

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

STEVIA REBAUDIANA BERTONİ’NİN DİYABETİK
SIÇANLARDA PERİFERAL KANDA TÜMÖR NEKROZ
FAKTÖR ALFA VE İNTERLÖKİN-1 BETA
ARACILIĞIYLA İMMÜNMODULATÖR
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Erhan CEBECİ

YÜKSEK LİSANS

2021-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**STEVIA REBAUDIANA BERTONİ’NİN DİYABETİK
SIÇANLARDA PERİFERAL KANDA TNF ALFA VE
IL-1 BETA ARACILIĞIYLA İMMÜNMODULATÖR
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Erhan CEBECİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Emin Türkay KORGUN

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2020-5495 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2021-ANTALYA

TEŐEKKÖR

Yüksek lisans eğitimin süresince her konuda destek olup yol göstericiliği ile yanımda olan ve tez projemin gerçekleştirilmesinde önemli katkıları olan danışman hocam Prof. Dr. Emin Türkay KORGUN'a,

En az danışman hocam kadar üzerimde emeği olan Prof. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN'a,

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın tüm değerli öğretim üyelerine, araştırma görevlilerine ve çalışanlarına,

İhtiyaç duyduğum her an bana yardımcı olan çok sevgili çalışma arkadaşlarıma (Türkan YANIK, Gizem KORKMAZ, Emre ÇETİNDAG, Kerem YANAR, Selin KISAR, Rıza Can ÇAKMAKÇI ve Ezgi AKAN),

Yardımlarından dolayı Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tüm değerli çalışanlarına,

Akademik kariyerimin ilk adımlarını atmamda beni destekleyen ve teşvik eden Hakan YELKE'ye,

Eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama, ağabeyime, kardeşime, Işın Zeybekoęlu ve Sümer Zeybekoęlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: *Stevia rebaudiana* (SR), günümüzde düşük kalorili bir tatlandırıcı olması ve kandaki glukoz düzeyini düşürmesi nedeniyle diyabet ve obezite tedavilerinde alternatif olarak kullanılan bir bitkidir. Diyabet aynı zamanda otoimmün düzensizlikleri de içeren ve hastada aşırı immün cevaba takiben birçok lezyona sebep olan bir hastalıktır. Bu çalışma stevianın diyabet ile ilgili immünmodülatör özelliklerini araştırmayı amaçlamaktadır.

Yöntem: 150-250gr ağırlığındaki wistar sıçanlara streptozotosin (STZ) enjeksiyonu ile diyabet modeli oluşturuldu. Diyabet olan ve olmayan stevia gruplarını oluşturan sıçanlara 28 gün boyunca her gün 2 ve 25 mg/kg stevia gavaj yoluyla verildi. 28. günün sonunda ELISA yöntemi ile serumdaki IL-1 β ve TNF- α miktarı belirlendi. Ayrıca T lenfosit, yardımcı T lenfosit ve sitotoksik T lenfosit hücrelerinin sayıları da akım sitometri yöntemi ile tespit edildi.

Bulgular: Sıçanların ağırlıklarındaki artış diyabet grubu ile kıyaslandığında diyabet + 25 mg/kg stevia grubunda istatistiksel olarak anlamlı idi. Kan glukoz değeri, diyabet + 25 mg/kg stevia grubunda diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ($p \leq 0,05$). IL-1 β ve TNF- α sitokin seviyeleri diyabet +25 mg/kg stevia grubunda diyabet grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p \leq 0,01$). CD8+ sitotoksik T hücre sayıları, diyabet + 25 mg/kg stevia grubunda, diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ($p \leq 0,05$).

Sonuç: T Hücrele sayılarında ve proinflatuar sitokin seviyesinde meydana gelen değişimler diyabetin bir otoimmün hastalık olduğunun göstergesidir. Stevianın, CD3+ , CD4+ , CD8+ T hücreleri ve IL-1 β , TNF- α sitokinleri üzerindeki etkisi, stevianın immünomodülatör etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Stevia, Diyabet, Sitokin, Lenfosit

ABSTRACT

Objective: SR which is a plant that is used in the treatment of diabetes and obesity because of it is a low-calorie sweetener and it decreases the blood glucose level.

Diabetes is also a disease that includes autoimmune disorders and can cause many lesions following excessive immune response in the patient. This study aims to investigate the immunomodulatory properties of stevia during diabetes.

Method: A diabetes model was created by injection of STZ to rats weighing 150-200g. Stevia was given by gavage daily for 28 days to rats with and without diabetes. At the end of 28 days, the amount of IL-1 β and TNF- α in the blood was determined by ELISA method. The amounts of CD3, CD4 and CD8 proteins were determined by flow cytometry method.

Results: Rat weights increased significantly in the diabetes + 25 mg/kg stevia group compared to the diabetes group. Blood glucose level decreased significantly in the diabetes + 25 mg/kg stevia group compared to the diabetes group. IL-1 β cytokine level decreased significantly in the diabetes +25 mg / kg stevia group compared to the diabetes group. TNF- α cytokine level decreased significantly in the diabetes + 25 mg / kg stevia group compared to the diabetes group. The amount of CD8 + T cells decreased significantly in the diabetes + 25 mg/kg stevia group compared to the diabetes group.

Conclusion: Changes in T Cells and proinflammatory cytokine levels are indicators that diabetes is an autoimmune disease. The effect of stevia on these cells and cytokines shows the immunomodulatory effects of stevia.

Key words: Stevia, Diabetes, Cytokine, Lymphocyte

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
GİRİŞ	1
1.1.Hipotezin Temeli ve Amaç	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. İmmünite (Bağışıklık)	3
2.1.1. Doğal İmmünite	3
2.1.2. Edinsel İmmünite	3
2.1.3. Lenfositler	4
2.1.4. T Lenfositler	4
2.1.5. B Lenfositler	5
2.1.6. Antijen Sunan Hücreler (APC)	6
2.1.7. Sitokinler	7
2.1.8. Proinflamatuvar Sitokinler	7
2.1.9. TNF	7
2.1.10. IL-1	8
2.1.11. IFN- γ	9
2.1.12. Anti İnflamatuvar Sitokinler	9
2.1.13. IL-1RA	9
2.1.14. TGF- β	9
2.1.15. IL-10	10
2.2. Diabates Mellitus	10
2.2.1. Tip 1 Diyabet	11

2.2.2. Tip 1 Diyabetin İmmünolojisi	11
2.2.3. Tip 2 Diyabet	16
2.2.4. Tip 2 Diyabetin İmmünolojisi	16
2.3. Stevia Reabudiana	24
2.3.1. Stevia Rebaudiana'nın Biyokimyasal Bileşenleri	25
2.3.2. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni'nin Diabetes Mellitus ile ilişkisi	26
GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1. Denekler	29
3.2. Deney Planı	29
3.3. Kan örneklerinin toplanması	30
3.4. Flow Sitometri	30
3.4.1. Kullanılan solüsyonlar	30
3.4.2. Flow Sitometri Protokolü	30
3.5. ELISA	31
3.6. İstatistiksel Analiz	32
BULGULAR	33
4.1. Sıçan Ağırlıkları	33
4.2. Kan Glukoz Ölçümleri	35
4.3. ELISA Bulguları	37
4.3.1. IL-1 β sonuçları	37
4.3.2. TNF- α Sonuçları	38
4.4. Flow Sitometri Bulguları	40
TARTIŞMA	47
SONUÇ ve ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	64

