiş gıdalar, yüksek miktarda doymuş yağ içeren besinler, trans yağlar ve rafine karbonhidratlar gibi sağlıksız beslenme alışkanlıkları yer almaktadır. Bu tür besinler, vücuttaki inflamatuvar süreçleri tetikleyerek oksidatif stresi artırmakta ve aynı zamanda antioksidan bakımından zengin meyve ve sebze tüketiminin azalmasına neden olarak vücudun oksidatif strese karşı savunma mekanizmalarını zayıflatmaktadır (Arrigo ve ark., 2015).

Matsuzawa-Nagata ve arkadaşları (2008), yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde insülin direncini tetikleyen biyolojik süreçleri incelemişler. Çalışmalarında, bu farelerin karaciğer ve yağ dokularında ROS'un üretimi ve oksidatif stresin önemli ölçüde arttığını gözlemlemişler. İlginç bir şekilde, bu artış, insülin direncinin ortaya çıkmasından önce başlamakta ve bağımsız bir mekanizma yoluyla gerçekleşmektedir. Bu bulgu, oksidatif stresin insülin direncinin erken bir belirtici olabileceği ve antioksidan tedavilerin insülin direncinin önlenmesinde potansiyel bir rol oynayabileceği yönündeki görüşleri desteklemektedir.

Bandaria ve arkadaşları (2012), tip 2 diyabet ve hipertansiyonun birlikteliğinin oksidatif stresi artırdığı hipotezini test etmek amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, diyabetli ve hipertansiyonlu bireyler ile sağlıklı kişilerde, oksidatif stresi gösteren önemli bir biyobelirteç olan süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi başta olmak üzere çeşitli biyokimyasal ölçümler yapılmıştır. Çalışma sonuçları, diyabetli bireylerde SOD aktivitesinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu, diyabetin hücre hasarına yol açan oksidatif stresi artırdığına dair mevcut bilimsel kanıtları desteklemektedir. Ayrıca, araştırmacılar SOD aktivitesindeki artışın lipid peroksidasyon seviyeleriyle doğru orantılı olduğunu

gözlemlenmişlerdir. Bu durum, SOD enziminin zararlı serbest radikalleri daha az zararlı moleküllere dönüştürme çabalarına rağmen, oksidatif hasarın devam ettiğini göstermektedir.

Oksidatif stres, enflamatuvar yanıtın başlatılmasında ve sürdürülmesinde önemli bir rol oynar ve birçok hastalığın patofizyolojisinde merkezi bir konuma sahiptir (Román-Pintos ve ark., 2016). Enflamasyon ve diyabet arasındaki bağlantı yüzyıldan daha uzun bir süre önce ortaya atılmış olsa da enflamasyonun insülin direncinin gelişiminde önemli bir aracı olduğu bildirilmiştir (Osborn ve Olefsky, 2012). İnsülin direncinin oksidatif stres tarafından tetiklenen enflamatuvar mekanizmalarla şiddetlenen bir süreç olduğu bilinmektedir (Rains ve Jain, 2011; Henriksen ve ark., 2011). Kötü beslenme alışkanlıklarının enflamasyona yol açan faktörlerden biri olduğu ve enflamasyonun insülin direnci ile yakından ilişkili olduğu gittikçe daha açık hale gelmektedir (Esposito ve Giugliano, 2004).

Hotamisiligil ve arkadaşları tarafından 1993 yılında hayvan modellerinde enflamasyonu DM ile ilişkilendiren dönüm noktası niteliğinde bir çalışma yürütülmüş ve proenflamatuvar sitokinlerden biri olan tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-alfa)'nın obezite ve özellikle insülin direnci ile DM'de olan rolü ortaya konmuştur.

Swaroop ve arkadaşları (2012), TNF- α düzeylerinin insülin direnci, vücut kitle indeksi (VKİ) ile ilişkisini ve hastalığın seyri üzerindeki etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Tip 2 diyabetli hastalarda insülin direnci ve pankreas beta hücrelerinin işlevselliği hesaplanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, pankreas beta hücrelerinin işlevselliği ile TNF- α düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca, TNF- α , insülin direnci ve insülin seviyeleri ile de anlamlı bir korelasyon göstermiştir. Bu bulgular, TNF- α 'nın tip 2 diyabet gelişiminde önemli bir rol oynadığını ve hastalığın ilerlemesinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Solomon ve arkadaşları (2010), TNF- α 'nın insülin direnci üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla sıçan karaciğer hücreleri (H-411E) üzerinde bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Hücreler, TNF- α varlığında ve yokluğunda insüline maruz bırakılarak gen ifadesindeki değişiklikler incelenmiştir. Sonuç olarak, TNF- α 'nın karaciğer ve yağ dokusunda insülinin etkisini engellediği ve metabolik sendromun bir modeli olarak kullanıldığı belirlenmiştir. TNF- α , insülinin gen ifadesi üzerindeki etkileri kısmen tersine çevirerek hem karaciğer hücrelerinde hem de yağ dokusunda benzer etkiler göstermiştir. Ayrıca, TNF- α 'nın insülin sinyalizasyonunu bozarak ve hücre ölümünü (apoptoz) tetikleyerek moleküler düzeyde önemli değişikliklere neden olduğu ortaya çıkmıştır.

2.2. Yüksek yağlı diyet

Diyet yağının hem türünün hem de miktarının insülin duyarlılığını modüle ettiği, hayvan deneylerindeki bulgularla desteklenmektedir.

Storlien ve arkadaşlarının 1991 yılında yaptığı çalışma, doymuş yağ asitlerinin sıçanlarda insülin direncini ciddi bir şekilde artırdığını ve tip 2 diyabet gibi metabolik hastalıkların gelişimi için

önemli bir risk faktörü olduğunu vurgulamaktadır. Bu çalışma, farklı yağ asitleri içeren diyetlerin insülin duyarlılığı üzerindeki etkilerini karşılaştırarak, doymuş yağ asitlerinin bu konuda diğer yağ asitlerine göre daha zararlı olduğunu ortaya koymuştur.

Endüstriyel trans yağ asitleri (ETYA) alımı, glikoz homeostazında bozulmalara ve lipid profilinde değişikliklere yol açarak tip 2 diyabet mellitus ve obezite riskini artırmaktadır (Zhu ve ark., 2019).

Zhu ve arkadaşları (2019), margarin içeren yüksek yağlı bir diyetle beslenen sıçanlarda endoplazmik retikulum (ER) stresinin indüksiyonunun, ETYA kaynaklı lipid metabolizması bozuklukları ve insülin direnci ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Prasad ve arkadaşlarının (2022) çalışmalarına göre, yüksek yağlı diyetler, karaciğer, pankreas, yağ dokusu ve kas gibi organlarda epigenetik değişikliklere neden olarak diyabetin gelişimini ve patofizyolojisini etkilemektedir. Bu diyetler aynı zamanda obezite, insülin direnci ve hiperglisemi gibi metabolik bozuklukları da tetiklemektedir.

Zhang ve arkadaşları (2023) yaptıkları çalışmada, Schisandrin isimli bir bileşiğin, yüksek yağlı diyetle beslenen ve diyabet modeli oluşturulmuş farelerde böbrek hasarını (diyabetik nefropati) önlemedeki etkinliğini araştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmanın sonucunda, Schisandrin, kan şekerini düşürerek ve lipid profilini iyileştirerek metabolik kontrolü sağlamıştır. Ayrıca böbreklerde oluşan iltihabı azaltarak ve yara iyileşmesini engelleyen proteinlerin (TGF- β 1, α -SMA) seviyelerini düşürerek böbrek dokusunun korunmasına katkıda bulunmuştur.

Yüksek yağlı diyetin obezite, diyabet ve metabolik sendrom gibi metabolik hastalıklar üzerindeki olumsuz etkileri uzun süredir bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bu diyetin Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar riskini de artırdığını göstermektedir (Winocur ve ark., 2005; Eskelinen ve ark., 2008; Pasinetti ve Eberstein, 2008; Corder ve Tamashiro, 2015). Hızla yaşlanan nüfus ve obezitenin küresel yükünün artmasıyla birlikte, yüksek yağlı diyetin bilişsel işlevler üzerindeki etkilerini ve altta yatan mekanizmalarını daha iyi anlamak, etkili tedavi stratejileri geliştirmek için kritik bir hale gelmiştir (Furukawa ve ark., 2004).

Corder ve arkadaşları (2015) yaptıkları çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların, mekansal hafıza, çalışma belleği ve referans bellek gibi çeşitli hafıza türlerinde bozulmalar yaşadığı gözlemlenmiştir. Bu bulgu, yüksek yağlı beslenmenin öğrenme ve hafıza süreçlerini olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir. Hafıza oluşumu ve pekişmesinde kritik rol oynayan hipokampus bölgesindeki yapısal ve işlevsel değişikliklerin, bu bozulmalarda etkili olduğu düşünülmektedir. Araştırmanın sonucunda, yüksek yağlı beslenmenin neden olduğu bu olumsuz etkilerin, beyinde kronik inflamasyonun gelişmesiyle ilişkili olabileceğini öne sürmektedir. Yüksek yağlı diyetler, beyin dokusunda inflamatuvar belirteçlerin artışına neden olarak, sinir hücrelerinin normal işleyişini bozabilir ve bu da öğrenme ve hafıza süreçlerini olumsuz etkileyebilir.

2.3. Diyabet ile kognitif fonksiyon ilişkisi

Tip 2 diyabet, sadece kan şekeri seviyelerini değil, aynı zamanda beyin işlevlerini de etkileyerek bilgi işleme hızı, hafıza ve dikkat gibi önemli bilişsel becerilerde belirgin düşümlere neden olabilmektedir (Sola ve ark., 2024). Diyabetli hastaların yaklaşık %13 ile %24'ünde demans, dikkat eksikliği, zayıf sözel hafıza ve yürütücü işlevlerde bozulma gibi çeşitli bilişsel sorunlar yaşanmaktadır. Beyindeki insülin direnci, bu bilişsel bozuklukların ortaya çıkmasında önemli bir rol oynayan mekanizmalardan biri olarak öne sürülmektedir (Koekkoek ve ark., 2015; Demir ve ark., 2021).

Yüksek yağlı diyetler, sadece kilo alımına ve Diyabet gibi metabolik hastalıklara yol açmakla kalmayıp, aynı zamanda beyin sağlığını da olumsuz etkileyebilmektedir. Özellikle öğrenme ve hafıza gibi bilişsel süreçleri etkileyerek hipokampus bölgesinde hasara neden olabilmekte. Barnes Labirenti, Morris Su Labirenti ve Radial Kol Labirenti gibi testler, yüksek yağlı diyetlerin bilişsel performans üzerindeki etkilerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek yağlı diyetlerin beyin üzerindeki bu zararlı etkileri, insülin direnci, oksidatif stres, inflamasyon gibi mekanizmalar ile açıklanabilir (Cordner ve Tamashiro, 2015).

Cogo ve arkadaşları (2021) kognitif üzerinde yaptıkları çalışmada, diyabetik farelerde Barnes maze testi kullanarak uzun süreli uzamsal hafızanın bozulduğunu, sinaptik plastisite tamamen baskılandığını, ayrıca nöronal ölüm artırılmasını, beyaz madde seyrekleşmesi ve mikroglia/makrofaj yoğunluğu arttığını belirtmişlerdir.

Gonçalves ve arkadaşlarının çalışması (2022), T2DM hastalarında sıklıkla görülen erken bilişsel bozulmanın altında yatan mekanizmaları daha iyi anlamak için yapılmıştır. Bu amaçla diyabetik sıçan modeli üzerinde çalışmalar gerçekleştirmişlerdir.

Diyabetik sıçanlar, kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla uzamsal hafıza gerektiren Barnes maze testinde daha zayıf performans göstermişlerdir. Bu bulgu, T2DM'nin erken evrelerinde bile bilişsel işlevlerde bozulmaya yol açabileceğini desteklemektedir.

2.4. Tıbbi bitkiler ve *Brassicaceae* Familyası

Modern tıbbın gelişmesine rağmen, artan yaşam stresinin ve çevresel faktörlerin yol açtığı kronik hastalıkların yaygınlaşmasıyla birlikte, insanlar doğal ve yan etkileri daha az olduğu düşünülen geleneksel fitoterapi yöntemlerine olan ilgiyi artırmıştır. Bilimsel araştırmalar, birçok tıbbi bitkinin antioksidan, anti-inflamatuar gibi çeşitli farmakolojik özelliklere sahip olduğunu kanıtlayarak, fitoterapinin modern tıbbın tamamlayıcı bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmesine önemli katkılar sağlamıştır (Gilani, 2005; Gurib-Fakim, 2006; Ameh ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2011; Bone ve Mills, 2013).

Zhang ve arkadaşları (2011), geleneksel Çin tıbbında kullanılan 14 farklı bitkinin su ve etanol ekstraktlarının biyolojik aktivitelerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Özellikle, bu ekstraktların antioksidan, anti-enflamatuar ve sitotoksik potansiyelleri incelenmiştir, ayrıca bu

aktivitelerin bitkilerin fenolik ve flavonoid içeriğiyle ilişkisi araştırılmışlardır. Bu araştırma, incelenen Çin tıbbi bitkilerinin önemli bir kısmının antioksidan ve anti-enflamatuvar özelliklere sahip olduğunu ve bu özelliklerin büyük ölçüde bitkilerin fenolik ve flavonoid içeriğiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, bitkilerin gelecekteki farmakolojik araştırmalar için potansiyel adaylar olduğunu ve doğal ürünlerden elde edilen yeni terapötik ajanların geliştirilmesinde kullanılabileceğini bildirilmiştir.

Bitkisel kökenli fitokimyasal tedaviler, diyabet ve ilişkili komplikasyonlarının tedavisinde umut vaat eden bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır.

Othman ve arkadaşları (2021), Geleneksel tıpta antidiyabetik olarak kullanılan fesleğen (*Ocimum basilicum*), yaptıkları çalışmada deneysel diyabetin yol açtığı karaciğer ve böbrek hasarına karşı incelemişler. Sıçanlarda yüksek yağlı diyet ve streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde, fesleğen ekstraktı (HOE) ve bu ekstraktın ana bileşenlerinden olan flavonoidler (HOETF), diyabetin olumsuz etkilerini azaltmada metformin gibi standart bir ilaçla karşılaştırılmışlar. Çalışmanın sonuçlarına göre fesleğen ekstraktı ve flavonoidlerinin kan şekerini düşürdüğünü, insülin direncini azalttığını ve karaciğer ile böbreklerde oluşan hasarı onardığını göstermiştir. Bu etkiler, ekstraktların antioksidan, anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik özelliklerine bağlanmıştır. Ekstraktlar, diyabetin neden olduğu oksidatif stresi azaltarak, inflamasyonu engelleyerek ve hücre ölümünü önleyerek karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını korumuştur.

Bajkacz ve arkadaşları (2021), *Brassicaceae* ailesine ait bitkilerde bulunan polifenoller, özellikle flavonoidler, üzerine odaklanarak bu bileşiklerin izolasyonu ve tanımlanması için yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Analiz edilen yirmi beş bitkinin tamamında sağlık açısından faydalı çeşitli fitokimyasallar tespit edilmiştir. Özellikle brokoli filizleri, yüksek toplam fenolik bileşik içeriği ve güçlü DPPH radikal süpürme aktivitesi ile diğer bitkiler arasından sıyrılmıştır. Bu bulgular, brokoli filizlerinin güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir.