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Diyabetin TNF- α ve IL-1 β sitokinlerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar ve sonuçları	24
Tablo 2.2.	SR ile yapılan çalışmalar ve sonuçları	27
Tablo 4.1.	0. ve 28. gün ortalama sıçan ağırlıkları	33
Tablo 4.2.	28. gün sıçan ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması	34
Tablo 4.3.	0. ve 28. gün ortalama kan glukoz değerleri.	35
Tablo 4.4.	28. gün Glukoz değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması	36
Tablo 4.5.	28. gün IL-1 β seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması	38
Tablo 4.6.	28. gün TNF- α seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması	39
Tablo 4.7.	28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait CD3, CD4 ve CD8 hücre sayılarının yüzdesi ve standart sapmaları.	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	T ve B hücre farklılaşması	4
Şekil 2.2.	B hücre farklılaşması	6
Şekil 2.3.	APC'lerin T Hücrelerine antijen sunması	7
Şekil 2.4.	Düzensiz timus aktivitesi sonucu oluşan adacık inflamasyonu	12
Şekil 2.5.	Tip 1 diyabetin immün patogenezinin basitleştirilmiş modeli.	13
Şekil 2.6	Tip 1 diyabette pankreas β -hücrelerinde inflamatuvar mediatörlerin aktivasyonu.	15
Şekil 2.7.	T2D patojenezi etkileyen faktörlerin şematik gösterimi.	17
Şekil 2.8.	IL-6, ve T2D oluşumu şematik gösterimi	19
Şekil 2.9.	NLRP3 İnflamazom aktivasyonu	21
Şekil 2.10.	TLR4 sinyal yollarının şematik gösterimi	23
Şekil 2.11.	Tip 2 diyabette adacık iltihabı	23
Şekil 4.1.	0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait sıçan ağırlıklarının karşılaştırılması	34
Şekil 4.2	0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait kan glukoz değerlerinin karşılaştırılması	36
Şekil 4.3.	0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait IL-1 β protein miktarlarının karşılaştırılması	37

- Şekil 4.4.** 0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, 39
Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına
ait TNF- α protein miktarlarının karşılaştırılması
- Şekil 4.5.** 0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, 41
Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına
ait total T lenfosit (CD3⁺) hücrelerinin sayısal miktarları
- Şekil 4.6.** 0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, 42
Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına
ait total T lenfosit (CD3⁺) hücrelerinin sayısal miktarlarının
karşılaştırılması
- Şekil 4.7.** 0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, 43
Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına
ait yardımcı T lenfosit (CD4⁺) hücrelerinin sayısal miktarları
- Şekil 4.8.** 0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, 44
Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına
ait yardımcı T lenfosit (CD4⁺) hücrelerinin sayısal miktarlarının
karşılaştırılması
- Şekil 4.9.** 0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, 45
Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına
ait sitotoksik T lenfosit (CD4⁺) hücrelerinin sayısal miktarları
- Şekil 4.10.** 0. Ve 28. Günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, 46
Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına
ait sitotoksik T lenfosit (CD4⁺) hücrelerinin sayısal miktarlarının
karşılaştırılması

SİMGELER ve KISALTMALAR

AP	:	Aktivatör Protein
CB1	:	Kannabinoid 1
CRP	:	C-Reaktif protein
CVD	:	Kardiyovasküler Hastalıklar
DM	:	Diabetes Mellitus
FADD	:	Fas-ilışkili Ölüm Domaini
GD	:	Gestasyonal Diyabet
HRP	:	Horseradish Peroksidaz
HuCC	:	Human Cholangiocellular Carcinoma Cell
IL	:	İnterlökin
iNOS	:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
NO	:	Nitrik Oksit
PEPCK	:	Fosfoenolpiruvat Karboksilazın
PKC	:	Protein Kinaz C
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
SG	:	Steviol Glukozitleri
SR	:	Stevia Rebaudiana
STZ	:	Streptozosin
T1D	:	Tip 1 Diyabet
T2D	:	Tip 2 Diyabet
TCR	:	T Hücre Reseptör
THE	:	Timus Epitel Hücreleri
TLR	:	Toll Benzeri Reseptör
TNF-α	:	Tümör Nekroz Faktör alfa
TXNIP	:	Tiyoredoksin ile Etkileşen Protein

GİRİŞ

1.1.Hipotezin Temeli ve Amaç

Besinlerde tatlandırıcı olarak kullandığımız şekerin hastalıklara neden olması sonucunda şekere alternatif olabilecek tatlandırıcılar araştırılmaya başlanmıştır. Bunlardan bir tanesi de son yıllarda oldukça kullanımı yaygınlaşan doğal tatlandırıcı olan Stevia bitkisidir. *Stevia rebaudiana Bertoni*, Paraguay'ın kuzeydoğusunda yetişen Asteraceae ailesine ait bir bitkidir. Stevia, sakkaroz'dan yüzlerce kat daha tatlı olmasına karşılık, sakkaroz'un kalori değeri 386 kkal/g iken, Stevia rebaudiana Bertoni (SR)'nin kalori değeri sadece 2,7 kkal/g'dır. Bu nedendenle, SR tatlandırıcı olarak her geçen gün artan miktarda tüketilmektedir. Ayrıca, sağlıklı yaşam için başka bileşikler de içermektedir. Yapraklarında bulunan Stevioside ve Rebaudioside A, başta diyabet ve obezite dahil olmak üzere birçok metabolik hastalıklarda tedavi amacı ile kullanılmaktadır (Brandle ve Telmer, 2007). Diabetes mellitus (DM); pankreas'ın yeterli miktarda insülin hormonu üretememesi ya da ürettiği insülin hormonunun etkili bir şekilde kullanılamamasına bağlı olarak kanda bulunan glukozun hücrelere alınamaması sonucunda gelişen, ciddi komplikasyonlara neden olan bir hastalıktır. Kronik hiperglisemi ile seyreden diyabetik hastalarda, çeşitli organlarda, özellikle gözlerde, böbreklerde, sinirler, kalp ve kan damarlarında uzun vadede komplikasyonlar görülebilir (Savita ve ark., 2010).

Literatürdeki çalışmalara göre, SR'nin, alloksan veya streptozotosin (STZ) ile oluşturulmuş diyabetik farelerde ve SR diyeti uygulanan farelerde kan glukoz seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Lemus-Mondaca ve ark., 2012). Tip 1 diyabette (T1D) ; otoimmünite sonucu apoptoz mekanizması aracılığı ile pankreas β -hücrelerinde ölüm gerçekleşir (Goyal ve ark., 2010). *In vitro* çalışmalar, farklı pro-inflamatuar sitokinlerin kombinasyonunun, β -hücresi apoptozunu indüklediğini göstermiştir (Barba ve ark., 2014). Tip 1 diyabetli (T1D) hastaların serumlarında yüksek miktarlarda interlökin-1 Beta (IL-1 β), IL-6 ve C-Reaktif protein (CRP) tespit edilmiştir (Atkinson ve ark., 2011). Son çalışmalarda, SR'nin glukoz metabolizmasındaki etkisinin yanı sıra immünomodülatör özellikleri de araştırılmaya başlanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda; SR'nin, pro-inflamatuar sitokin (IL-1 β , IL-6, İnterferon γ (IFN- γ)) salınımını azalttığı gösterilmiştir (Ramos-Tovar ve ark., 2018).

Bu projede, diyabetik ve diyabetik olmayan sağlıklı sıçanlara stevia ekstraktı farklı dozlarda 28 gün süreyle gavaj yoluyla verilerek, bu sıçanların periferel dolaşımadaki $CD3^+$, $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücrelerinin sayıları ve bu deneklerin serumlarındaki IL-1 β ve TNF- α sitokin miktarları tespit edilerek, steviaanın immünmodölatör rolü araştırılmıştır.

Çalışmamızın önemini oluşturan unsurları şu şekilde sıralayabiliriz:

- 1- Diyabet Hastalığı günümüzün en önemli hastalıklarından birisidir.
- 2-Tedavisi için günümüzde birçok tedavi yöntemi yaygın olarak kullanılmasına rağmen kesin tedavisi olmayıp, uygulanan tedavi yöntemleri de oldukça pahalı ve zahmetlidir.
- 3- Diyabet hastalığı otoimmün bir hastalık olduğu için stevia aracılı immün regölasyon mekanizmasının açıklanması ile diyabet hastalığının tedavisine yeni yaklaşımlar kazandırılabilir.
- 4- Stevia kullanımının her geçen gün artmasına rağmen hiperglisemik koşullarda immünmodölatör etkileri bilinmemektedir.

Diyabet aynı zamanda otoimmün düzensizlikleri de içeren ve hastada aşırı immün cevabı takiben birçok lezyona neden olan bir hastalıktır. Bu çalışmadaki amacımız SR'nın, normal ve STZ aracılığı ile diyabet oluşturulmuş hayvanların periferel kanında T lenfositlerinin sayılarına ve inflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-1 β sitokin salınımına etkilerini belirlemektir.