Fusari ve arkadaşları (2020), turp, brokoli ve roka gibi yaygın tüketilen *Brassicaceae* (turpgiller) familyasına ait bitkilerin antioksidan özelliklerini detaylı bir şekilde incelemeyi amaçlamışlardır. Özellikle, bu bitkilerde bulunan izotiyosiyanat ve fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri ve bu kapasiteye katkıları araştırılmıştır. Çalışmada, farklı *Brassicaceae* türlerindeki izotiyosiyanat ve fenolik bileşiklerin miktarları belirlenmiş ve bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri çeşitli yöntemlerle ölçülmüştür. Çalışmanın sonuçları, incelenen tüm *Brassicaceae* türlerinin belirgin antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Bitkilerde bulunan farklı izotiyosiyanat ve fenolik bileşiklerin, antioksidan aktiviteye farklı katkılarda bulunduğu görülmüştür. Ayrıca, roka yaprağında trans-resveratrol adlı bir fenolik bileşiğin yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Kuerban ve arkadaşları (2017) yaptıkları çalışmada, turpgiller (*Brassicaceae*) familyasındaki bitkilerde bulunan fitokimyasalların (glukozinolatlar, karotenoidler, klorofil ve askorbik asit gibi) lipid metabolizması üzerindeki etkilerini ve dolayısıyla obeziteyle mücadelede potansiyel rollerini incelemeyi amaçlamışlardır. Turpgiller, içerdikleri bu bileşikler sayesinde kandaki toplam kolesterol

seviyelerini düşürmeye yardımcı olurlar. Ayrıca, bu familyadaki bitkilerin tüketimi ile obezite arasında ters bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle, bu bitkilerde bulunan indol-3-karbinol (I3C) ve sülforafan gibi bileşiklerin, obezite ile mücadelede önemli rol oynadığı öne sürmüştür.

2.5. Brokoli

Brokoli (*Brassica oleracea L. var. italica*), yüksek fenolik bileşiklere sahip bir bitkidir (Chu ve ark., 2002). Brokoli, vitamin, mineral, lif, glukozinolat ve fenolik bileşikler gibi birçok değerli besin maddesi içeren, besin değeri yüksek bir sebzedir. Bu besinlerin içeriği, brokolinin hangi kısmının kullanıldığına bağlı olarak değişebilir. Brokoli ve türevleri, antioksidan, anti-inflamatuar, anti-kanser, anti-mikrobiyal, metabolik düzenleyici, sinir koruyucu ve böbrek koruyucu etkiler gibi birçok faydalı özelliğe sahiptir (Li ve ark., 2022).

Bidchol ve arkadaşları (2011), brokolinin (*Brassica oleracea L. var. italica*) sulu ve etanollü ekstraktlarının antioksidan özelliklerini incelemiştir. Brokolinin her iki ekstresinin antioksidan kapasitesi, çeşitli testlerle değerlendirilmiştir. Bu testler arasında DPPH radikalini süpürme, süperoksit radikali süpürme, lipid peroksidasyonunu engelleme ve metal iyonlarını bağlama gibi farklı mekanizmalar yer almaktadır. Çalışmada, etanollü ekstre sulu ekstreya göre daha güçlü bir antioksidan olduğu görülmüştür. Özellikle süperoksit radikali süpürme ve metal iyonlarını bağlama konularında etanollü ekstre daha etkili bulunmuştur. Bu sonuçlar, brokolinin antioksidan açısından zengin bir besin kaynağı olduğunu ve oksidatif strese karşı koruyucu etkileri olabileceğini göstermektedir.

Gupta ve arkadaşları (2022), *Brassica oleracea L. var. italica* çiçeğinden elde edilen farklı polaritedeki (petrol eteri, etanol, sulu) ekstraktların T2DM ve ilişkili sorunlar üzerindeki etkilerini incelemiştir. Hayvan modelinde gerçekleştirilen çalışmada, ekstraktların biyokimyasal, davranışsal ve histolojik parametreler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, farklı doz ve türdeki ekstraktların oral yoldan verilmesiyle serum glukoz düzeyinde belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. İnsülin seviyeleri sulu ekstraktlarla, lipid profilleri ise sulu ve etanol ekstraktlarla olumlu yönde etkilenmiştir. Ekstraktlar, oksidatif stres belirteci olan lipid peroksidasyonu inhibe ederek antioksidan özellik göstermişlerdir. Ayrıca, inflamasyonun önemli belirteçleri olan tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) seviyelerinde anlamlı düşüşler elde edilmiştir. Bu bulgular, *B. oleracea* çiçeğinden elde edilen ekstraktların hipoglisemik, antioksidan ve anti-inflamatuar etkileri, tip 2 diyabet mellitusun yönetiminde potansiyel bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir.

Le ve arkadaşları (2020), brokolinin farklı kısımlarından (çiçek, yaprak, tohum) elde edilen ekstraktların biyolojik aktivitelerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. Tüm ekstraktlar, zengin fenolik bileşik içeriği sayesinde güçlü antioksidan aktivite göstermişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre brokolinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktların, özellikle yaprak ve tohum ekstraktlarının, güçlü antioksidan, antikanser ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğunu

göstermektedir. Bu biyolojik aktiviteler, ekstraktlardaki yüksek miktardaki fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif moleküllerle ilişkilidir.

Li ve arkadaşları (2022) tarafından yapılan kapsamlı bir derleme, brokolinin farklı kısımlarındaki besin maddeleri ve biyoaktif bileşiklerin içeriğini detaylı bir şekilde incelemişler. Çalışmada, brokolinin vitaminler, mineraller, lif, glukozinolatlar ve fenolik bileşikler gibi çeşitli besin maddeleri açısından zengin olduğu belirtilmiştir. Bu bileşiklerin miktarı, brokolinin hangi kısmının kullanıldığına göre değişmekle birlikte, genel olarak brokoli, güçlü antioksidan, anti-inflamatuar, anti-kanser ve anti-mikrobiyal özelliklere sahiptir. Bu sayede brokoli, birçok kronik hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde önemli bir rol oynayabilir.

Bitkisel kaynaklı besinlerin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri, günümüzde giderek artan bir ilgi görmektedir. Bu bağlamda, brokoli ve diğer turpgiller gibi sebzelerin içerdiği biyoaktif bileşikler, çeşitli kronik hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu bileşikler arasında en çok dikkat çekenlerden biri ise sülforafandır (Koçyiğit ve Köksal, 2019).

Mirmiran ve arkadaşları (2012) yaptıkları çalışmada, brokoli filizi tozunun (BSP) tip 2 diyabet hastalarındaki enflamasyonu azaltmada potansiyel bir rolü olduğunu göstermektedir. Yüksek miktarda sülforafan içeren BSP, 4 hafta boyunca farklı dozlarda tip 2 diyabetli hastalara verilmiştir. Çalışmanın sonunda, BSP alan gruplarda, özellikle yüksek dozda BSP alan grupta, yüksek duyarlı C-reaktif protein (hs-CRP), İnterlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) seviyelerinde düşüş gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma, Yüksek miktarda sülforafan içeren BSP'nin tip 2 diyabet hastalarında enflamatuar belirteçleri azaltmada umut verici bir doğal ürün olduğunu göstermektedir.

2.6. Roka

Brassicaceae familyasından olan roka (*Eruca sativa*) bitkisi, zengin fitokimyasal içeriği sayesinde geleneksel tıpta ve beslenmede uzun yıllardır kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar, roka bitkisinde flavonoidler, alkaloidler, kardiyak glikozitler, fenolikler, saponinler, tanenler, askorbik asit ve uçucu yağlar gibi çeşitli biyoaktif bileşiklerin bulunduğunu göstermiştir. Özellikle uçucu yağında yüksek miktarda kükürt ve azot içeren bileşikler ile erusik asit bulunmaktadır. Bu bileşikler, roka bitkisine antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal, antitümör, analjezik, antioksidan, antidiyabetik, anti-inflamatuar gibi birçok biyolojik aktivite kazandırmaktadır (Marwat ve ark., 2016). Rokanın, göz enfeksiyonlarına karşı koruyucu ve sindirim sistemini destekleyici etkileri olduğu da bildirilmektedir. Ancak, roka bitkisindeki bu potansiyel faydaların moleküler mekanizmaları ve klinik uygulamaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, roka bitkisinin farmasötik potansiyelini daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle, roka bitkisinden elde edilen bileşiklerin insan sağlığına olan etkileri ve güvenli kullanım dozu üzerine daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir (Marwat ve ark., 2016).

El-Missiry ve arkadaşları (2000), Roka tohumu yağı (ESS) olarak bilinen bitkisel bir yağın, deneysel olarak diyabet oluşturulmuş hayvanlarda ortaya çıkan oksidatif stres ve metabolik bozukluklara karşı koruyucu etkisini incelemişlerdir. Roka tohumu yağı, diyabetli hayvanlara verildiğinde kan şekerini düşürmüş, lipid profilini iyileştirmiş ve karaciğerdeki oksidatif stresi azaltmıştır. Bu etki, yağın antioksidan özelliği ve karaciğerdeki glutatyon seviyesini artırmasıyla ilişkilendirilmiştir. Çalışmanın sonuçları, roka tohumu yağının deneysel diyabetin neden olduğu metabolik bozukluklar ve oksidatif strese karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Kishore ve arkadaşları (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, *Eruca sativa* (roka) tohumlarının diyabetik nefropati üzerindeki potansiyel terapötik etkileri sıçan modelinde incelenmiştir. Araştırmacılar, roka tohumlarından petrol eter ve hidroalkol ekstraktları elde ederek bu ekstraktların bileşimlerini ve biyolojik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Petrol eter ekstraktının başlıca bileşenlerinin yağ asitleri ve erusik asit olduğu belirlenmiştir. Hidroalkol ekstraktından da quercetin ve kaempferol gibi flavonoid bileşikler izole edilmiştir. Sıçanlarda diyabet, streptozotisin (STZ) ile indüklenmiş ve her iki ekstraktın farklı dozlarında diyabetli sıçanlara uygulanması sonucu elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, hem petrol eter hem de hidroalkol ekstraktlarının yüksek serum glikoz seviyelerini düşürdüğü, böbrek hasarıyla ilişkili biyokimyasal parametreleri (kreatinin, üre vb.) iyileştirdiği, lipid profilini düzenlediği, antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ve böbrek dokusunda ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) oluşumunu inhibe ettiği belirlenmiştir.

Gulfraz ve arkadaşları (2011), *Eruca sativa* (roka) tohumunun farklı çözücülerle elde edilen ekstraktları ile tohum yağının, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucuna göre, roka tohumu yağının potansiyel bir antibakteriyel ajan olarak kullanılabilmesini düşündürmektedir. Yapılan kimyasal analizler, roka tohumunun protein, yağ ve lif gibi temel besin öğelerinin yanı sıra çeşitli fitokimyasal bileşenler açısından zengin olduğunu göstermiştir. Özellikle tohum yağında yüksek miktarda erusik asit, oleik asit ve cis-11-eikosenoik asit tespit edilmiştir. Bu yağ asitlerinin antibakteriyel aktiviteye katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Abdel-Rahman ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada, roka tohumu ekstraktının sıçanlarda kimyasal olarak tetiklenen meme kanserine karşı koruyucu etkileri incelenmiştir. Roka tohumu ekstraktı ile tedavi edilen sıçanlarda kanserle ilişkili genler (NF- κ B, COX-2, Bcl-2) ve lipid peroksidasyon seviyeleri önemli ölçüde azalmıştır ve antioksidan savunma sistemi (GST, SOD, TAC) güçlendirilmiştir. Ekstrakt, kanser hücrelerinin çoğalmasını engellemiş, hücre ölümünü tetiklemiş ve hücreleri antioksidan savunma sistemini güçlendirerek korumuştur. Roka tohumu ekstraktının zengin bir antioksidan kaynağı olduğu tespit edilmiştir. Bu antioksidanların kanser önleyici etkileri olduğu düşünülmektedir.

Elsadek ve arkadaşları (2021) yaptıkları çalışmada, *Eruca sativa*'nın (ES) antitümör ve antioksidan potansiyelini, farelerde Ehrlich asit karsinomu (EAC) modelinde değerlendirmişlerdir.

ES tohum ve yaprak özütlerinin oral yolla verilmesiyle tümör büyümesi anlamlı derecede inhibe edilmiş, tümör taşıyıcı farelerin hayatta kalma süresi ve vücut ağırlığı artmıştır. Hematolojik parametreler normale dönmüş ve antioksidan enzim aktiviteleri, EAC kontrol grubuna kıyasla ES ile tedavi edilen grupta artmıştır. Bu bulgular, rokanın antitümör ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermektedir.

Gugliandolo ve arkadaşları (2018), *Eruca sativa* tohumu ekstraktının lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen nöroinflamasyonda koruyucu etkilerini *in vitro* modelde değerlendirmişlerdir. Ekstraktın, apoptozu inhibe edip TLR4/NLRP3 inflamazom aktivasyonunu engelleyerek ve IL-10 üretimini artırarak nöroprotektif ve anti-inflamatuar etkiler gösterdiği bulunmuştur. Bu bulgular, ESE'nin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde potansiyel bir aday olduğunu düşündürmektedir.

2.7. Kombinasyon Çalışmaları

Helmy ve arkadaşları (2020) çalışmasında, gümüş nanopartiküller (GNP) biyosentezi için maydanoz, mısır püskülü ve Arap zamkı bitkilerinin sulu ekstraktlarının yanı sıra bu ekstraktların bir kombinasyonunun kullanıldığını belirtmişlerdir. Bu nanopartiküllerin antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktiviteleri hem bitki ekstraktlarının hem de GNP'lerin tek başına ve kombinasyon halinde olduğu durumlarda incelenmiştir. Sıçanlarda alloksan ile indüklenen diyabet ve karagenan ile indüklenen pençe ödemi modelleri kullanılarak antioksidan ve antiinflamatuvar etkiler değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçları, üç bitki ekstraktının bir araya getirilmesiyle elde edilen GNP'lerin, diğerlerine göre daha yüksek antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur.

Nirmal ve arkadaşları (2013) yaptıkları bir çalışmada, *Amaranthus roxburghianus* bitkisinin kökünün, özellikle piperin ile kombinasyon halinde, ülseratif kolit (ÜK) adı verilen bir bağırsak hastalığının tedavisindeki potansiyelini incelemiştir. Fareler üzerinde gerçekleştirilen deneylerde, bu bitki özütü ve piperin kombinasyonunun, ÜK'e bağlı olarak gelişen inflamasyon, oksidatif stres ve doku hasarını anlamlı ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Sonuçlara göre, bitki ekstresi ve piperin kombinasyonu, ÜK'e bağlı olarak artan iltihabı anlamlı şekilde azaltmıştır. Kombinasyon, oksidatif stresi azaltarak doku hasarını önlemiştir. Bitki ekstresinde bulunan 4H-pyran-4-one ve eugenol gibi bileşenlerin, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip olduğu ve bu sayede tedaviye katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu çalışma, *Amaranthus roxburghianus* kökünün ve piperinin birlikte kullanıldığında ÜK tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir. Bitki ekstresindeki doğal bileşenlerin, iltihap ve oksidatif stresi azaltarak hastalığın belirtilerini hafiflettiği düşünülmektedir.