Bu çalışmamızın hipotezi “SR, diyabet esnasında T hücrelerinin sayılarına ve TNF- α , IL-1 β sitokinlerinin salınımlarına olan etkileri aracılığıyla immün modölasyonda rol alır.” şeklindedir. Bu hipotezi araştırmak için SR diyeti uygulanan diyabetik sıçanların, periferel kanlarında total T lenfosit, yardımcı T lenfosit ve sitotoksik T lenfosit hücre sayılarında ve serumda TNF- α ve IL-1 β sitokin miktarlarında değişiklik olup olmadığını belirlemeye çalıştık.

Bu çalışmanın amacı; “SR'nin, diyabet esnasında T hücreleri ve inflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-1 sitokinleri aracılığıyla immün modölasyonda rol alıp almadığını belirlemektir.

GENEL BİLGİLER

2.1. İmmünite (Bağışıklık)

İmmünite, enfeksiyon kaynaklı hastalıklara karşı geliştirilen direnç olarak tanımlanır. İmmün sistem ise bu direnci oluşturan moleküller, hücreler, dokular ve organlardan oluşur. İmmün sistem doğal (nonspesifik) ve edinsel (adaptif) olmak üzere iki çeşittir (Paul, 2003).

2.1.1. Doğal İmmünite

İmmün direncin ilk aşamasıdır. Üç genel direnç bariyerinden oluşur. Birincisi anatomik bariyer olup deri ve dokulardaki mukoza katmanından özellikle de deri'deki epitel dokudan oluşur. İkinci bariyer fizyolojik bariyer olup vücut ısısı, pH, mide asiditesi, çeşitli salgı maddelerinden oluşmaktadır. Üçüncü bariyer ise Fagositik Bariyer olup nötrofiller, eozinofiller, NK hücreleri ve makrofajlar gibi fagositik hücrelerden oluşur (Agerberth ve Gudmundsson, 2006).

2.1.2. Edinsel İmmünite

Doğal bağışıklık, patojenlerin ortadan kaldırılmasını hedeflese de, tanıyabileceği patojenik molekül sayısı sınırlıdır. Spesifik bir antijen veya yabancı ajan ile ilk temas, bağışıklık sisteminin efektör hücrelerini içeren bir reaksiyonlar zincirini başlatır ve bir immün hafıza durumu ortaya çıkar (Cooper ve Alder, 2006). Uyarlanabilir bağışıklık tepkileri sırasında, istilacı organizmaları yok etmek için spesifik B ve T lenfositleri aktive olur. İki tür spesifik savunma tanımlanmıştır: Bunlardan ilki B lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşümü sonucu gerçekleşen humoral immünitedir. Humoral yanıt, istilacı patojenleri diğer bağışıklık hücreleri tarafından yok edilmek üzere işaretleyen antikor adı verilen proteinlerin üretilmesiyle gerçekleşir. Hücresel immüniteyi ise başlıca T lenfositleri oluşturur. T lenfosit alt tiplerinden özellikle sitotoksik T lenfosit aracılığıyla virüs bulaşmış hücrelere, hücresel yanıt gerçekleşir. Virüsle enfekte olan hücreler, hücresel yanıt aracılığıyla öldürülür (Jenkinson ve ark., 2006; LeBien ve Tedder, 2008).

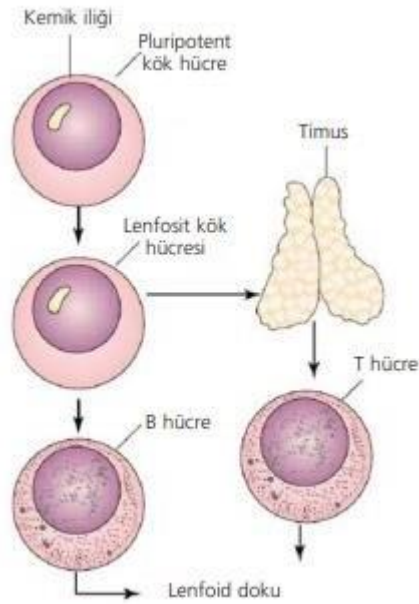
2.1.3. Lenfositler

Kandaki veya lenfteki çoğu lenfosit immünokompetan hücrelerdir (%70). Bu hücreler dolaşımı terk ederek dokulara göç ederler. Dokuların immünolojik korumasından sorumludurlar. Daha sonra sistemik dolaşıma geri dönerler. Esas lenfositler yabancı antijenleri tanıma ve yanıt verme kapasitesi olan uzun ömürlü hücrelerdir

Geri kalan lenfositler (%30) sistemik döngüye katılmaz. Bu hücreler belirli bir dokuya yönelik kısa ömürlü aktif hücrelerdir. Fonksiyonel olarak vücutta üç ana lenfosit türü bulunur. T lenfositler, B lenfositler ve doğal öldürücü hücreler (NK) (Bachmann ve Kopf, 2002).

2.1.4. T Lenfositler

Dolaşımdaki lenfositlerin %60-70'ini oluştururlar. CD 3 ve T Hücre Reseptörlerini (THR) eksprese ederler. Çok sayıda alt tipleri mevcut olup CD4 ve CD8 yüzey belirteçlerinin varlığına göre iki ana grupta sınıflandırılırlar (Takahama, 2006).



Şekil 2.1.T ve B hücre farklılaşması (Songu ve Katılmış, 2012)

Yardımcı CD4+ T lenfositler, CD4 yardımcı reseptöre sahip olan T hücreleridir. CD4+ T hücrelerinin Th1, Th2, Treg, T17 olmak üzere değişik alt grupları mevcuttur. Th1 hücreleri hücresel yanıtlarda, sitotoksik CD8 T lenfositleri (CTL'ler), NK hücreleri ve makrofajlarla etkileşime girerek hücre aracılı immüniteyi gerçekleştirir. Th2 hücreleri ise

B lenfositler ile etkileşime girerek plazma hücrelerine dönüşmesini sağlayıp salgıladıkları antikorlar aracılığıyla immüniteyi gerçekleştiren hücrelerdir (Kaminuma ve ark., 2009).

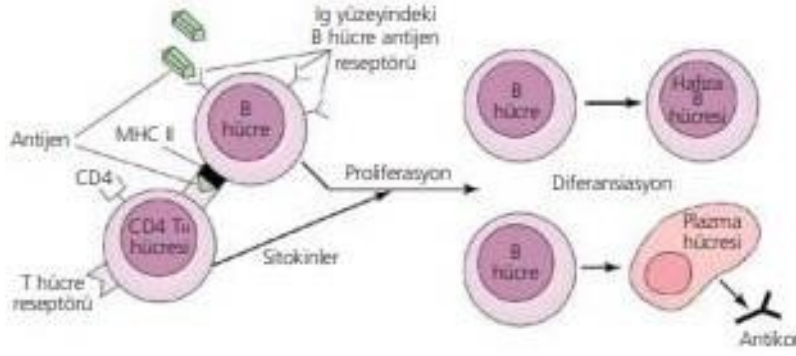
Sitotoksik CD8⁺ T Lenfositler, CD8 yardımcı reseptörü ihtiva eden T hücreleridir. Antijenleri veya enfekte olan hücreleri MHC-I aracılığıyla tanıyarak hedef hücreye saldıran lenfositlerdir (Takahama, 2006).

Yardımcı CD4⁺ T Lenfositler, CD4 yardımcı reseptörü ihtiva eden T hücreleri olup Antijen sunan hücreler tarafından kendilerine MHC-II ile sunulan antijenleri tanıyarak sitokin salınımını gerçekleştirip, sitokinler aracılığıyla B hücrelerini ve T hücrelerini aktif hale getiren hücrelerdir.

Düzenleyici T lenfositler (Treg), diğer bağışıklık hücrelerinin aktivitesini etkileyerek immün yanıtı baskılayabilen hücrelerdir. T ve B hücrelerinin aktivasyonunu baskılayarak işlev gösterirler.