2.8. Sentetik Kimyasallar

İmidazol ve pirolidin halkaları bulduran bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyon etkilerinden dolayı tez çalışmamızda kognitif fonksiyon üzerinde etkileri araştırmak için yeni sentezlenmiş imidazol halkası bulduran pirolidin türevi molekülü (İHPM) kullandık.

Zulfiqar ve arkadaşları (2021) yaptıkları bir çalışmada, 4-(Pirolidin-2,5-dion-1-il) fenol (PDP) adlı yeni bir bileşiğin moleküler yapısı ve özellikleri, yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) kullanılarak detaylı bir şekilde incelenmiştir. Biyolojik aktivite çalışmalarında, PDP'nin güçlü antiinflamatuvar ve antikanser özelliklere sahip olduğu bulunmuştur.

Saurav ve arkadaşları (2012) yaptıkları çalışmada, pirolidin türevi olan bir bileşiğin antioksidan ve antikanser etkilerini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda, pirolidin türevi bileşiğin potansiyel bir antikanser ve antioksidan ajan olabileceği gösterilmiştir.

Kuzu ve arkadaşları (2019) yaptıkları çalışmada, sentezlenen monosüstitüe ve disüstitüe imidazol türevlerinin AChE ve BChE inhibisyon aktivitelerini test etmişlerdir. Bu yeni bileşikler, Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçlar olan donepezil ve takrin ile karşılaştırıldığında, AChE ve BChE enzimlerini daha etkili bir şekilde inhibe ettiğini bulmuşlardır. Bu bulgu, bu bileşiklerin Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde potansiyel adaylar olabileceğini düşündürmektedir.

Ramrao ve arkadaşları (2021), Alzheimer hastalığının tedavisi için yeni bifenyil imidazol türevlerinin tasarımı, sentezi ve biyolojik aktivite değerlendirmesi üzerinde çalışmışlardır. Sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri *in vitro*, *in vivo* ve *in silico* olarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin AChE, BChE ve BACE-1 enzimlerini başarılı bir şekilde engelleyebildiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca, fareler üzerinde yapılan deneylerde bu bileşiklerin hafıza ve öğrenme gibi bilişsel becerileri geliştirdiği tespit edilmiştir.

2.8.1. İmidazol halkası bulunduran pirolidin türevi molekülü

Poyraz ve arkadaşları (2023) yaptıkları çalışmada, imidazol halkası taşıyan bir dizi yeni N-benzoiltioüre-pirolidin karboksilik asit türevi sentezlemişler ve biyolojik aktiviteleri incelemiştir. Sentezledikleri moleküller arasında bulunan imidazol halkası taşıyan pirolidin türevi molekülün AChE enzimi üzerinde güçlü bir inhibitör etkisi olduğunu bulmuşlardır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasında, soğutucu sistemler (+4 °C, -20 °C, -80 °C), hassas terazi (AXIS, 10-220 mg), ısıtmalı manyetik karıştırıcı (HEIDOLPH), rotary evaporatör (HEIDOLPH), vakum pompası (N816 LABOPORT), Soxhlet cihazı, ELISA yıkayıcı (Rayto, RT-3100 Microplate Washer) ve ELISA okuyucu (Rayto, RT-2100C Microplate Reader) cihazları kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Malzemeler

50 mL falkon tüp (Kırgen), 1.5 mL Eppendorf tüp (Microcult), 0.1-10 µL pipet ucu, 10-100 µL pipet ucu, 100-1000 µL pipet ucu, 10-20 mL şırınga, RIPA tamponu (Elabscience), proteaz inhibitör kokteyli (Abbkine), fenilmetansulfonil florid (PMSF), sodyum ortovanadat, fare TNF-α ELISA kiti, fare SOD2 ELISA kiti, fare AChE ELISA kiti, fare BCL-2 ELISA kiti, fare BAX ELISA kiti.

3.2. Metot

3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması

Roka Tohumunun Ekstresinin Hazırlanması

Roka tohumları öğütülerek toz haline getirildi. Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile etanol (%40) çözücü ile 60-80 °C arasında ısıtılarak ekstrakte edildi. Ekstraksiyon prosedürüne 24 saat devam edildi. Ekstraktlar filtreden geçirildikten sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip süpernatantlar alındı. Daha sonra, süpernatantlar bir döner buharlaştırıcıda kurutuldu. Ekstrakt kullanılmaya kadar -20 °C'de saklandı (Alam ve ark., 2007; Kishore ve ark., 2017).



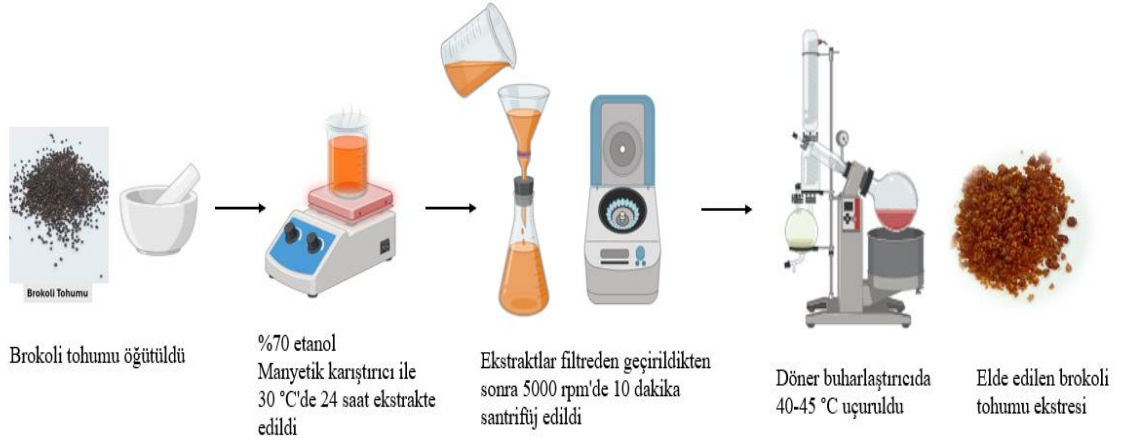
Şekil 3.1. Roka tohumunun ekstresinin hazırlanma aşamaları



Şekil 3.2. Roka tohumu

Brokoli tohumu ekstresinin hazırlanması

Brokoli tohumları öğütülerek toz haline getirildi. Ekstraksiyon için ilk olarak, 10 g toz haline getirilmiş brokoli tohumu içerisinde %70 etanol bulunan 100 mL bir şişeye aktarıldı. Manyetik karıştırıcı ile 30 °C'de 24 saat boyunca ekstraksiyon gerçekleştirildi. Ekstraktlar filtreden geçirildikten sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip süpernatantlar alındı. Daha sonra, süpernatantlar bir döner buharlaştırıcıda kurutuldu. Ekstrakt kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı (Le ve ark., 2020).



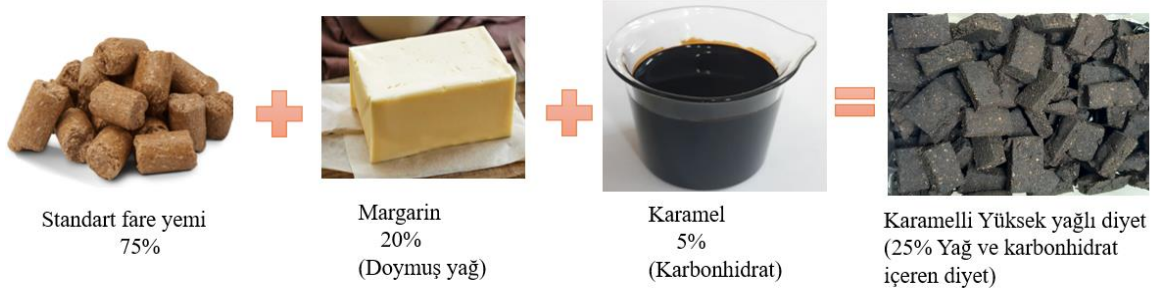
Şekil 3.3. Brokoli tohumunun ekstresinin hazırlanma aşamaları



Şekil 3.4. Brokoli tohumu

3.2.2. Karamelli Yüksek Yağlı Diyet (KYYD) Hazırlanması

SABİDAM'dan temin edilen farelerin günlük olarak tükettiği standart pelet yemi öğütüldükten sonra, ağırlıkça %20 margarin yağı ve %5 karamel ekleyerek yüksek yağlı diyet haline getirildi. Farelerin bir haftada ortalama tüketebileceği yemler hesaplanarak, yüksek yağlı diyetler taze olarak haftalık hazırlandı (Zhu ve ark., 2019; Othman ve ark., 2021).



Şekil 3.5. Karamelli yüksek yağlı diyet hazırlaması

3.2.3. *In vivo* Çalışmaları

Deneylerde, 10-12 haftalık ve yaklaşık 30-35 gram ağırlığındaki erkek *Swiss albino* cinsi sağlıklı fareler kullanıldı. Bu fareler, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (SABİDAM)'den temin edildi. Farelerin tümü, deney süresince $22 \pm 3^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsüne sahip, su ve yeme (ad libitum) erişim sağlayabilecekleri kontrollü laboratuvar koşullarındaki hayvan kafeslerinde barındırıldı.

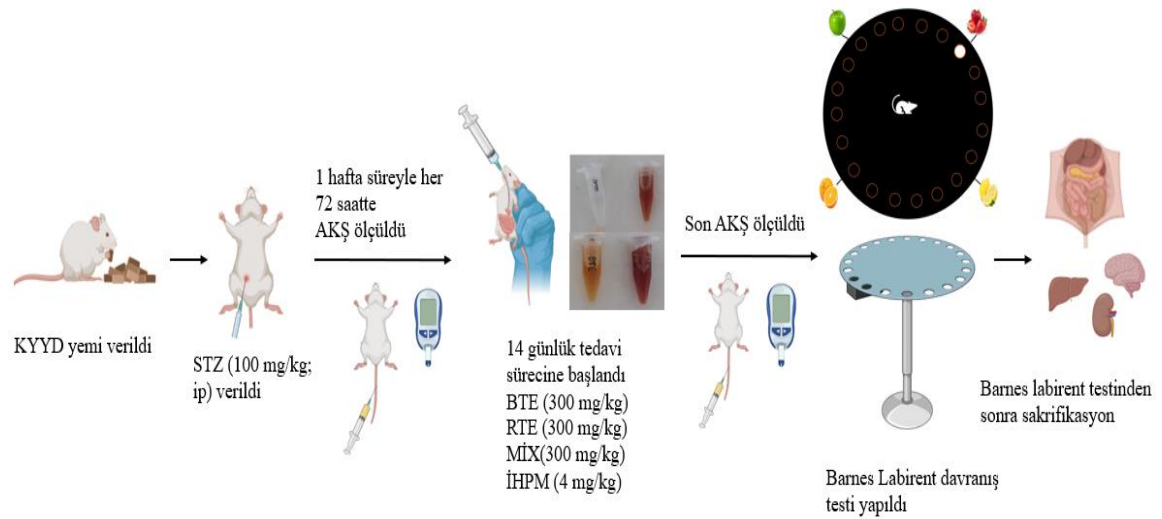
Bu tez çalışmasında farelere uygulanan yöntem ve teknikler, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) belirlediği yönergelere uygun şekilde gerçekleştirildi ve Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 25.08.2023 tarihinde onaylanmıştır.

Fareler 9 gruba ayrılmıştır;

1. **Grup (Sağlıklı):** Genel kontrol grubu (DM oluşturulmadan distile su gavaj yoluyla verilen grup) (*n=6)
2. **Grup (DM):** KYYYD+DM+ Distile su verilen grup (gavaj yoluyla) (Solvent 1 kontrol grubu) (n=8)
3. **Grup (DMSO):** KYYYD +DM+ %4 DMSO kimyasalın çözücüsü verilen grup (gavaj yoluyla) (Solvent 2 kontrol grubu) (n=8)
4. **Grup (MET):** KYYYD +DM+Metformin (100 mg/kg; gavaj yoluyla) (Pozitif kontrol grubu) (n=8)
5. **Grup (BTE):** KYYYD +DM+Brokoli tohumu ekstresi (300 mg/kg; gavaj yoluyla) (DM+BTE grubu) (n=8)
6. **Grup (RTE):** KYYYD +DM+Roka tohumu ekstresi (300 mg/kg; gavaj yoluyla) (DM+RTE grubu) (n=8)
7. **Grup (MİX):** KYYYD +DM+ Brokoli tohumu ekstresi (150 mg/kg) ve Roka tohumu ekstresinin (150 mg/kg) kombinasyonu (300 mg/kg; gavaj yoluyla) (DM+Mix grubu) (n=8)
8. **Grup (İHPM):** KYYYD +DM+ İHPM (4 mg/kg; gavaj yoluyla) (DM+ İHPM grubu) (n=8)
9. **Grup (KYYD):** DM oluşturmadan sadece KYYYD alan grup (n=6)

Not: Deney süresi 42 gün

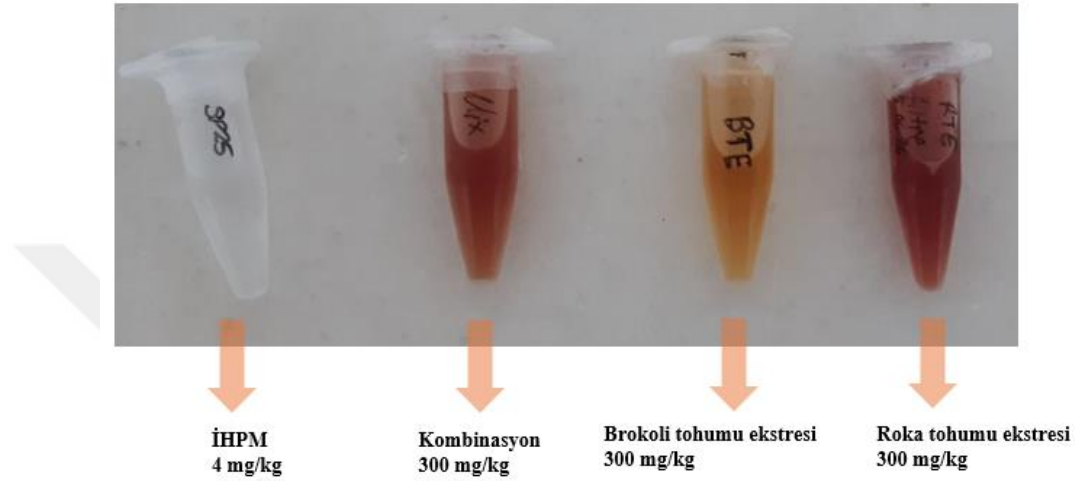
*n: Her gruptaki fare sayısı



Şekil 3.6. Yapılan *in vivo* deneylerin aşamaları

1.gruba (genel kontrol grubu) deney boyunca normal yem verilirken, diğer gruplara karamelli yüksek yağlı diyet yemleri verildi. 9. grup ise hastalık oluşturulmadan 42 gün boyunca sadece KYYYD yemleri ile beslenmiştir. 2-8. gruplara 28 gün boyunca KYYYD verildi (Diyabet modeli oluştuktan sonra bazı farelerde hiperglisemi durumundan felç oldukları için diyabetli farelerde KYYYD durduruldu o yüzden sadece 28 gün KYYYD aldılar),

Deneyin 21. gününde STZ (100 mg/kg; ip) verildi (STZ verildikten sonra bir hafta süreyle her 72 saatte farelerin açlık kan şekerlerine (AKŞ) bakıldı), 28. gününde AKŞ bakıldı ve diyabet olmayan fareler deneyden çıkarıldı ve 29. gününde 14 günlük tedavi sürecine başlandı (gruplarda belirtildiği gibi tedaviler verildi). Tedavi sürecinin 10. gününde de davranış testine başlandı ve son günde hem tedavi uygulaması hem de davranış testi yapıldıktan sonra sakrifikasyon işlemi gerçekleştirilip, karaciğer, böbrek ve beyin dokuları izole edildi.