2.1.5. B Lenfositler

Değişken yaşam sürelerine sahiptirler ve hümmoral immünite ile bağlantılı immün proteinler olan immünoglobulinler (Ig) olarak da adlandırılan dolaşımdaki çeşitli antikorların üretiminde ve salgılanmasında rol oynarlar. B hücreleri ayrıca hücre yüzeyinde majör histo-uyumluluk kompleksi II (MHC II) moleküllerini ifade eder. CD4⁺ T hücreleri tarafından aktive edilirler. Aktive olan B hücreleri plazma hücrelerine veya hafıza hücrelerine dönüşür (Songu ve Katılmış, 2012). Plazma hücreleri antikor salınımından sorumluyken hafıza hücreleri bir sonraki antijene karşı dokularda yerleşir (Barbero ve Ponte, 1977).



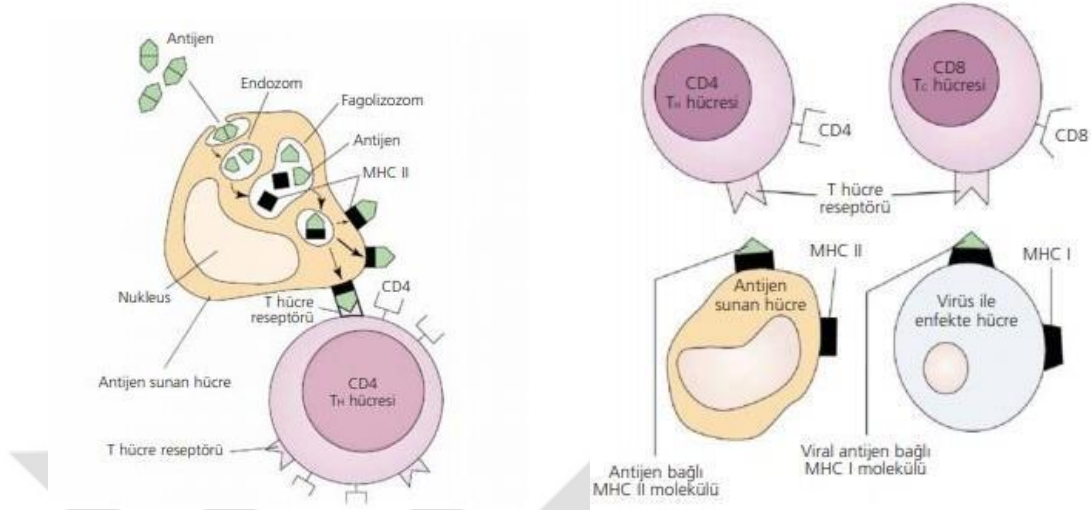
Şekil 2.2.B hücre farklılaşması (Songu ve Katılmış, 2012)

NK hücreleri, sitotoksik CD8 T lenfositlerine benzer bir şekilde hedef hücreleri öldürür. Virüsle enfekte bir hücrenin tanınmasından sonra, hücrenin plazma zarında kanallar oluşturan maddeler olan perforinler ve granzimler (fragmentinler) salgırlar ve böylece hedef hücrede apoptozu başlatarak, hedef hücrenin kendi kendisini yok etmesine neden olur (Cooper ve Alder, 2006).

2.1.6. Antijen Sunan Hücreler (APC)

APC'ler arasında makrofajlar, karaciğerin perisinüzoidal makrofajları (Kupffer hücreleri), epidermisteki Langerhans hücreleri ve dalak ve lenf düğümlerindeki foliküler dendritik hücreler bulunur.

Bir yardımcı T hücreğine bir antijen sunmak için, APC önce antijeni hücre içinde işler ve sonra antijen peptitlerini yüzeyinde görüntüler (Songu ve Katılmış, 2012). Antijen işleme, APC antijeni endositoz yaptığında ve onu 8 ila 10 amino asit peptitlerine ayırdığında başlar. APC'nin endozomal bölmesinde peptitler, MHC II moleküllerine bağlanır. Antijen-MHC II kompleksi daha sonra APC'nin plazma membranına yer değiştirir ve hücre yüzeyinde görüntülenir (Guermonprez ve ark., 2002).



Şekil 2.3. APC'lerin T Hücrelerine antijen sunması (Songu ve Katılmış, 2012)

2.1.7. Sitokinler

Sitokinler, esas olarak immün hücreler tarafından salınan küçük proteinlerdir ve immün hücreler arasındaki etkileşimi, iletişimi ve regülasyonu sağlarlar. Ayrıca sitokinler endotel ve fibroblast hücrelerinden de salınır. Sitokin genel bir isimdir; salgılanan hücre veya fonksiyonlarına göre farklı isimlendirilirler. Lenfokin (lenfositler tarafından salgılanan sitokinler), monokin (monositler tarafından üretilen sitokinler), kemokin (kemotaktik aktivitelere sahip sitokinler) ve interlökin (bir lökosit tarafından üretilip ve diğer lökositler üzerinde etkili olan sitokinler). Sitokinler hedef hücrelerine bağlı olarak onları salgılayan hücrelere (otokrin etki), yakındaki hücrelere (parakrin etki) veya bazı durumlarda uzak hücreler üzerinde (endokrin etki) etki gösterirler. İnflamatuvar süreçte iki ana grupta incelenirler. Proinflamatuvar sitokinler ve antiinflamatuvar sitokinler (J. M. Zhang ve An, 2007).

2.1.8. Proinflamatuvar Sitokinler

2.1.9. TNF

TNF, birincil olarak mononükleer fagositlerden (monositler ve makrofajlar) (TNF- α) ve lenfositlerden (TNF- β) salgılanır (Beutler ve Cerami, 1989). Mononükleer fagositlere ek olarak, TNF- α , nötrofiller, aktif lenfositler, doğal öldürücü (NK) hücreler, endotelial hücreler ve mast hücreleri tarafından üretilir. Monositler tarafından TNF'nin en güçlü indükleyicisi, toll benzeri reseptör 2 (TLR2) ve TLR4reseptörlerine bağlanan

lipopolisakkarittir (LPS). TNF- α ve TNF- β , benzer afinitelerle iki farklı hücre yüzey reseptörüne TNFR I (p55) ve TNFR II (p75) bağlanır ve benzer etkiler gösterir.

TNF ayrıca T hücreleri tarafından transmembran veya çözünür formda üretilir. T hücrelerinin aktivitesini kontrol eden önemli bir moleküldür. Ek olarak, bağışıklık tepkilerinin başlatılması sırasında T hücresi hayatta kalmasına katkıda bulunabilir. (Amit K. 2019) Bazı çalışmalar, TNFR2 aracılığıyla TNF sinyalleşmesinin, T hücre aktivasyonunun erken fazında Bcl-2, Bcl-xL ve survivin gibi anti-apoptotik moleküllerin ekspresyonunu artırabileceğini ortaya koymuştur (Pamukcu ve ark., 1976; E. Y. Kim ve ark., 2006).

TNF, hücre içi adezyon molekülü (ICAM) –1, vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) –1 ve E-selektin olarak bilinen adezyon moleküllerini indüklemek için endotel hücreleriyle etkileşime girer ve böylece granülositlerin inflamatuvar bölgelere geçişine izin verir. TNF, yapışmaya, kemotaksise ve degranülasyona aracılık eden nötrofillerin güçlü bir aktivatörüdür. Ayrıca TNF, toksik şok ve sepsisin birincil endojen aracısıdır (Tracey ve ark., 1987).

2.1.10. IL-1

Temel kaynağı aktif makrofajlardır. Dolaşıma katılan IL-1, endokrin etkiye benzer bir özellik gösterir (Terabe ve ark., 2005; Calle ve Fernandez, 2012). İki temel polipeptitten oluşur. Bunlar IL-1 α ve IL-1 β 'dir. Farklı genler tarafından kodlansa da biyolojik fonksiyonları benzerdir ve aynı reseptöre bağlanırlar. Dolaşımda IL-1 β aktivitesi daha fazladır. Otokrin etki ile makrofajlardan IL-1 salınımını artırır. Ayrıca IL-6 salgılanmasını tetikler (Loh ve ark., 2014). Endotel hücrelerini etkileyerek pıhtılaşmayı artırır. Mononükleer hücrelere etki ederek inflamasyonu başlatan kemokinlerin sentezini sağlar (Markle ve ark., 2013). IL-1 öncü protein olarak sentezlenir. Salgılanabilmesi için IL-1 Dönüştürücü Enzim (ICE) ve kaspaz 1 tarafından kesilmesi gerekir. IL-1, ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektinin up regülasyonu yoluyla lökositlerin endotelial hücre yapışmasını uyarır (Cerretti ve ark., 1992). IL-1, TNF ile birlikte ateşe neden olur. IL-1 ve TNF' nin etkileri benzerlik gösterse de bu iki sitokin arasında önemli farklılıklar vardır. Ana ayrım, TNF'nin lenfosit proliferasyonu üzerinde doğrudan bir etkisinin olmamasıdır (Dinarello ve Wolff, 1993).