Şekil 3.7. *In vivo* deneylerinde kullanılan tedavi karışımları

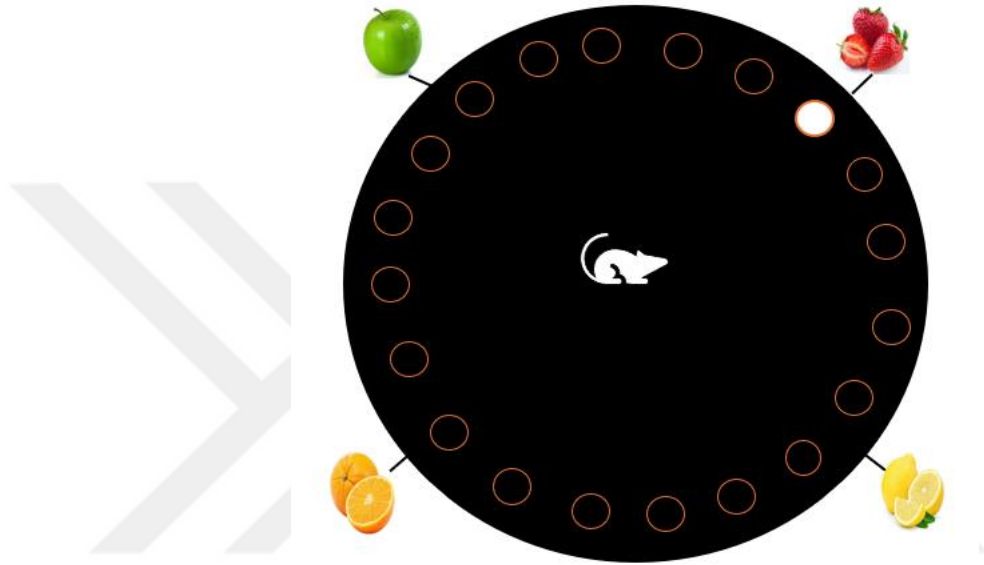
3.2.4. Barnes Maze Davranış Testi

Çalışmamızda kullandığımız bitkisel ekstre ve kimyasal bileşiğin diyabetik farelerde kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkilerini araştırmak için *in vivo* davranış testi olan Barnes testi kullanıldı. Bu yöntemde dairesel bir labirent kullanılmakta olup, labirentte kemirgenlerin kaçabileceği bir deliğin konumunun öğrenilmesini içeren bir testtir. Burada, deneğin labirentle ilişkili olarak sabitlenmiş olan (labirent dışı ipuçları) veya labirentin içinde kaçış deliğiyle ilişkili olarak sabitlenmiş olan (proksimal ipuçları) uzamsal referans noktalarını kullanarak kaçış kutusunu bulmayı öğrenmesine ve hafıza fonksiyonunun ölçümüne dayanır. Barnes dairesel labirenti, çevresinde eşit aralıklarla yerleştirilmiş 5 cm çapında 20 delik bulunan siyah dairesel bir platformdan (100 cm çapında) oluşmaktadır. Bu deliklerden birinin altına bir kaçış kutusu (20×10×10 cm) yerleştirildi.

Deney, alıştırma, eğitim ve gerçek deney aşamalarından oluşmuştu.

- **Alıştırma (1 gün):** Hayvanlar, deney cihazına alıştırıldı.
- **Eğitim (3 gün):** Her gün iki deneme, 15 dakikalık aralarla olmak üzere toplam 3 gün eğitim verildi. Eğitimde, hayvanlar labirentin merkezinden başlayarak kaçış deliğini bulmaları için teşvik edildi. Belirlenen süre içerisinde (2-3 dakika) hedefe ulaşamayan hayvanlar, deneyci tarafından nazikçe kaçış kutusuna yönlendirildi. Tüm hayvanlar, kaçış kutusunda 60 saniye kaldıktan sonra kafeslerine geri bırakıldı.

- **Test (1 gün):** Son gün, hayvanlar kaçış kutusundaki ipuçları olmadan platformda serbest bırakıldı ve 120 saniye boyunca kaçış kutusunu bulmaları için izin verildi.
- **Veri Analizi:** Hayvanların kaçış deliğini bulma süresi (kaçış gecikmesi), çalışma belleği hataları (yanlış deliklere yönelme) ve platformun farklı bölgelerinde geçirdikleri süreler ANY-maze yazılımı ile analiz edildi. Elde edilen veriler, deneyci gözlemleriyle de karşılaştırılarak doğrulandı. Denemeler arasında, koku izlerini gidermek için cihaz %10'luk etanol çözeltisi ile temizlendi (Cogo ve ark., 2021; Goncalves ve ark., 2022; Nagayach ve ark., 2022).



Şekil 3.8. Kullanılan Barnes Maze Platformunun Tasarımı

3.2.5. *İn vitro* Çalışmalar:

İn vivo çalışmalardan sonra alınan dokular (böbrek, karaciğer ve beyin) homojenize edildi. Homojenize edilecek dokular öncelikle tartıldı ve bulunan ağırlıklar en az 3 ile çarpılarak üzerlerine eklenmesi gereken RIPA içerik miktarı hesaplandı. 1 mL RIPA içeriğinin hazırlanması için; 970 μ L RIPA tampon çözeltisi, 10 μ L sodyum ortovanadat, 10 μ L PMSF ve 10 μ L proteaz inhibitör kokteyli alınarak homojen bir şekilde karıştırıldı. Her bir doku için gereken RIPA içerik miktarı, eppendorflardaki dokuların üzerine aktarıldı. Dokular makas yardımıyla biraz parçalara ayrıldıktan sonra ultrasonik homojenizatör ile homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi, buzlu ortamda yapılmıştır. Homojenizasyon işlemi tamamlandıktan sonra eppendorflar santrifüj (3000 rpm, 10 dk) edildi. Daha sonra eppendorflardaki süpernatant kısmı yeni eppendorflara aktarıldı ve -20 °C'de kullanılmaya kadar muhafaza edildi.

3.2.6. ELISA Analizleri

ELISA Yöntemi ile Enflamatuvar Biyobelirteçlerin Ölçümü

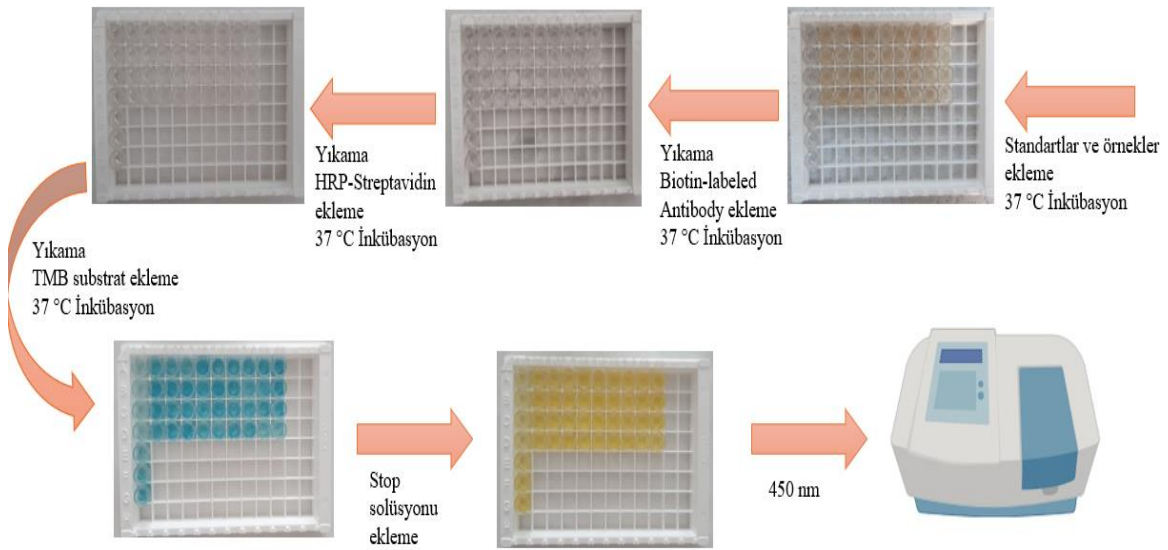
Karaciğer ve böbrek örneklerinde TNF- α gibi proinflamatuvar sitokin seviyesinin ölçümü için ELISA kitleri kullanıldı (ELISA deneyleri kit protokolüne uygun bir şekilde yapıldı).

Antioksidan Enzimatik Aktivite ve AChE Aktivite Tayini

Karaciğer ve böbrek dokularında enzimatik antioksidan sistem parametreleri (Süperoksit dismutaz- SOD2) ve beyin dokularında AChE düzeyi üzerine etkileri ELISA kiti ile araştırıldı (ELISA deneyleri kit protokolüne uygun bir şekilde yapıldı).

Apoptotik Biyobelirteçlerin Ölçümü

Diyabetik farelerin karaciğerdeki apoptotik değişiklikleri değerlendirmek için dokudaki BCL-2 (anti-apoptotik) ve BAX (pro-apoptotik) seviyeleri, ELISA kitleri ile belirlendi (ELISA deneyleri kit protokolüne uygun bir şekilde yapıldı).



Şekil 3.9. Kullanılan ELISA kitlerin protokol aşamaları

3.2.7. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler Tek Yönlü ANOVA kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. GraphPad Prism 8.4.3 istatistiksel yazılımı kullanılarak çoklu karşılaştırma testi gerçekleştirildi. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Farelerde *in vivo* Deneysel Çalışmaların Bulguları

Farelere hem karamelli yağlı diyet hem de STZ vererek diyabet modeli oluşturuldu. Tedavi gruplarında BTE (300 mg/kg), RTE (300 mg/kg), MİX ekstre (300 mg/kg) ve İHPM (4 mg/kg) kimyasalı verildikten sonra kognitif fonksiyonlar Barnes Maze testi kullanılarak test edildi.

Farelerin Kaçış Kutusuna Girme Oranları

DM ve KYYD gruplarıyla kıyaslandığında, BTE (300 mg/kg), RTE (300 mg/kg), MİX ekstre (300 mg/kg) ve İHPM (4 mg/kg) gruplarındaki farelerin kaçış kutusuna girme oranlarının çok daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Tablo 4.1. Farelerin kaçış kutusuna girme oranları

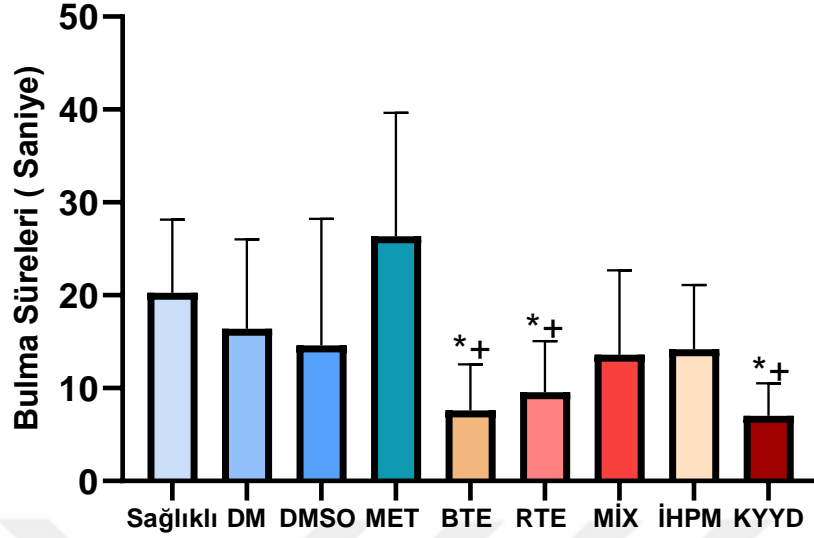
	Sağlıklı Grubu (n=6)	DM Grubu (n=7)	DMSO Grubu (n=6)	MET Grubu (n=6)	BTE Grubu (n=7)	RTE Grubu (n=7)	MİX Grubu (n=7)	İHPM Grubu (n=7)	DIYET Grubu (n=6)
Kaçış kutusuna girme oranı	33%	14%	33%	50%	71%	71%	71%	57%	0%

Farelerin Kaçış Kutusunu Bulma Süreleri

Kontrol grubuyla kıyaslandığında, BTE (300 mg/kg), RTE (300 mg/kg) ve KYYD alan gruplarda kaçış kutusunu bulma sürelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi.

MET grubuyla kıyaslandığında; BTE (300 mg/kg), RTE (300 mg/kg) ve KYYD alan gruplarında kaçış kutusunu bulma sürelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi.

KAÇIŞ KUTUSU BULMA SÜRESİ



Şekil 4.1. Kaçış kutusunu bulma süreleri

Karamelli yüksek yağlı diyet almış diyabetik farelere BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) tedavileri uygulandıktan sonra, Barnes Maze testinde farelerin kaçış kutusunu bulma süreleri,

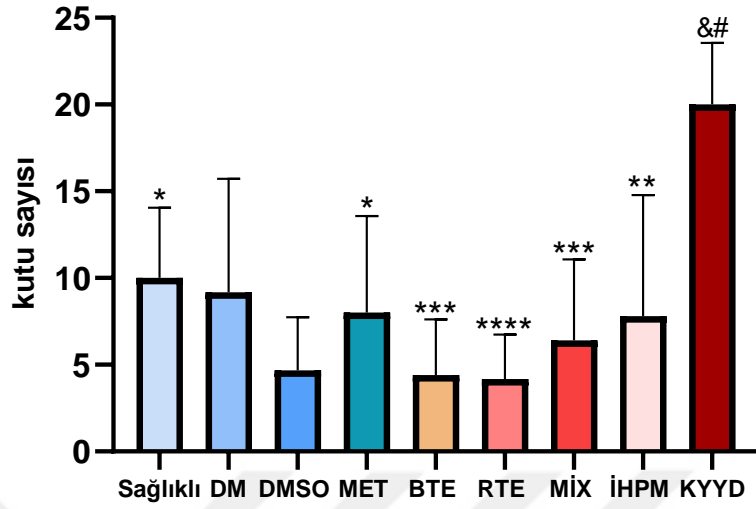
(*: Sağlıklı grubuna göre istatistiksel anlamlılık, +: MET grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N= 6/7, $P<0.05$).

Farelerin Kapalı Kutu Koklama Sayıları

KYYD grubuyla kıyaslandığında; sağlıklı, MET (100 mg/kg), BTE (300 mg/kg), RTE (300 mg/kg), MİX (300 mg/kg) ve İHPM (4 mg/kg) gruplarında kapalı kutu koklama sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi.

Kontrol (DM, DMSO) gruplarıyla kıyaslandığında; KYYD grubunda kapalı kutu koklama sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi.

Kapalı kutu koklama sayısı



Şekil 4.2. Kapalı kutu koklama sayısı

Karamelli yüksek yağlı diyet almış diyabetik farelere BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) tedavileri uygulandıktan sonra Barnes maze testinde farelerin kapalı kutu (yanlış kutu) koklama sayıları

(*: KYVD grubuna göre istatistiksel anlamlılık, &: DM, #: DMSO grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N= 6/7, $P < 0.05$)

Farelerin Platformda Geçirilen Süre

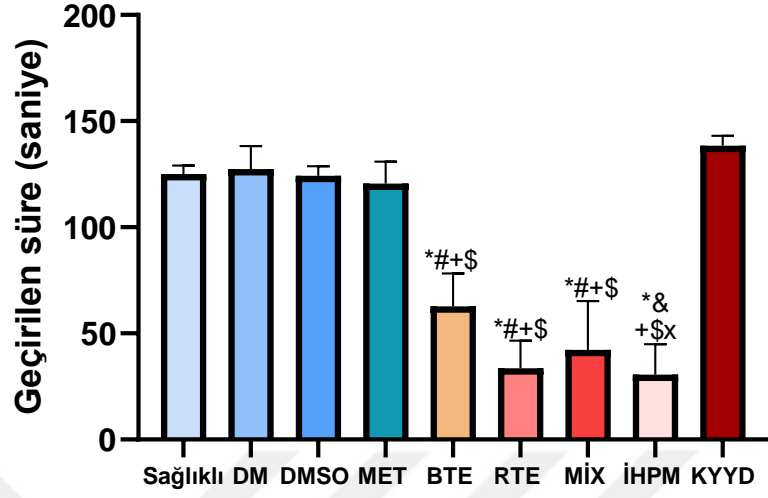
Sağlıklı grubuyla kıyaslandığında; BTE (300 mg/kg), RTE (300 mg/kg), MİX (300 mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) gruplarında platformda geçirilen sürelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi.

DM (Hastalık) grubuyla kıyaslandığında; BTE (300 mg/kg), RTE (300 mg/kg) ve MİX (300 mg/kg) gruplarında platformda geçirilen sürelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi.

DMSO grubuyla kıyaslandığında; İHPM (4mg/kg) grubunda platformda geçirilen sürelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi.

KYVD grubuyla kıyaslandığında; BTE (300 mg/kg), RTE (300 mg/kg), MİX (300 mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) gruplarında platformda geçirilen sürelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi.

Platformda Geçirilen Süre



Şekil 4.3. Platformda geçirilen süre

Karamelli yüksek yağlı diyet almış diyabetik farelere BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) tedavileri uygulandıktan sonra Barnes maze testinde farelerin platformda geçirdikleri süreler (*: Sağlıklı, #: DM, &: DMSO, +: MET, \$: KYVD, grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N= 6/7, $P < 0.05$)

Barnes Maze Testi Sırasında Farelerin Davranışsal Değişiklikleri

	1.GÜN	2.GÜN	3.GÜN	4.GÜN
Sağlıklı Grup				
DM Grubu				

Şekil 4.4. Kontrol grupların davranışsal değişiklikleri

Kontrol gruplarında, 1. eğitim gününden deney gününe kadar Barnes Maze testinin süresince farelerin davranışsal değişiklikleri

	1.GÜN	2.GÜN	3.GÜN	4.GÜN
KYYD Grubu				

Şekil 4.5. KYYD grubun davranışsal değişiklikleri

KYYD grubunda, 1. eğitim gününden deney gününe kadar Barnes Maze testinin süresince farelerin davranışsal değişiklikleri

	1.GÜN	2.GÜN	3.GÜN	4.GÜN
BTE Grubu				
RTE Grubu				
MIX Grubu				
iHPM Grubu				

Şekil 4.6. Tedavi grupların davranışsal değişiklikleri

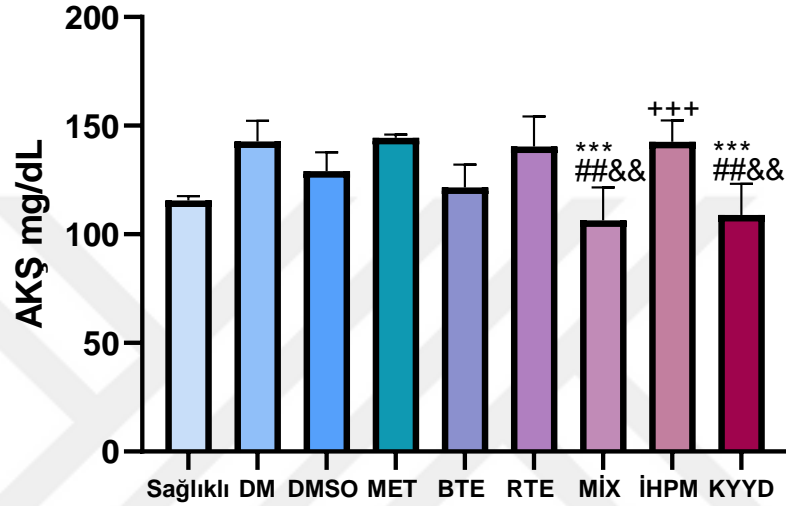
Tedavi gruplarında, 1. eğitim gününden deney gününe kadar Barnes Maze testinin süresince farelerin davranışsal değişiklikleri

4.1.2. Farelerin Açlık Kan Şekeri Ölçümü

DM (Hastalık), MET ve RTE gruplarıyla kıyaslandığında; MİX ve KYVD gruplarında açlık kan şekeri seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü tespit edildi.

MİX grubuyla kıyaslandığında; İHPM grubunda açlık kan şekeri seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi.

Açlık Kan Şekeri Seviyeleri



Şekil 4.7. Açlık kan şekerin seviyeleri

Karamelli yüksek yağlı diyet alan diyabetik farelerde tedaviler BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) uygulandıktan sonra kandaki açlık kan şekeri seviyeleri.

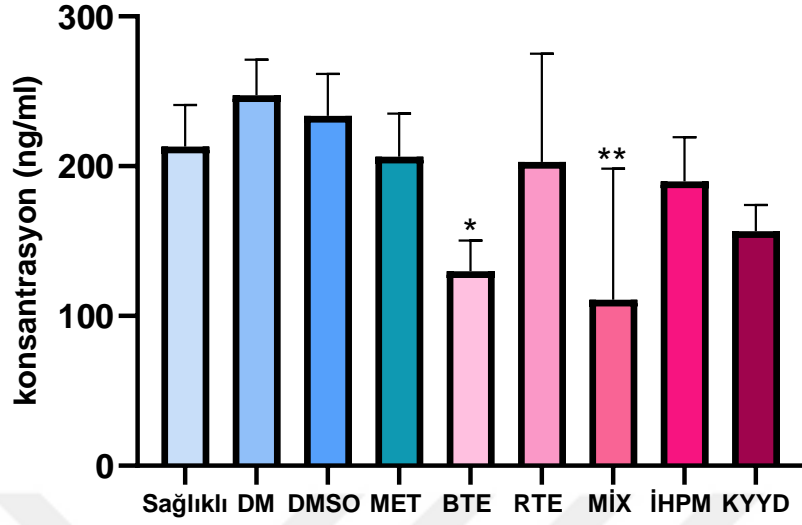
(***: DM grubuna göre istatistiksel anlamlılık, ##: RTE grubuna göre istatistiksel anlamlılık, +++: MİX grubuna göre istatistiksel anlamlılık, &&: MET grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N= 6/7, P <0.05)

4.1.3. Farelerde *In vitro* Deneysel Çalışmalar

Karaciğer Dokusunda TNF- α Analizi

DM grubuyla kıyaslandığında; BTE ve MİX gruplarında karaciğer dokusundaki TNF-α seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi.

Karaciğer Dokusunda TNF- α Analizi

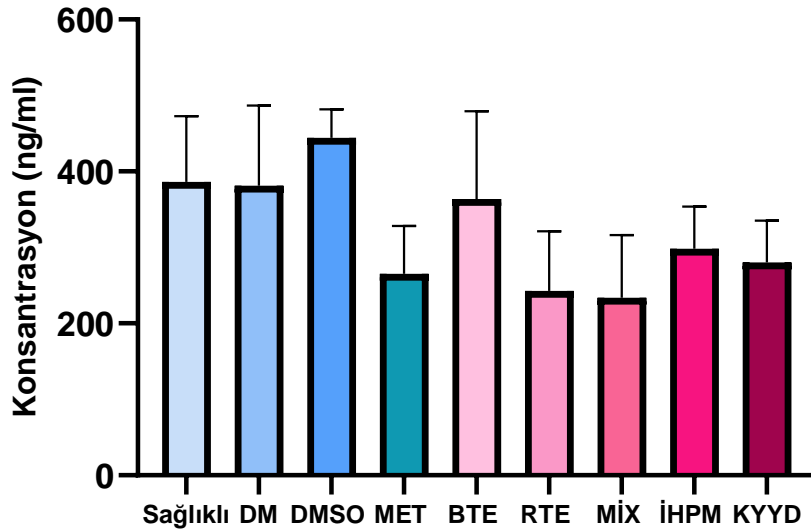


Şekil 4.8. Karaciğer dokusunda TNF- α analizi
Tedavi gruplarının BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) karaciğer dokusundaki TNF- α seviyeleri üzerindeki etkileri (*: DM grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N=4, P<0,05)

Böbrek Dokusunda TNF- α Analizi

Gruplar arasında böbrek dokusundaki TNF- α seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi.

Böbrek Dokusunda TNF- α Analizi

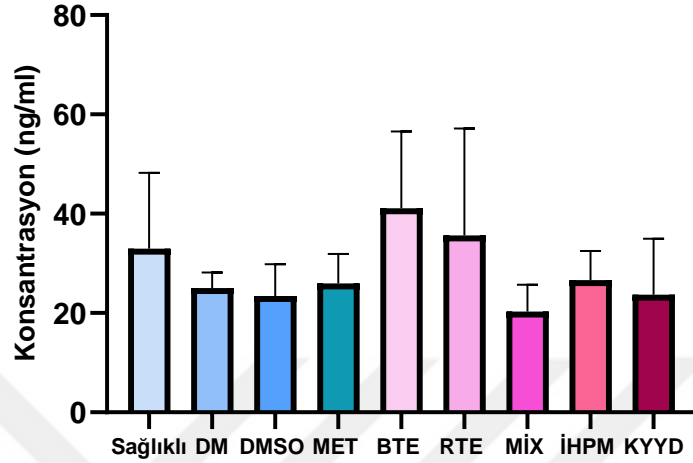


Şekil 4.9. Böbrek dokusunda TNF- α analizi
BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg)

Karaciğer Dokusunda SOD2 Analizi

Gruplar arasında karaciğer dokusundaki SOD2 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi.

Karaciğer Dokusunda SOD2 Analizi

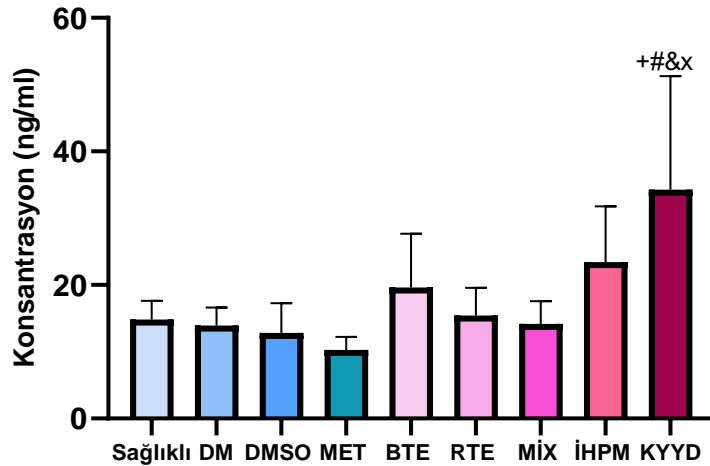


Şekil 4.10. Karaciğer dokusunda SOD2 analizi
BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg)

Böbrek Dokusunda SOD2 Analizi

DM, DMSO, MET ve MİX gruplarıyla karşılaştırıldığında, KYVD grubunda böbrek dokusundaki SOD2 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi.

Böbrek Dokusunda SOD2 Analizi



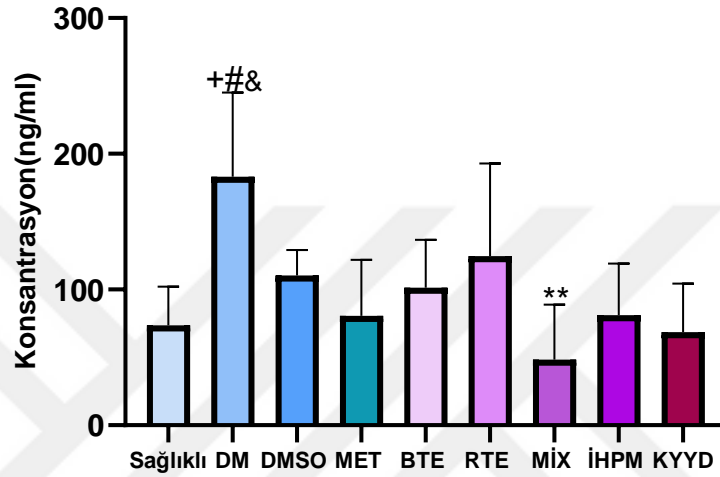
Şekil 4.11. Böbrek dokusunda SOD2 analizi
Tedavi gruplarının BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) böbrek dokusundaki SOD2 seviyeleri üzerindeki etkileri
(+: DM, #: DMSO, &: MET, x: MİX grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N=4, P<0,05)

Karaciğer Dokusunda BAX Analizi

Sağlıklı, MET ve KYVD gruplarıyla kıyaslandığında, DM grubunda karaciğer dokusundaki BAX seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi.

DM grubuyla kıyaslandığında, MİX (300 mg/kg) grubunda karaciğer dokusundaki BAX seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi.

Karaciğer Dokusunda BAX Analizi



Şekil 4.12. Karaciğer dokusunda BAX analizi

Tedavi gruplarının BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) karaciğer dokusundaki BAX seviyeleri üzerindeki etkileri

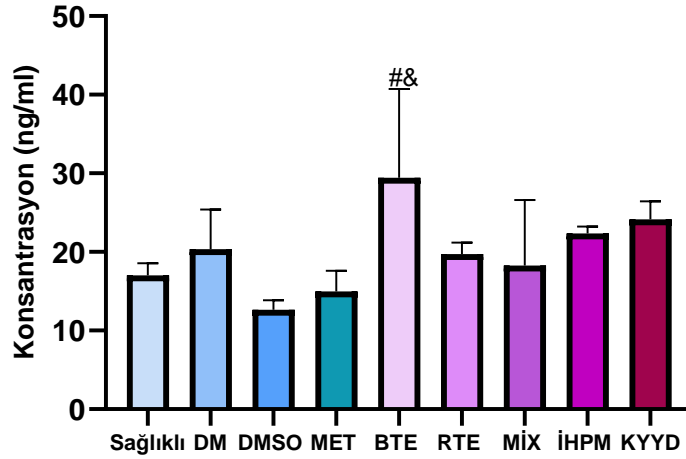
(*: DM grubuna göre istatistiksel anlamlılık, +: Sağlıklı grubuna göre istatistiksel anlamlılık, #: MET grubuna göre istatistiksel anlamlılık, &: KYVD grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N=4, P<0,05)

Karaciğer Dokusunda BCL2 Analizi

Sağlıklı grubuyla kıyaslandığında, BTE (300 mg/kg) grubunda karaciğer dokusundaki BCL2 seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi.

MET grubuyla kıyaslandığında da BTE (300 mg/kg) grubunda karaciğer dokusundaki BCL2 seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edildi.