IL-1, IL-2 ile kombinasyon halinde CD4+ ve CD8+ T lenfositlerin proliferasyonunu uyarır (Ben Aribia ve ark., 1987). IL-1 β sitotoksik T lenfositlerin proliferasyonunu uyarırken, CD4+ T lenfositlerinin Th1'e dönüşümünü indükler (Ben-Sasson ve ark., 2013). Yapılan başka bir çalışma da IL-1 β 'nın CD4+ T lenfositlerin Th17' ye farklılaşmalarını desteklediğini göstermiştir (Mailer ve ark., 2015).

2.1.11. IFN- γ

Hücre aracılı bağışıklıktan sorumlu en önemli sitokin IFN- γ 'dır. Özellikle T yardımcı lenfositler tarafından üretilir, ancak aynı zamanda sitotoksik T hücreleri ve NK hücrelerinden de üretilir. IFN- γ , monositler tarafından antijen sunumunu ve sitokin üretimini uyarır ve ayrıca yapışma, fagositoz, sekresyon ve nitrik oksit üretimi dahil olmak üzere monosit efektör fonksiyonlarını uyarır. IFN- γ , mononükleer fagositler üzerindeki etkilerine ek olarak, NK hücreleri ve nötrofiller tarafından öldürülmeyi uyarır. IL-1 ve TNF gibi ICAM-1'in indüksiyonu yoluyla granüositlerin endotel hücrelerine yapışmasını uyarır (Farrar ve Schreiber, 1993).

2.1.12. Anti İnflamatuvar Sitokinler

2.1.13. IL-1RA

IL-1RA, IL-1 β 'nın etkilerini, IL-1 reseptör I'e (IL-1RI) rekabetçi bağlanarak inhibe eder (Dinarello, 2011). Vücudun her yerinde geniş bir hücre ve doku yelpazesi IL-1RI'yi eksprese eder, böylece IL-1RA'nın fazla olması IL-1 β 'nın güçlü proinflamatuvar aktivitesinin zararlı etkilerini baskılamak için gereklidir (Aksentijevich ve ark., 2009). IL- 1RA ekspresyonu ve salımı, IL-1 β tarafından indüklenir, böylece IL-1 β genellikle doğal olarak oluşan antagonisti tarafından kontrol altında tutulur (Dinarello, 2011).

2.1.14. TGF- β

TGF- β 1, hematopoietik hücreler üzerinde çoklu etkileri olan çok önemli bir immünolojik düzenleyicidir. Bağışıklık sistemindeki TGF- β 1'in ana rolü, bağışıklık toleransını indüklemek, böylece otoimmün reaksiyonları önlemenin yanı sıra enfeksiyonlara veya doku hasarına karşı gerekli immün yanıtı tehlikeye atmadan inflamasyonu kontrol altına almaktır (Li ve ark., 2006). T lenfositlerin proliferasyonu, farklılaşması ve hayatta kalması üzerindeki çeşitli etkileri vardır.

Ayrıca, makrofajların aktivasyonunu baskılar (Li ve ark., 2006). B lenfositleri tarafından immünoglobulin salgılanmasını ve mononükleer fagositlerin ve NK hücrelerinin sitotoksitesini inhibe eder. Genel olarak birçok farklı hücre tipinin proliferasyonunu engeller (Chen ve ark., 2001).

2.1.15. IL-10

IL-10, on yıllardır anti-inflamatuar sitokin olarak bilinmektedir (K. W. Moore ve ark., 2001). Başlangıçta Th1 reaktivitesini inhibe eden Th2 hücrelerinin ürünü olarak tanımlanmıştır, ancak şu anda çoğu hematopoietik hücre tipine etki eden çeşitli T hücre alt grupları, B hücreleri, monositler ve makrofajlar tarafından salındığı bilinmektedir (Li ve Flavell, 2008). TGF- β 1 ile birlikte IL-10, immünolojik tolerans oluşturmada, inflammatuar yanıtları sınırlandırmada ve sona erdirmeye ve T-lenfosit aracılı immünopatolojiden korunmada önemlidir (K. W. Moore ve ark., 2001).

2.2. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) tüm dünyada en sık rastlanan endokrin hastalıklardan biridir. İnsülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin göreceli azlığı nedeniyle karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarında bozuklukların olduğu kronik hiperglisemik bir sistemik metabolizma hastalığıdır. Akut metabolik komplikasyonların yanı sıra, uzun dönemde vasküler, renal, retinal ya da nöropatik bozukluklara yol açan, morbidite ve erken mortalite riski yüksek olan bir hastalıktır (Savita ve ark., 2010). DM komplikasyonları akut ve kronik komplikasyonlara ayrılabilir (Yoon ve Jun, 2005). Bu komplikasyonlar tipik olarak, genellikle mikrovasküler ve makrovasküler hastalıklar halinde gruplanan damar hasarları ile karakterizedir (WHO, 2014). Mikrovasküler hastalıklar retinopati, nefropati ve nöropati'dir. Makrovasküler komplikasyonlar ise koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı gibi kardiyovasküler hastalıklar (CVD) ile ilgilidir (WHO, 2014). 2014 yılında, küresel DM prevalansının % 9 olduğu tahmin edilmiştir (GHE, 2015) ve DM 2015 yılında dünya genelinde yaklaşık 1,6 milyon ölüme sebep olmuştur. DM, polidipsi, poliüri, polifaji, glukozüri, açıklanamayan kilo kaybı ve bunlara eşlik eden plazma glukoz düzeyinin 200 mg/ dl üzerinde olması ve açlık plazma glukoz düzeyinin 126 mg/dl üzerinde olması ile karakterizedir.

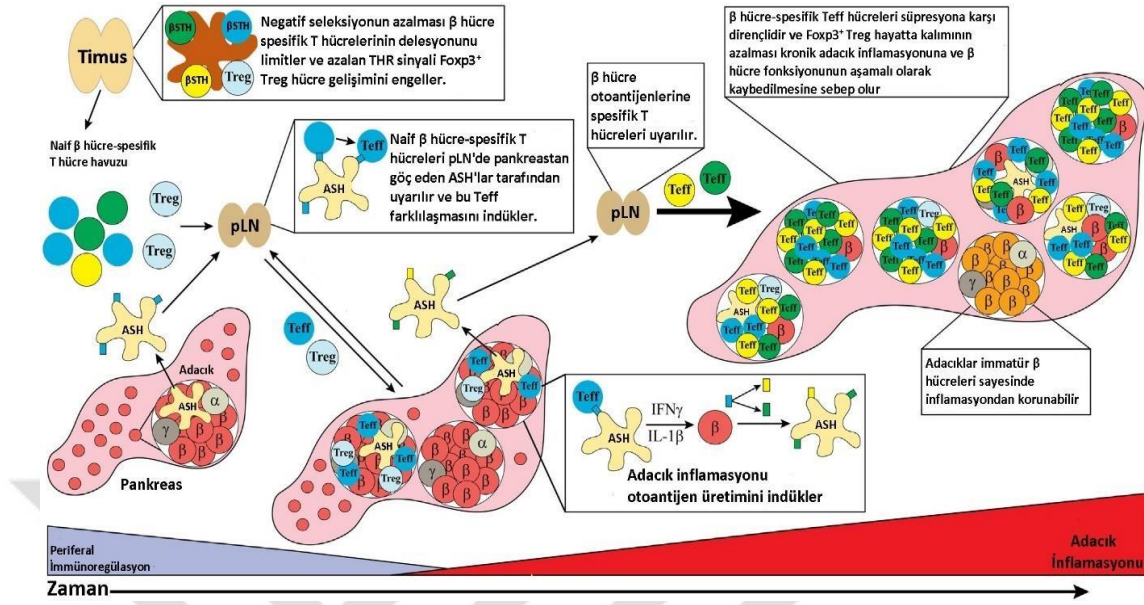
Diyabete, pankreatik β hücrelerinin dereceli olarak kaybı sonucunda yeterli insülin üretilmemesi ya da vücuttaki hücrelerin üretilen insüline karşı düzgün yanıt verememesi sebep olmaktadır. β hücrelerinin kaybına sebep olan birçok mekanizma olduğu için, hastalık oldukça kompleks bir yapıdadır. Diyabetin bilinen 3 alt tipi bulunmaktadır; otoimmün bir hastalık olarak kabul edilen T1D, obezite ve insülin direnciyle bağlantılı T2D ve gebelik sırasında gelişen Gestasyonel Diyabet (GD).

2.2.1. Tip 1 Diyabet

T1D, pankreasta bulunan β hücrelerinin kaybı sonucu yeterli miktarda insülin üretilmemesiyle oluşur (Clark ve ark., 2017). Genel olarak kronik T-hücre bağımlı otoimmün bir hastalık olarak incelenir (T1Da); T-hücre bağımsız bir T1D alt tipi de bulunmaktadır (T1Db) ve bu tip diyabet, doğal bağışıklığın efektör hücreleri tarafından düzenlenir (In't Veld, 2011). T1Da'da β hücrelerine karşı olan spesifik tolerans kaybolur ve pankreasta gelişen Langerhans adacık inflamasyonu kompleks bir hal alır. Bu inflamasyon ise hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenmektedir (Katsarou ve ark., 2017).

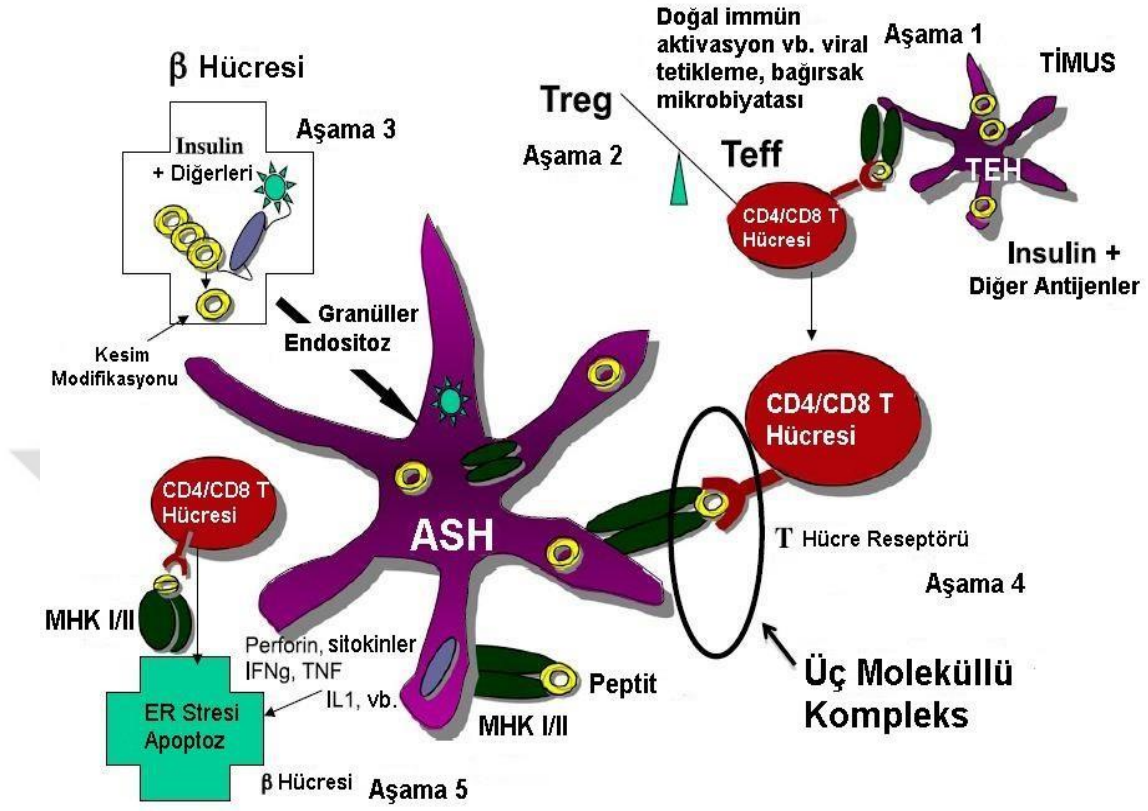
2.2.2. Tip 1 Diyabetin İmmünolojisi

Pankreasta bulunan Antijen sunan hücreler (ASH)'lar, pankreatik lenf nodlarında (pLN), timustan gelen naif T hücreleri ile karşılaşır. ASH'ların T hücreleri ile etkileşimleri sonucunda, efektör T hücre (Teff) aktivasyonu gerçekleşir. Efektör T hücreleri pankreasa giderek adacık inflamasyonunu başlatırlar. Adacık inflamasyonu sonucunda ASH'lar ve Teff'lerden salgılanan proinflamatuvar sitokinler (IL-1 β ve IFN- γ), β hücrelerinden farklı peptit salınımına neden olarak, otoantijen üretimine neden olurlar (Atkinson ve ark., 2011).



Şekil 2.4. Düzensiz timus aktivitesi sonucu oluşan adacık inflamasyonu (Atkinson ve ark., 2011).

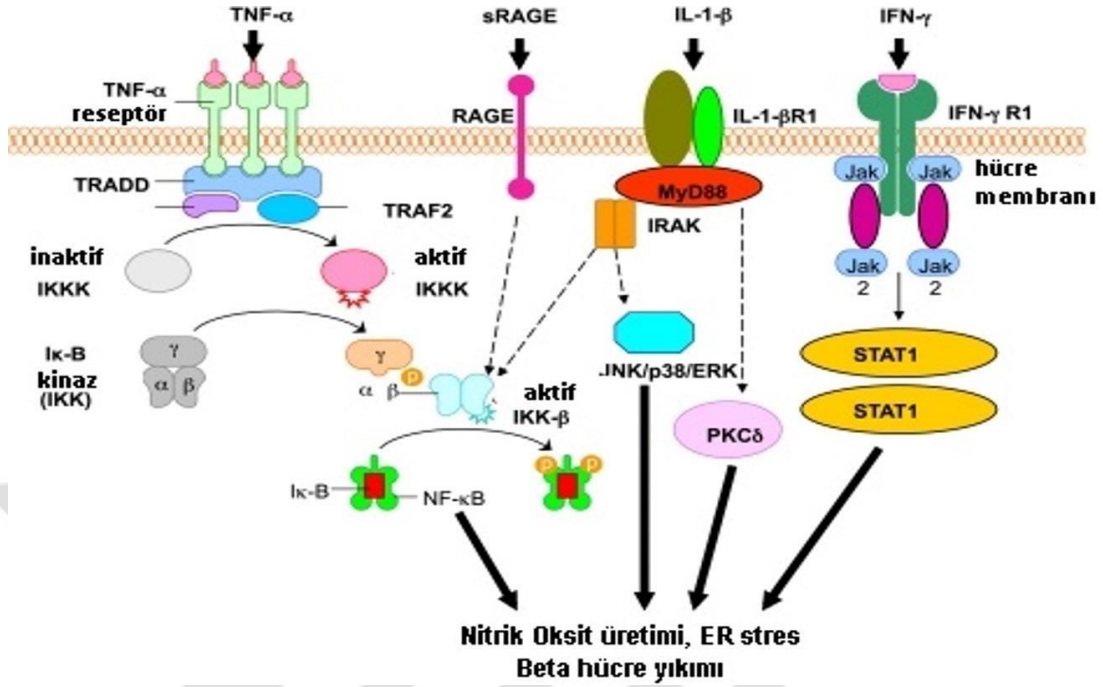
β Hücrelerinden salgılanan peptitlerin farklı kesim modifikasyonları nedeniyle, bu peptitler antijen sunan hücreler (ASH) tarafından antijen olarak tanınır. ASH'lar bu antijenleri MHC reseptörleri aracılığıyla T hücrelerine sunarlar ve böylece T hücre aktivasyonu gerçekleşir. Aktifleşen T hücreleri, proinflamatuvar sitokinler salgılayarak inflamasyonu genişletirler. Artan inflamasyonla birlikte sitotoksik T hücreleri beta hücrelerine saldırır ve β hücresi apoptozu gerçekleşir.