Karaciğer Dokusunda BCL2 Analizi



Şekil 4.13. Karaciğer dokusunda BCL2 analizi

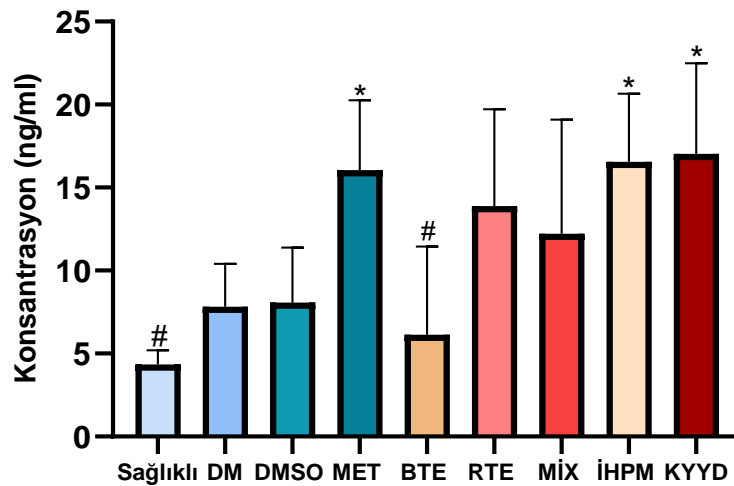
Tedavi gruplarının BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) karaciğer dokusundaki BCL2 miktarına etkileri (#: Sağlıklı grubuna göre istatistiksel anlamlılık, &: MET grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N=4, $P<0,05$)

Beyin Dokusunda AChE Analizi

KYYD grubuyla kıyaslandığında; sağlıklı ve BTE gruplarında beyin dokusundaki AChE seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi.

Sağlıklı grubuyla kıyaslandığında; MET, İHPM ve KYYD gruplarında beyin dokusundaki AChE seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi.

Beyin Dokusunda AChE Analizi



Şekil 4.14. Beyin dokusunda AChE analizi

Tedavi gruplarının BTE (300mg/kg), RTE (300mg/kg), MİX (300mg/kg) ve İHPM (4mg/kg) beyin dokusundaki AChE seviyeleri üzerindeki etkileri (*: Sağlıklı grubuna göre istatistiksel anlamlılık, #: KYYD grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (N=4, $P<0,05$)

4.2. Tartışma

In vivo deneysel çalışmaların değerlendirilmesi ile ilgili çalışmada, *Swiss albino* farelerine karamelli yüksek yağlı diyet ve streptozotosin (100 mg/kg, i.p.) uygulanarak bir diyabet modeli oluşturuldu. Bu modelde; roka tohumu ekstresinin, brokoli tohumu ekstresinin, bu ekstraktların kombinasyonlarının ve imidazol halkası içeren pirolidin bileşiğinin kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkileri, Barnes maze testi ile değerlendirildi.

DM (hastalık) ve KYVD gruplarındaki kaçış kutusuna girme oranlarının oldukça düşük olduğu, bu gruplardaki bilişsel bozukluğun yüksek seviyelerde olduğunu göstermektedir. Bu bulgulara dayanarak, BTE, RTE ve MİX tedavi gruplarında kaçış kutusuna girme oranlarının kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede artması, uygulanan tedavilerin kognitif bozukluğu azaltmada etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca, KYVD grubunda gözlemlenen yüksek oranda kapalı kutu koklama sayıları ve uzamış platformda kalma süreleri, bu grupta belirgin bir kognitif bozukluğun varlığını desteklemektedir. Buna karşın, BTE, RTE, MİX ve İHPM tedavi gruplarında kapalı kutu koklama sayıları ile platformda kalma sürelerinin azalması, uygulanan tedavilerin kognitif işlevleri iyileştirmede etkili olabileceğini telkin etmektedir.

Enhambre-Brolin ve arkadaşları (2013), diyabetik farelerde yapılan Barnes maze testinin sonuçlarına göre, diyabetli farelerin kaçış kutusunu bulma sürelerinin uzun olduğu öğrenmede bozukluk ve bunun ciddi bir kognitif bozukluğa işaret ettiği sonucuna varmışlardır. Başka bir çalışmada, Gonçalves ve arkadaşları (2022), diyabetik sıçan modelinde Barnes maze testi ile erken dönem kognitif bozulmayı değerlendirmişlerdir. İlgili çalışma bulgularına göre, diyabetik grupta kaçış kutusunu bulma sürelerinin uzaması ve platformda geçirilen sürenin artması, diyabetin mekânsal öğrenme ve hafıza bozukluğuna sebep olduğunu rapor etmiştir. Bu çalışmalardaki bulgular, bizim hipotezimizi desteklemektedir.

Kandaki şeker seviyelerinin değerlendirilmesi ile ilgili çalışmada, karamelli yüksek yağlı diyetle beslenen ve streptozotosin (100 mg/kg, i.p.) enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan *Swiss albino* farelerde, roka ve brokoli tohumu ekstreleri, bu ekstrelerin kombinasyonları ile imidazol halkası taşıyan pirolidin bileşiğinin hipoglisemik (kan şekeri düşürücü) etkilerini değerlendirmek amacıyla farelerin açlık kan şekeri düzeyleri ölçülmüştür.

Yapılan analizler, MİX grubu hastalık grubu ile kıyasla kan şekeri seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermiştir. Aynı zamanda BTE, RTE ve İHPM gruplarında anlamlı bir fark göstermemiştir. MİX grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmesi bu bitki kombinasyonunun hipoglisemik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Gupta ve arkadaşları (2022), yaptıkları çalışmada diyabetik ratlara uygulanan farklı dozlarda *Brassica oleracea* (brokoli) ekstresinin yüksek dozunun (400 mg/kg) kan şekeri seviyelerinde düşüş sağladığını ve bu etkinin hipoglisemik olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise brokoli ve roka ekstrelerinin kombinasyon (300 mg/kg) şeklinde uygulanmasının hipoglisemik etki göstermesi, iki bitkisel ekstrelin bir arada

bulunmasının hipoglisemik etki oluşturabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda sadece KYYD alan grubun, hastalık grubuna kıyasla kan şekerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiş ancak sağlıklı grubu ile anlamlı bir azalma oluşturmamıştır. MET grubunda kan şekeri seviyelerinde bir düşüş gözlemlenmemesinin nedeni, AKŞ ölçümünün son metformin dozundan 23 saat sonra alınmış olmasıdır. Metforminin yarılanma ömrü 6,5 saat olup, 23 saat sonra vücutta etkisinin kalmaması beklenir. Cengiz Ecemiş ve arkadaşlarının (2011) yaptığı bir derleme çalışmasının sonuçlarına göre, metforminin %90'ının 12 saat içinde vücuttan temizlendiği belirtilmiştir. Bu bulgu, hipotezimizi desteklemektedir.

In vitro Deneysel Çalışmaların Değerlendirilmesi ile ilgili çalışmada, karamelli yüksek yağlı diyetle beslenen ve streptozotosin (100 mg/kg, i.p.) enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan *Swiss albino* farelerde, roka ve brokoli tohumu ekstreleri, bu ekstrelerin kombinasyonları ve imidazol halkası taşıyan piroldin bileşiğinin; antiinflamatuvar etkileri (TNF- α), antioksidan etkileri (SOD2), apoptoz üzerindeki etkileri (BAX ve BCL2) ve kolinesteraz (AChE) aktivitesi yoluyla kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkileri ELISA kitleri kullanılarak değerlendirildi.

Hastalık grubuna göre BTE ve MİX gruplarında karaciğer dokusundaki TNF- α seviyelerinin düşük çıkması, bitki ekstrelerinin karaciğerde enflamasyon düşürücü etki oluşturduğunu telkin etmektedir. Al-Muzafar ve arkadaşlarının (2021) yaptığı çalışmada, bizim bulgularımızla benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yüksek yağlı ve karbonhidratlı diyetle beslenen diyabetik sıçanlarda TNF- α seviyeleri anlamlı şekilde artarken, tedavi alan sıçanlarda bu seviyelerin azaldığı gözlemlenmiştir. İHPM grubunun hastalık grubuyla anlamlı bir fark oluşturamaması, bu bileşiğin karaciğerdeki enflamasyon üzerinde belirgin bir etki göstermediğini düşündürmektedir. Böbrek dokusunda ise tedavi grupları hastalık gruplarıyla kıyaslandığında, TNF- α seviyelerinde anlamlı bir fark gözlemlenmemesi, ekstrelerin ve kimyasalın böbrek enflamasyonunda belirgin bir etki oluşturmadığını ya da kullanılan dozlarda ve/veya uygulanma sürelerinin yeterli olmadığını düşündürmektedir.

Yapılan analizlerde, farklı tedavi gruplarında karaciğer dokusundaki SOD2 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermedi. Bu sonuç, kullanılan ekstrelerin ve kimyasal bileşiğin antioksidan kapasiteyi artırmak için yeterli dozda olmadığını veya uygulanma sürelerinin yeterli olmadığını düşündürmektedir. Buna ilave olarak, antioksidan olan SOD enzimi, oksidatif indükleyici varlığında miktarı öncelikle artarak daha sonraki süreçlerde seviyesini azalabilmektedir (Zheng ve ark., 2023). Bizim çalışmalarda bu durumun aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Böbrek dokusunda yapılan SOD2 analizi sonucunda, KYYD grubunda SOD2 seviyelerinde anlamlı bir artış gözlenirken, tedavi grupları ile hastalık grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu durum, tedavi gruplarında kullanılan ekstrelerin ve kimyasal bileşiğin beklenen antioksidan etkiyi gösterebilmesi için dozlarını veya uygulanma sürelerinin artırılması gerektiğini düşündürmektedir. Ayrıca margarin ve karamel içeren diyetler, oksidatif stresi artırabilir. Trans

yağlar ve yüksek şeker içeriği, serbest radikal üretimini teşvik edebilir (Marins ve ark., 2019; Fruehwirth ve ark., 2021). Ancak fareler, bu tür diyetlere maruz kaldıklarında vücutlarının doğal antioksidan savunma sistemlerini (örneğin, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz) artırabilirler (Fruehwirth ve ark., 2021). Marins ve arkadaşlarının (2019) yaptığı bir çalışmada, *in vivo* deneylerde farelere verilen farklı dozlarda karamelin karaciğer ve böbrek üzerindeki etkileri incelenmiş; ROS, lipid peroksidaz, CAT ve SOD seviyelerinde meydana gelen değişikliklere bakılmıştır. Çalışmanın sonucunda, karamelin içerdiği maddelerin oksidatif hasar üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Karaciğerde lipid peroksidaz seviyelerinde ve böbrekte ROS üretiminde artış gözlemlenmiştir. Bunun sonucunda, karamelin redoks sistemini tetiklediği ve böbrekte CAT ve SOD seviyelerini arttırdığı rapor edilmiştir. Bu çalışma bizim hipotezimizi destekleyip çalışmamızdaki KYYD grubundaki farelerde SOD2 seviyesinin yüksek olması, SOD gibi vücudun endojen doğal antioksidan sistemlerini indükleyerek SOD enzim seviyesini artırdığını telkin etmektedir.

DM (hastalık) grubu ile sağlıklı ve MET gruplarıyla kıyaslandığında, pro-apoptotik belirten olan BAX seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olması diyabet hastalığının apoptotik süreci tetikleyen bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. MİX grubunda BAX seviyelerinde anlamlı bir düşüş gözlenmiş olup, bu kombinasyon apoptotik süreçleri inhibe ettiğini göstermektedir. 2021 yılında Othman ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma, hipotezimizi desteklemektedir. Yüksek yağlı diyetle beslenen diyabetik sıçanlara uygulanan tedavi gruplarında BAX (pro-apoptotik) seviyelerinde azalış tespit edilirken hastalık grubunda artış tespit edilmiş ve bu bulguya dayanarak, çalışmada kullanılan fesleğen bitkisinin apoptotik yollarda etkili olduğu rapor edilmiştir. KYYD grubunda BAX seviyeleri, hastalık grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmış olsa da, sağlıklı kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Çalışmamızda, diyetin pro-apoptotik BAX seviyesini azaltmasında rol oynayan mekanizmaların aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan analizde, BTE grubunda BCL2 seviyeleri sağlıklı ve MET grubuyla kıyaslandığında anlamlı bir şekilde artış göstermektedir. Bu bulgu, brokoli tohum ekstresinin hücre ölümünü önleyen, yani anti-apoptotik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmaların bulguları bizim bu hipotezimizi desteklemektedir. İlgili çalışmalardan biri; Othman ve arkadaşlarının (2021) araştırmasında, yüksek yağlı diyetle beslenen diyabetik sıçanlara verilen fesleğen ekstresinin hücre ölümünü engelleyen BCL2 protein seviyelerini yükselttiği gözlemlenmiş ve fesleğenin hücre ölümünü önleyici bir etkiye sahip olabileceği öne sürülmüştür. Başka bir çalışmada, diyabetik sıçanlarda ve zeytin yaprağı ekstresi ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda BAX ve BCL2 protein analizleri yapılmış; hastalık grubuna kıyasla tedavi grubunda BAX seviyelerinin azaldığı, BCL2 seviyelerinin ise arttığı gözlemlenmiştir. Bu sonuca dayanarak, diyabetin apoptotik süreci artırdığı ve uygulanan tedavinin apoptotik hasara etkili olduğu rapor edilmiştir (Kaeidi ve ark., 2011).

RTE, MİX ve İHPM gruplarında BCL2 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmemesi, bu grupların karaciğerde belirgin bir anti-apoptotik etki oluşturmadığını ya da kullanılan dozlarda ve/veya uygulanma sürelerinin yeterli olmadığını düşündürmektedir.