Şekil 2.5. Tip 1 diyabetin immün patogenezinin basitleştirilmiş modeli (Atkinson ve ark., 2011).

Tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), IL-1 β ve interferon- γ (IFN- γ), pankreas β -hücrelerinin inflamasyonunda rol alan en önemli sitokinlerdir. NF- κ B; TNF- α , IL-1 β , gelişmiş glikasyon son ürünleri için reseptör (RAGE) ve Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) dahil olmak üzere çeşitli uyarımlarla aktive edilebilir. Nükleer Faktör- κ B (NF- κ B) aktivasyonu sonucunda β hücresi hasarı oluşur. IL-1 β , immün aracılı β hücre yıkımında önemli bir rol oynayan inflamatuvar bir sitokindir. Elde edilen kanıtlar, sitokinlerin, NO üretimine yol açan indüklenabilir NO sentaz (iNOS) ekspresyonunu etkilediğini göstermektedir. IL-1 β ve IFN- γ 'nin NO sentezi ile sarko (endo) plazmik retikulum Ca $^{2+}$ + ATPase 2b (SERCA2b) protein ekspresyonunu belirgin şekilde azalttığı ve Ca $^{2+}$ + depolarının tükenmesine ve β -hücre ölümüne potansiyel bir katkıda bulunan mekanizma olan ER stres yolunu aktive ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, insulinoma (INS-1) hücrelerinin sitokin kaynaklı (IL-1 β + IFN- γ) apoptozu, NO dioksijenaz bloklayıcısı NG-metil-L-arginin kullanımıyla gösterildiği gibi NO üretimine bağlı görünmektedir. NO ayrıca, Jun NH $_2$ -terminal kinaz (JNK) aktivitesinin güçlendirilmesi ve Akt / protein kinaz B'nin baskılanması yoluyla

sitokin kaynaklı apoptoza katkıda bulunur. Oksidatif stresin T1D patogeneğinde anahtar rol oynayıp oynamadığı tartışmalı olsa da T1D hastalarında sağlıklı kontrol grubuna kıyasla azalmış antioksidan kapasite gösterilmiştir. Sitokin sinyalizasyonunu özetleyecek olursak: TNF- α , TNF reseptörü tip 1 ile ilişkili ölüm domain proteini (TRADD) ile etkileşime giren trimerize p60 reseptörleri yoluyla sinyalizasyonu sağlar. Fas-ilişkili ölüm domain proteini (FADD) daha sonra TRADD tarafından uyarılır, böylece reseptör-etkileşimli protein (RIP) ve TNF reseptörü ile ilişkili faktör 2'nin (TRAF2) reseptör kompleksine bağlanmasına izin verir. TRAF2, NF- κ B'yi; NF- κ B -indükleyici kinaz (NIK)- κ B kinaz inhibitörü (IKK) ile aktive eder ve JNK / p38 yollarını aktive eder. TNF- α , tip 1 diyabet de dahil olmak üzere birçok otoimmün hastalık ile ilişkili gibi görünen inflamatuvar bir sitokindir. TNF- α , pankreas adacıkları içerisinde yerleşik makrofajları aktive edebilir ve böylece, iNOS ekspresyonu üreten ve β hücrelerinde NO'nun aşırı üretimine neden olan IL-1 β 'nin salınmasını sağlayabilir. CD4⁺ CD25⁺ T hücrelerinin sayı ve fonksiyonundaki değişiklikler, TNF- α 'nın obez olmayan fare modellerinde tip 1 diyabete neden olabilir. NF- κ B 'nin aracılık ettiği RAGE'nin rolü tam olarak açıklanamamıştır, ancak RAGE, monositlerden TNF- α gibi inflamatuvar mediyatörlerin üretilmesinde önemli bir aracı olabilir. Hiperglisemiye cevap olarak artan RAGE ekspresyonunun doğal ve hatta adaptif immün yanıtların aktivasyonuna yol açması ve β -hücre hasarını arttırması mümkündür. IL-1 β 'nin IL-1 β R1'e bağlanmasından sonra, Miyeloid farklılaşma birincil yanıt 88 (MyD88) reseptör kompleksine geri alınır. MyD88, interlökin-1 reseptör ilişkili kinaz (IRAK) ile etkileşime girerek IRAK'ın TNF reseptör ilişkili kinaz (TRAF)'a bağlanmasına izin verir. TRAF6, mitojenle aktive olan protein kinaz / stresle aktive olan protein kinazın aktivasyonuna ve NF- κ B yolağının TGF β ile aktive edilmiş kinaz 1'in (TAK1) aracılı aktivasyonuna sebep olur. IL-1 β ayrıca, muhtemelen fosfolipaz C'nin diaçilgliserol üretimi yoluyla protein kinaz C-d'nin (PKC-d) aktivasyonunu da uyarır (Newgard ve McGarry, 1995; Deeney ve ark., 2000; Atkinson ve ark., 2011).



Şekil 2.6. Tip 1 diyabette pankreas β -hücrelerinde inflammatuar mediatörlerin aktivasyonu. (Atkinson et al., 2011)

T1D'nin patogeneğinde $CD4^+$ yardımcı ve $CD8^+$ sitotoksik T hücrelerinin fonksiyonel sinerjisi mevcuttur. Ayrıca bu hücreler sitokin üretimi, potansiyel patojenik yanıt ve hastalık gelişimi için esansiyel bir konumdadır (Pugliese, 2017). Pankreas adacık $CD8^+$ T hücreleri perforin, granzim B ve Fas-FasL aracılı öldürme mekanizmaları ile β hücre yıkımına aracılık ederler (Roep, 2003; Pang ve ark., 2009). Diğer taraftan pankreas adacık $CD4^+$ T hücreleri proinflammatuar sitokin salınımı ile β hücre ölümüne yol açmaktadırlar. Diyabetik hastalarda $CD8^+$ T hücrelerinin baskın olduğu tespit edilmiştir (Roep, 2003; Coppieters ve ark., 2012). Yine $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücrelerinden salgılanan interferon- γ (IFN- γ), diğer T, B ve doğal bağışıklık hücrelerinin kemotaksisini indüklemekte ve pankreas adacıklarında bulunan antijen sunan ve stromal hücrelerden proinflammatuar sitokin salınımını uyarmaktadır (Pang ve ark., 2009). IFN- γ , tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve interlekin 1 β (IL-1 β) ile β hücre apoptozunu da indüklemektedir (Cnop ve ark., 2005; Yoon ve Jun, 2005).