Yapılan analizde, karamelli yüksek yağlı diyet grubunda asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesinin arttığı görülmüştür. Yüksek AChE seviyeleri, sinir iletişimde önemli bir rol oynayan asetilkolin molekülünün iletiminde daha hızlı parçalanmasına yol açarak sinirsel iletiyi zayıflatır. Buna karşın, BTE grubunda AChE aktivitesinde gözlenen düşüş, brokoli tohumu ekstresinin asetilkolin seviyelerini koruyarak sinirsel iletiyi destekleyebileceğini ve diyetin olumsuz etkilerini azaltabileceğini telkin etmektedir. Bu bulgular, karamelli yüksek yağlı diyetin AChE seviyelerinde artışa neden olmasının, farelerin aldığı diyetlerde yüksek dozda karamel bulunmasıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Marins ve arkadaşları Swiss CF-1 fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, farelere uygulanan yüksek dozda karamelin ROS ve lipid peroksidaz aktivitelerini artırarak redoks sistemini tetiklediği ve AChE seviyelerini yükselttiği bulmuşlardır ve bulguya dayanarak karamelin oksidatif hasar oluşturup AChE aktivitesini atırabileceğini öne sürmüşlerdir. İlgili yazarların bu çalışması, bizim hipotezimizi desteklemektedir. Ayrıca, brokoli tohum ekstresinin AChE aktivitesini azalttığı, potansiyel nöroprotektif etkisini desteklemektedir. Bizim bulgularımıza benzer sonuçlar elde eden çalışmalardan biri olan Chen ve arkadaşlarının (2022) yaptığı çalışmada, diyabetik sıçan modelinde kolinerjik sistemin kognitif fonksiyonlar üzerindeki rolü araştırılmış ve AChE aktivitesi değerlendirilmiştir. Çalışmada, diyabetik sıçanlarda artan AChE aktivitesi ile kognitif bozulma gözlemlenmiştir. Uygulanan tedavi sonrasında AChE aktivitesinin azalması ile kognitif fonksiyonların iyileşmesi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Başka bir çalışmada Ebuehi ve Dibia (2015), streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanlarda asetilkolin düzeyleri ile asetilkolinesteraz aktivitesi araştırmışlar. Bu çalışmada, diyabetik sıçanların kontrol grubuna kıyasla asetilkolin düzeylerinde azalma ve asetilkolin esteraz aktivitesinde artış gözlemlenmiş, bu durumun diyabette hafıza, öğrenme ve bilişsel işlevlerin bozulmasına yol açtığı rapor edilmiştir. Çalışmamızda İHPM'nin AChE seviyesini artırdığı gözlenmiştir. Önceki çalışmalarda (Poyraz ve ark., 2023) ilgili kimyasal molekülü *in vitro* çalışmalarla (ChEs inhibisyon testleri) AChE inhibisyonu olarak gösterilmesine rağmen şimdiki *in vivo* çalışmamızda beklenenin zıttı bir etkinin görülmesinin nedenini aydınlatmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Özet olarak, *in vitro* çalışmadaki deneysel veriler MİX'in anti-enflamatuvar, hipoglisemik ve antipro-apoptotik etkiler gösterdiğini, BTE'nin ise anti-enflamatuvar, anti-apoptotik ve AChE aktivitesini inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermektedir. *In vivo* deneysel veriler ise diyabetik farelerde BTE, RTE, MİX ve İHPM'nin kognitif fonksiyonlar üzerinde tedavi edici etkilerini olabileceğini telkin etmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında hazırlanan brokoli ve roka tohumu ekstralarının, kombinasyonlarının ve kimyasal bileşiğın antioksidan (SOD2), antienflamatuvar (TNF- α), antidiyabetik (AKŞ) ve kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkileri *in vivo* ve *in vitro* yöntemler kullanılarak incelendi.

- Barnes maze testinde BTE, RTE ve MİX tedavi gruplarındaki fareler, kaçış kutusunu bulma ve girme sürelerini azaltmıştır. Ayrıca, BTE, RTE, MİX ve İHPM gruplarında kapalı kutuyu koklama sayılarında ve platformda geçirilen sürede azalma gözlemlenmiştir. Bu bulgular, tedavilerin hafıza bozukluğu üzerinde olumlu etkisi olduğunu düşündürmektedir.
- Açlık kan şekeri seviyelerinde; MİX grubu, hastalık grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir düşüş göstermiştir. Bu bulgu, MİX grubunda yer alan roka ve brokoli tohumu ekstralarının kombinasyonunun antidiyabetik etkili olduğunu ve hipoglisemik etki oluşturabildiğini göstermektedir. Öte yandan, İHPM'nin kullanılan dozda hipoglisemik etkili olmadığını telkin etmektedir.
- *In vitro* çalışmalarda, BTE ve MİX gruplarında karaciğer dokusundaki TNF- α seviyelerinde azalma gözlenirken, böbrek dokusunda anlamlı bir azalma tespit edilmemiştir. Brokoli tohumu ekstresi enflamasyon üzerinde tedavi edici bir etki göstermiş, roka tohumu ekstresi ise tek başına etkili olmamış, ancak kombinasyon halinde etkili olabileceği görülmüştür. İHPM grubunda TNF- α seviyelerinde anlamlı bir azalma olmaması, bu kimyasalın kullanılan dozda enflamasyon üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını göstermektedir.
- Tedavi gruplarının karaciğer ve böbrekteki SOD2 seviyelerinde anlamlı bir artış göstermemeleri, bu durum, konuyla ilgili daha fazla araştırma yapılmasının gerekliliğini vurgulamaktadır. Buna karşın, KYVD grubunun böbrek dokusundaki SOD2 seviyesinin anlamlı bir artış göstermesi, diyetin içeriğinden kaynaklanmakta olup vücutta yüksek hasar oluşması sonucunda antioksidan sistemin aktif hale gelebileceğini göstermektedir.
- BAX analizine göre, hastalık grubunda BAX seviyelerindeki artış diyabetin apoptotik süreçlere yol açtığını göstermektedir. MİX grubunda ise BAX seviyelerindeki azalma, brokoli ve roka tohumu ekstralarının tek başına belirgin bir etkisi olmadığını ancak kombinasyon halinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. İHPM'nin etkilerini anlamak için ileri çalışmalarda daha yüksek dozların incelenmesi gerekmektedir.
- BCL2 analizine göre, BTE grubunda BCL2 seviyelerindeki anlamlı artış, brokoli tohumu ekstresinin anti-apoptotik etki göstererek hücre ölümünü önlediğini ortaya koymaktadır. Diğer tedavi gruplarının etkilerini anlamak için ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.
- KYVD grubunda AChE seviyelerindeki artış, asetilkolin miktarının azaldığını göstermektedir. BTE grubunda ise AChE seviyelerindeki anlamlı azalma, brokoli tohumu ekstresinin hem AChE aktivitesini inhibe ettiğini hem de diyetin neden olduğu asetilkolin

azalmasına karşı tedavi edici bir etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Diğer tedavi grupları AChE üzerinde anlamlı bir etki göstermemiş olsa da kognitif fonksiyonları artırıcı etkileri paradoksal bir durum olarak değerlendirilmekte ve moleküler mekanizmaların aydınlatılması için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Özet olarak, *in vivo* çalışmadaki deneysel veriler diyabetik farelerde BTE, RTE, MİX ve İHPM'nin kognitif fonksiyonlar üzerinde tedavi edici etkilerini olabileceğini telkin etmektedir. *In vivo* deneysel veriler ise MİX'in anti-enflamatuvar, hipoglisemik ve antipro-apoptotik etkiler gösterdiğini, BTE'nin ise anti-enflamatuvar, anti-apoptotik ve AChE aktivitesini inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermektedir. RTE ve İHPM'nin etkilerini daha iyi anlamak için, diyabet bağlamında enflamasyon ve antienflamatuvar biyobelirteçler (örneğin, CRP, IL-10, IL-6) ile insülin direncinin ileri çalışmalarda incelenmesi önerilmektedir. BTE, RTE, MİX ve İHPM gruplarında antioksidan etkinliğin gözlemlenmemesinin, kullanılan konsantrasyonların ve/veya uygulama sürelerinin yetersiz olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, kullanılan diyetle ilgili olarak oksidatif süreçlerin SOD aktivitesini etkilediği varsayılabilir. Bu durumun aydınlatılması için, ileri çalışmalarda tedavilerin daha yüksek dozlarda ve uzun süreli uygulamalarla oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemine ilişkin farklı parametreler (örneğin, Glutatyon peroksidaz [GPx], ROS, Katalaz [CAT]) üzerinden incelenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Alam, M. S., Kaur, G., Jabbar, Z., Javed, K., & Athar, M., 2007. *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity. *Food and chemical toxicology*, 45(6), 910-920.
- Al-Muzafar, H. M., Alshehri, F. S., & Amin, K. A., 2021. The role of pioglitazone in antioxidant, anti-inflammatory, and insulin sensitivity in a high fat-carbohydrate diet-induced rat model of insulin resistance. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 54, e10782.
- Abdel-Rahman, S., Shaban, N., Haggag, A., Awad, D., Bassiouny, A., & Talaat, I., 2016. Inhibition of NF- κ B, Bcl-2 and COX-2 gene expression by an extract of *Eruca sativa* seeds during rat mammary gland carcinogenesis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(18), 8411-8418.
- Amirian, A., Rahnemaei, F. A., & Abdi, F., 2020. Role of C-reactive protein (CRP) or high sensitivity CRP in predicting gestational diabetes mellitus: Systematic review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14, 229-236.
- Arrigo, T., Leonardi, S., Cuppari, C., Manti, S., Lanzafame, A., D'Angelo, G., ... & Salpietro, C., 2015. Role of the diet as a link between oxidative stress and liver diseases. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 21(2), 384.
- Ameh, S. J., Obodozie, O. O., Inyang, U. S., Abubakar, M. S., & Garba, M., 2010. Current phytotherapy: A perspective on the science and regulation of herbal medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 072-081.
- Atmaca, M. H., & Ecemiş, G. C., 2012. Oral antidiyabetik ajanlar. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 29(1s), 23-29.
- Bandeira, S. D. M., Guedes, G. D. S., Fonseca, L. J. S. D., Pires, A. S., Gelain, D. P., Moreira, J. C. F., ... & Goulart, M. O. F., 2012. Characterization of blood oxidative stress in type 2 diabetes mellitus patients: Increase in lipid peroxidation and SOD activity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012(1), 819310.
- Bajkacz, S., Ligor, M., Baranowska, I., & Buszewski, B., 2021. Separation and determination of chemopreventive phytochemicals of flavonoids from *Brassicaceae* plants. *Molecules*, 26(16), 4734.
- Bidchol, A. M., Wilfred, A., Abhijna, P., & Harish, R., 2011. Free radical scavenging activity of aqueous and ethanolic extract of *Brassica oleracea L. var. italica*. *Food and Bioprocess Technology*, 4(7), 1137-1143.
- Bartsch, H., & Nair, J., 2004. Oxidative stress and lipid peroxidation-derived DNA lesions in inflammation driven carcinogenesis. *Cancer Detection and Prevention*, 28(6), 385-391.
- Bloch-Damti, A., & Bashan, N., 2005. Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 7(11-12), 1553-1567.
- Bone, K., & Mills, S., 2013. Principles and practice of phytotherapy: Modern herbal medicine. Elsevier Health Sciences.
- Cogo, A., Mangin, G., Maïer, B., Callebert, J., Mazighi, M., Chabriat, H., Launay, J.-M., Huberfeld, G., & Kubis, N., 2021. Increased serum QUIN/KYNA is a reliable biomarker of post-stroke cognitive decline. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1), 1-20.
- Cordner, Z. A., & Tamashiro, K. L., 2015. Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. *Physiology & Behavior*, 152, 363-371.

- Chu, Y., Sun, J., Wu, X., & Liu, R., 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6910–6916. <https://doi.org/10.1021/jf020665f>
- Chen, X., Famurewa, A. C., Tang, J., Olatunde, O. O., & Olatunji, O. J., 2022. Hyperoside attenuates neuroinflammation, cognitive impairment and oxidative stress via suppressing TNF- α /NF- κ B/caspase-3 signaling in type 2 diabetes rats. *Nutritional neuroscience*, 25(8), 1774-1784.
- Demir, S., Nawroth, P. P., Herzig, S., & Üstünel, B. E., 2021. Emerging targets in type 2 diabetes and diabetic complications. *Advances in Science*, 2100275, 1-23.
- Döndas, H. A., de Gracia Retamosa, M., & Sansano, J. M., 2017. Current trends towards the synthesis of bioactive heterocycles and natural products using 1,3-dipolar cycloadditions (1,3-DC) with azomethine ylides. *Synthesis*, 49(13), 2819-2851.
- Ebuehi, O. A. T., & Dibia, D. C., 2015. Hyperglycemic effect on brain cholinergic functions, oxidative stress and protein expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) on cognitive functions in streptozotocin induced-diabetic rats. *Research in Neuroscience*, 4(1), 1-9.
- El-Missiry, M. A., & El Gindy, A. M., 2000. Amelioration of alloxan induced diabetes mellitus and oxidative stress in rats by oil of *Eruca sativa* seeds. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 44(3), 97-100.
- Elsadek, M. F., El-Din, M. M. E., & Ahmed, B. M., 2021. Evaluation of anticarcinogenic and antioxidant properties of *Eruca sativa* extracts versus Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Journal of King Saud University-Science*, 33(4), 101435.
- Enhamre-Brolin, E., Carlsson, A., Hallberg, M., & Nyberg, F., 2013. Growth hormone reverses streptozotocin-induced cognitive impairments in male mice. *Behavioural brain research*, 238, 273-278.
- Evans, J. L., Goldfine, I. D., Maddux, B. A., & Grodsky, G. M., 2003. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction? *Diabetes*, 52(1), 1–8.
- Eposito, K., & Giugliano, D., 2004. The metabolic syndrome and inflammation: association or causation? *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 14(5), 228-232.
- Eskelinen, M. H., Ngandu, T., Helkala, E. L., Tuomilehto, J., Nissinen, A., Soininen, H., & Kivipelto, M., 2008. Fat intake at midlife and cognitive impairment later in life: A population-based CAIDE study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 23(7), 741-747.
- Fruehwirth, S., Egger, S., Kurzbach, D., Windisch, J., Jirsa, F., Flecker, T., ... & Pignitter, M., 2021. Ingredient-dependent extent of lipid oxidation in margarine. *Antioxidants*, 10(1), 105.
- Ferrannini, E., Baldi, S., Frascerra, S., Astiarraga, B., Heise, T., Bizzotto, R., Mari, A., & Pieber, T. R., 2016. Shift to fatty substrates utilization in response to sodium-glucose co-transporter-2 inhibition in nondiabetic subjects and type 2 diabetic patients. *Diabetes*. <https://doi.org/db151356>
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., et al., 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 114(12), 1752.
- Fusari, C. M., Nazareno, M. A., Locatelli, D. A., Fontana, A., Beretta, V., & Camargo, A. B., 2020. Phytochemical profile and functionality of *Brassicaceae* species. *Food Bioscience*, 36, 100606.
- Giacco, F., & Brownlee, M., 2012. Mechanisms of hyperglycemic damage in diabetes. In *Atlas of Diabetes* (pp. 217–231). Springer, US.
- Giacco, F., & Brownlee, M., 2010. Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation Research*, 107(9), 1058–1070.

- Gilani, A. H., 2005. Role of medicinal plants in modern medicine. *Malaysian Journal of Science*, 24(1), 1-5.
- Goncalves, J. S., Seica, R. M., Laranjinha, J., & Lourenco, C. F., 2022. Impairment of neurovascular coupling in the hippocampus due to decreased nitric oxide bioavailability supports early cognitive dysfunction in type 2 diabetic rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 193, 669-675.
- Gurib-Fakim, A., 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.
- Gupta, S., Chaudhary, A., Singh, S., Arora, S., & Sohal, S. K., 2021. Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) cultivars, Palam Samridhi and Palam Vichitra affect the growth of *Spodoptera litura* (Fabricius)(Lepidoptera: Noctuidae). *Heliyon*, 7(7).
- Gupta, S., Burman, S., Nair, A. B., Chauhan, S., Sircar, D., Roy, P., Dhanwat, M., Lahiri, D., Mehta, D., & Das, R., 2022. *Brassica oleracea* extracts prevent hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Preventive Nutrition and Food Science*, 27(1), 50.
- Gugliandolo, A., Giacoppo, S., Ficicchia, M., Aliquò, A., Bramanti, P., & Mazzone, E., 2018. *Eruca sativa* seed extract: A novel natural product able to counteract neuroinflammation. *Molecular Medicine Reports*, 17(5), 6235-6244.
- Galland, L., 2010. Diet and inflammation. *Nutrition in Clinical Practice*, 25, 634-640.
- Goncalves, J. S., Seica, R. M., Laranjinha, J., & Lourenco, C. F., 2022. Impairment of neurovascular coupling in the hippocampus due to decreased nitric oxide bioavailability supports early cognitive dysfunction in type 2 diabetic rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 193, 669-675.
- Kishore, L., Kaur, N., Kajal, A., & Singh, R., 2017. Extraction, characterization and evaluation of *Eruca sativa* against streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(2), 216-227.
- Koekkoek, P. S., Kappelle, L. J., van den Berg, E., Rutten, G. E., & Biessels, G. J., 2015. Cognitive function in patients with diabetes mellitus: Guidance for daily care. *The Lancet Neurology*, 14(3), 329-340.
- Kaeidi, A., Esmaceli-Mahani, S., Sheibani, V., Abbasnejad, M., Rasouljan, B., Hajjalizadeh, Z., & Afrazi, S., 2011. Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract attenuates early diabetic neuropathic pain through prevention of high glucose-induced apoptosis: *In vitro* and *in vivo* studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 136(1), 188-196.
- Kurban, A., Yaghoor, S., Almulaiky, Y., Mohamed, Y., Razvi, S., Hasan, M., ... & AL-Malki, A., 2017. Therapeutic effects of phytochemicals of *Brassicaceae* for management of obesity. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 19(4), 1-11.
- Kuzu, B., Tan, M., Taslimi, P., Gülçin, İ., Taşpınar, M., & Menges, N., 2019. Mono- or di-substituted imidazole derivatives for inhibition of acetylcholine and butyrylcholine esterases. *Bioorganic Chemistry*, 86, 187-196. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.044>
- Kunitomo, M., Yamaguchi, Y., Kagota, S., & Otsubo, K., 2008. Beneficial effect of coenzyme Q10 on increased oxidative and nitrative stress and inflammation and individual metabolic components developing in a rat model of metabolic syndrome. *Journal of Pharmacological Sciences*, 107(2), 128-137.
- Kassab, S., Begley, P., Church, S. J., Rotariu, S. M., Chevalier-Riffard, C., Dowsey, A. W., Phillips, A. M., Zeef, L. A., Grayson, B., & Neill, J. C., 2019. Cognitive dysfunction in diabetic rats is prevented by pyridoxamine treatment: A multidisciplinary investigation. *Molecular Metabolism*, 28, 107-119.
- Koçyiğit, E., & Köksal, E., 2019. Sulforafan, potansiyel etki mekanizması ve hastalıklarla ilişkisi. *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi*, 6(1), 153-160.

- Hamidpour, R., Hamidpour, S., Hamidpour, M., & Shahlari, M., 2013. Frankincense (*Boswellia* species): From the selection of traditional applications to the novel phytotherapy for the prevention and treatment of serious diseases. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 3, 221.
- Halban, P. A., Polonsky, K. S., Bowden, D. W., Hawkins, M. A., Ling, C., Mather, K. J., Powers, A. C., Rhodes, C. J., Sussel, L., & Weir, G. C., 2014. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99, 1983-1992.
- Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S., & Spiegelman, B. M., 1993. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 259, 87–91.
- Houstis, N., Rosen, E. D., & Lander, E. S., 2006. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*, 440(7086), 944–948.
- Henriksen, E. J., Diamond-Stanic, M. K., & Marchionne, E. M., 2011. Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 993-999.
- Helmy, A., El-Shazly, M., Seleem, A., Abdelmohsen, U., Salem, M. A., Samir, A., ... & Singab, A. N. B., 2020. The synergistic effect of biosynthesized silver nanoparticles from a combined extract of parsley, corn silk, and gum arabic: *In vivo* antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Materials Research Express*, 7(2), 025002.
- Ighodaro, O. M., 2018. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 656-662.
- Le, T. N., Sakulsataporn, N., Chiu, C.-H., & Hsieh, P.-C., 2020. Polyphenolic profile and varied bioactivities of processed Taiwanese grown broccoli: A comparative study of edible and non-edible parts. *Pharmaceuticals*, 13(5), 82.
- Li, H., Xia, Y., Liu, H.-Y., Guo, H., He, X.-Q., Liu, Y., Wu, D.-T., Mai, Y.-H., Li, H.-B., & Zou, L., 2022. Nutritional values, beneficial effects, and food applications of broccoli (*Brassica oleracea var. italica* Plenck). *Trends in Food Science & Technology*, 119, 288-308.
- Luc, K., Schramm-Luc, A., Guzik, T., & Mikolajczyk, T., 2019. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 70, 809-824.
- Marins, E., da Silva, J. S., da Rosa, P. C., de Oliveira, V. A., Pasinato, A. Z., Moretto, J. G., ... & Barcelos, R. P., 2019. Caramel dye IV induces oxidative stress damage in liver and kidney from mice. *BioRxiv*, 824276.
- Mattson, M. P., Pedersen, W. A., Duan, W., Culmsee, C., & Camandola, S., 1999. Cellular and molecular mechanisms underlying perturbed energy metabolism and neuronal degeneration in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 839, 154-175.
- Matsuzawa-Nagata, N., Takamura, T., Ando, H., Nakamura, S., Kurita, S., Misu, H., Ota, T., Yokoyama, M., Honda, M., Miyamoto, K., & Kaneko, S., 2008. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism*, 57(8), 1071–1077.
- Marwat, S. K., ur Rehman, F., & Khan, A. A., 2016. Phytochemistry and pharmacological values of rocket (*Eruca sativa* Miller)—A review. *International Journal of Horticulture*, 6.
- Maffei, C., Morandi, A., Ventura, E., Sabbion, A., Contreas, G., Tomasselli, F., et al., 2012. Diet, physical, and biochemical characteristics of children and adolescents with type 1 diabetes: relationship between dietary fat and glucose control. *Pediatric Diabetes*, 13, 137-146.
- Mirmiran, P., Bahadoran, Z., Hosseinpanah, F., Keyzad, A., & Azizi, F., 2012. Effects of broccoli sprout with high sulforaphane concentration on inflammatory markers in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Journal of Functional Foods*, 4(4), 837-841.

- Muhammad Gulfranz, M. G., Alia Sadiq, A. S., Hira Tariq, H. T., Muhammad Imran, M. I., Rahmatullah Qureshi, R. Q., & Asyia Zeenat, A. Z., 2011. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Eruca sativa* seed.
- Nunomura, A., Perry, G., Aliev, G., Hirai, K., Takeda, A., Balraj, E. K., Jones, P. K., Ghanbari, H., Wataya, T., Shimohama, S., & Chiba, S., 2001. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *Journal of Neuro pathology & Experimental Neurology*, 60(8), 759-767.
- Nagayach, A., Bhaskar, R., & Patro, I., 2022. Microglia activation and inflammation in hippocampus attenuates memory and mood functions during experimentally induced diabetes in rat. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 125, 102160.
- Nirmal, S. A., Ingale, J. M., Pattan, S. R., & Bhawar, S. B., 2013. *Amaranthus roxburghianus* root extract in combination with piperine as a potential treatment of ulcerative colitis in mice. *Journal of Integrative Medicine*, 11(3), 206-212.
- Osborn, O., & Olefsky, J. M., 2012. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nature Medicine*, 18(3), 363-374.
- Othman, M. S., Khaled, A. M., Al-Bagawi, A. H., Fareid, M. A., Ghany, R. A., Habotta, O. A., & Moneim, A. E. A., 2021. Hepatorenal protective efficacy of flavonoids from *Ocimum basilicum* extract in diabetic albino rats: A focus on hypoglycemic, antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 144, 112287.
- Poyraz, S., Döndaş, H. A., Sansano, J. M., Belveren, S., Yamali, C., Ülger, M., Döndaş, N. Y., Sağlık, B. N., & Pask, C. M., 2023. N-Benzoylthiourea-pyrrolidine carboxylic acid derivatives bearing an imidazole moiety: Synthesis, characterization, crystal structure, *in vitro* ChEs inhibition, and antituberculosis, antibacterial, antifungal studies. *Journal of Molecular Structure*, 1273, 134303.
- Prattichizzo, F., De Nigris, V., Mancuso, E., Spiga, R., Giuliani, A., Maccacchione, G., Lazzarini, R., Marcheselli, F., Recchioni, R., Testa, R., & La Sala, L., 2018. Short-term sustained hyperglycaemia fosters an archetypal senescence-associated secretory phenotype in endothelial cells and macrophages. *Redox Biology*, 15, 170–181.
- Poitout, V., Amyot, J., Semache, M., Zarrouki, B., Hagman, D., & Fontes, G., 2010. Glucolipotoxicity of the pancreatic beta cell. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801, 289–298.
- Pasinetti, G. M., & Eberstein, J. A., 2008. Metabolic syndrome and the role of dietary lifestyles in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 106(4), 1503-1514.
- Prasad, M., Rajagopal, P., Devarajan, N., Veeraraghavan, V. P., Palanisamy, C. P., Cui, B., ... & Jayaraman, S., 2022. A comprehensive review on high-fat diet-induced diabetes mellitus: An epigenetic view. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 107, 109037.
- Rani, V., Deep, G., Singh, R. K., Palle, K., & Yadav, U. C., 2016. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences*, 148, 183-193.
- Rains, J. L., & Jain, S. K., 2011. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 50, 567-575.
- Román-Pintos, L. M., Villegas-Rivera, G., Rodríguez-Carrizalez, A. D., Miranda-Díaz, A. G., & Cardona-Muñoz, E. G., 2016. Diabetic polyneuropathy in type 2 diabetes mellitus: Inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function. *Journal of Diabetes Research*, 2016(1), 3425617.
- Rorsman, P., & Braun, M., 2013. Regulation of insulin secretion in human pancreatic islets. *Annual Review of Physiology*, 75, 155–179.
- Ramrao, S. P., Verma, A., Waiker, D. K., Tripathi, P. N., & Shrivastava, S. K., 2021. Design, synthesis, and evaluation of some novel biphenyl imidazole derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Structure*, 1246, 131152.

- Seino, S., Shibasaki, T., & Minami, K., 2011. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 121(6), 2118–2125.
- Sola, T., Sola, F. M., & Jehkonen, M., 2024. The effects of type 2 diabetes on cognitive performance: A review of reviews. *International Journal of Behavioral Medicine*, 1-15.
- Saurav, K., & Kannabiran, K., 2012. Cytotoxicity and antioxidant activity of 5-(2,4-dimethylbenzyl) pyrrolidin-2-one extracted from marine *Streptomyces* VITSVK5 spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(1), 81-86.
- Speakman, J. R., & Selman, C., 2011. The free-radical damage theory: accumulating evidence against a simple link of oxidative stress to ageing and lifespan. *BioEssays*, 33(4), 255–259.
- Swerdlow, R. H., 2011. Brain aging, Alzheimer's disease, and mitochondria. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1812(12), 130-1639.
- Swaroop, J. J., Rajarajeswari, D., & Naidu, J. N., 2012. Association of TNF- α with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Indian Journal of Medical Research*, 135(1), 127-130.
- Solomon, S. S., Odunusi, O., Carrigan, D., Majumdar, G., Kakoola, D., Lenchik, N. I., & Gerling, I. C., 2010. TNF-alpha inhibits insulin action in liver and adipose tissue: A model of metabolic syndrome. *Hormone and Metabolic Research*, 42(2), 115-121. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1241834>
- Storlien, L. H., Jenkins, A. B., Chisholm, D. J., Pascoe, W. S., Khouri, S., & Kraegen, E. W., 1991. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats: Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes*, 40(2), 280-289.
- Tsalamandris, S., Antonopoulos, A. S., Oikonomou, E., Papamikroulis, G. A., Vogiatzi, G., Papaioannou, S., et al., 2019. The role of inflammation in diabetes: current concepts and future perspectives. *European Cardiology*, 14(1), 50.
- Vilahur, G., Ben-Aicha, S., & Badimon, L., 2017. New insights into the role of adipose tissue in thrombosis. *Cardiovascular Research*, 113, 1046-1054.
- World Health Organization., 2016. *Global report on diabetes: A summary*. France: World Health Organization.
- Winocur, G., Greenwood, C. E., Piroli, G. G., Grillo, C. A., Reznikov, L. R., Reagan, L. P., & McEwen, B. S., 2005. Memory impairment in obese Zucker rats: An investigation of cognitive function in an animal model of insulin resistance and obesity. *Behavioral Neuroscience*, 119(5), 1389.
- Wu, D., & Cederbaum, A. I., 2003. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Research & Health*, 27(3), 277–284.
- Xu, X., Dai, M., Lao, F., Chen, F., Hu, X., Liu, Y., & Wu, J., 2020. Effect of glucoraphanin from broccoli seeds on lipid levels and gut microbiota in high-fat diet-fed mice. *Journal of Functional Foods*, 68, 103858.
- Zhang, L., Ravipati, A. S., Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Reddy, N., Smith, P. T., ... & Wu, M. J., 2011. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants containing phenolic and flavonoid compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23), 12361-12367.
- Zhang, L., Ravipati, A. S., Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Reddy, N., Smith, P. T., ... & Wu, M. J., 2011. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants containing phenolic and flavonoid compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23), 12361-12367.
- Zhang, Y. Z., Fan, M. L., Zhang, W. Z., Liu, W., Li, H. P., Ren, S., ... & Li, W., 2023. Schisandrin ameliorates diabetic nephropathy via regulation of PI3K/Akt/NF- κ B-mediated inflammation and

- TGF- β 1-induced fibrosis in HFD/STZ-induced C57BL/6J mice. *Journal of Functional Foods*, 100, 105376.
- Zhu, W., Niu, X., Wang, M., Li, Z., Jiang, H. K., Li, C., ... & Bai, Y., 2019. Endoplasmic reticulum stress may be involved in insulin resistance and lipid metabolism disorders of the white adipose tissues induced by high-fat diet containing industrial trans-fatty acids. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 1625-1638.
- Zheng, M., Liu, Y., Zhang, G., Yang, Z., Xu, W., & Chen, Q., 2023. The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics. *Antioxidants*, 12(9), 1675.
- Zulfiqar, S., Haroon, M., Baig, M. W., Tariq, M., Ahmad, Z., Tahir, M. N., & Akhtar, T., 2021. Synthesis, crystal structure, anti-cancer, anti-inflammatory, antioxidant and quantum chemical studies of 4-(pyrrolidine-2,5-dione-1-yl) phenol. *Journal of Molecular Structure*, 1224, 129267.





ÖZGEÇMİŞ

Hadice HAZNEVİ, ilk, orta ve lise eğitimini Suriye’ de tamamladı. Ön lisnas eğitimini Batman Üniversitesi, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri bölümünde 2017 yılında başarıyla tamamladı. Lisans eğitimini Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik bölümünde 2022 yılında başarıyla tamamladı. Biyoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine 2022 yılında Prof. Dr. Naciye YAKTUBAY DÖNDAŞ danışmanlığında başladı. Araştırma alanları: Biyoteknoloji, Moleküler biyoloji, Metabolik hastalıklar, Fitoterapi, Mühendislik vs. gibi çeşitli alanları kapsar.





EKLER



Deney hayvanları kullanmak için alınan Etik kurul onayı

T.C.
**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK
KURULU**

Toplantı Sayısı	Toplantı Tarihi	Toplantı Yeri	Oturum Başkanı
10	12.12.2023	Ç.Ü- SABİDAM	Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR

KARAR NO: 5- Ç.Ü. Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda görevli Prof. Dr. Naciye DÖNDAŞ' ın yöneticisi olduğu “**Diyabetik Farelerde Brokoli Tohum Ekstresi, Roka Tohum Ekstresi ve İmidazol Halkası Bulunduran Prolidin Türevi Molekülün Antioksidan, Antiinflamatuvar, Antidiyabetik ve Kognitif Fonksiyonlar Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması**” konusu, araştırma etiği yönünden değerlendirildi; toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.