T1DM hastalarında otoimmün süreç dört fazda gerçekleşmektedir;

1- çevresel faktörlere maruziyet,

2-T hücrelerinin uyarılması,

3- T hücrelerinin farklılaşması,

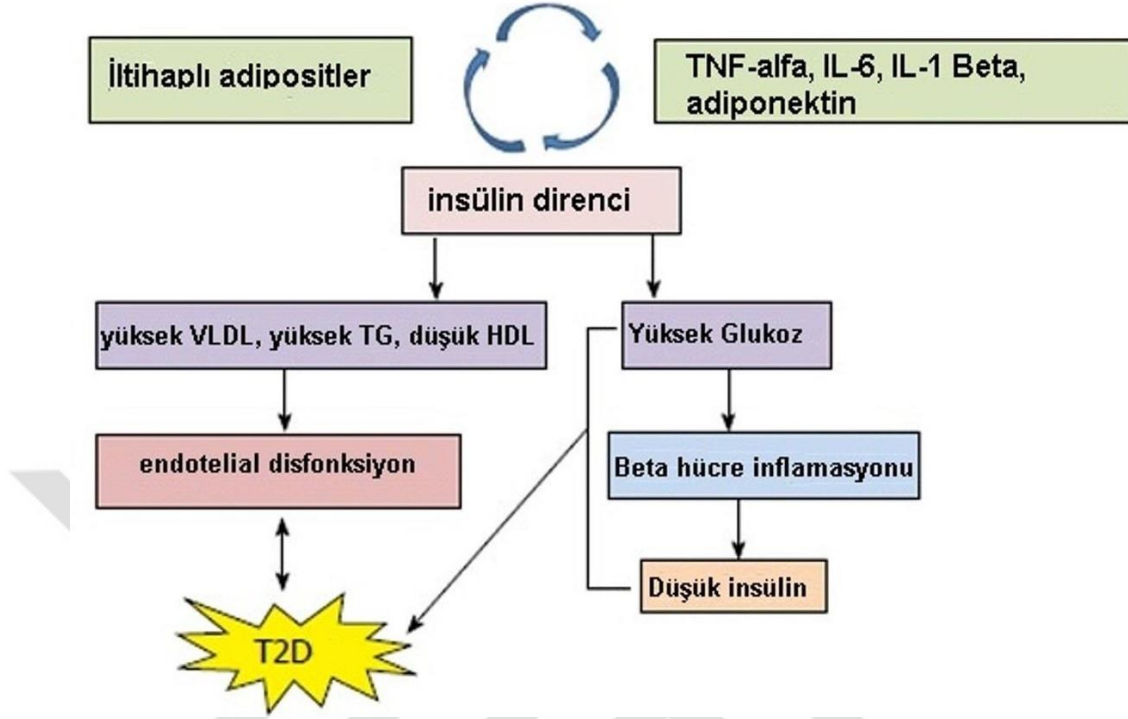
4- β hücrelerinin haraplanması (Alemzadeh ve ark., 2004).

2.2.3. Tip 2 Diyabet

T2D; yüksek kan şekeri, insülin direnci ve insülin yetmezliği ile karakterize olan bir diyabet formudur. Hastalığın insidansı yaşla, obeziteyle, fiziksel aktivite yetersizliğiyle ve sağlıksız diyetlerle beraber artmaktadır. Hastalığın en önemli tetikleyicisi obezite ve obeziteye bağlı olarak yağ dokusunun (adipoz doku) aşırı derecede artmasıdır. Obezite dışında sağlıksız diyetler de insülin direnci ve T2D'nin temel nedenlerini oluşturmaktadır (Engelgau ve ark., 2004; Leahy, 2005). Karbonhidrat ve lipid mekanizmalarında görülen bozulmalar obezite, ateroskleroz ve T2D ile bağlantılıdır (Festa ve ark., 2000; Festa ve ark., 2002; Freeman ve ark., 2002; Duncan ve ark., 2003; Pradhan ve ark., 2003).

2.2.4. Tip 2 Diyabetin İmmünolojisi

Çeşitli çevresel faktörlerin yanı sıra, son 20 yıl içinde inflamatuvar süreç ve mekanizmalarının T2D başlangıcından yıllar önce başladığı ve düşük seviyede seyreden bu inflamasyonların T2D patojenezinde rol aldığına dair çalışmalar yapılmıştır. (Han ve ark., 2002; Pradhan ve Ridker, 2002; Biondi-Zoccai ve ark., 2003; Bloomgarden, 2003; Fernandez-Real ve Ricart, 2003; Dandona ve ark., 2004; Pittas ve ark., 2004; Dandona ve ark., 2005). Akut-faz inflamatuvar yanıt ve doğal immün sistem aktivasyonunun insülin direnci, dislipidemi, hipertansiyon, ateroskleroz ve obeziteyle olan bağlantıları (Pickup ve Crook, 1998) düşünüldüğünde, inflamatuvar sistemin T2D ile kuvvetli bir ilişkisi olduğunu söylemek mümkündür. TNF- α , insülin reseptörünün tirozin kinaz aktivitesini bozarak insülin direncine neden olur (Pickup ve Crook, 1998). Yine inflamasyon ve insülin sinyal yolağı arasındaki benzer moleküler mekanizmalar T2D gelişimi ve ilerlemesinde inflamasyonun rolünü göz ardı edilemez hale getirmektedir (Rotter ve ark., 2003). Pankreastaki Langerhans adacıklarında bulunan, vücudumuzun insülin üretiminden sorumlu β hücrelerinin kaybı da T2D gelişimine katkıda bulunmaktadır (Beutler, 2004). İnflamatuvar sistem molekülleri, T2D'deki metabolik bozulmalara yol açmakla beraber (Pickup, 2004; Kolb ve Mandrup-Poulsen, 2005), β hücrelerinin fonksiyonlarının bozulmasına ve sonuç olarak β hücre kaybına neden olmaktadır (Donath ve ark., 2003; Beutler, 2004).

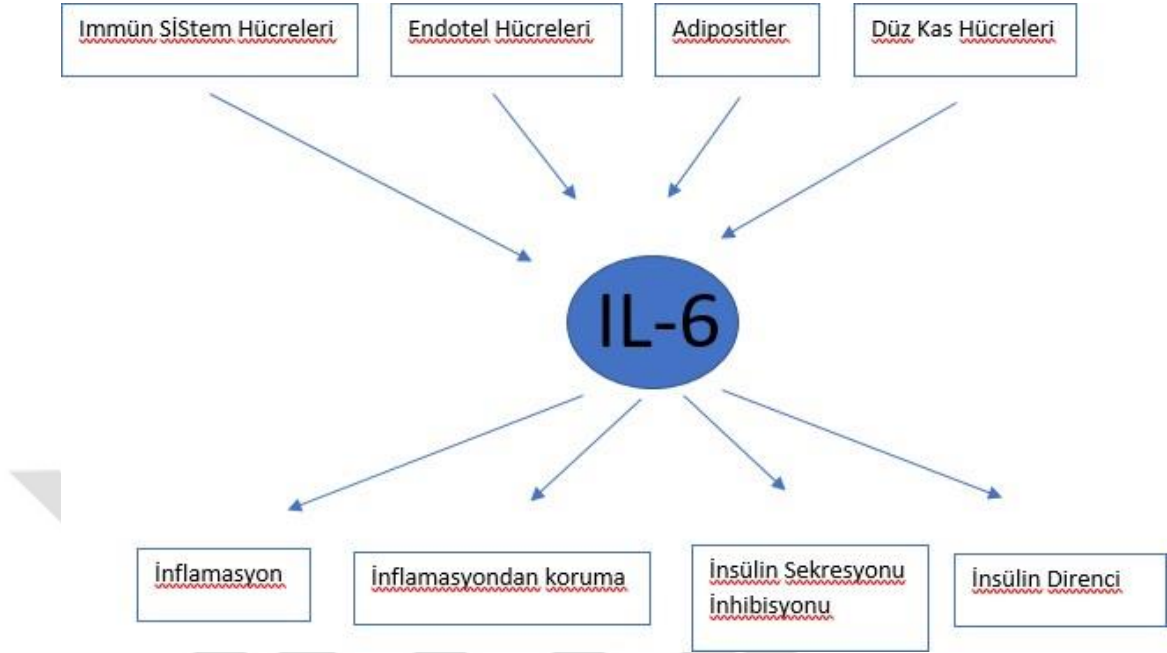


Şekil 2.7. T2D patogenezi etkileyen faktörlerin şematik gösterimi (Banerjee ve Saxena, 2014).

T2D'nin en büyük nedenlerinden biri olan obezitede adipoz doku miktarı aşırı bir artış gösterir. Adipoz doku endokrin, otokrin ve parakrin özellik gösteren bir dokudur ve proinflamatuvar mediyatörleri salgıladığı daha önce gösterilmiştir (Hotamisligil ve ark., 1993; Y. Zhang ve ark., 1994; Fried ve ark., 1998; Meier ve ark., 2002). Salgılanan bu proinflamatuvar mediyatörlerin (adipokin) obezitede artış gösterdiği ve insülin direnciyle bağlantılı olduğu bilinmekle beraber; bu moleküllerin T2D'de görülen β hücre yıkımına aracılık ettiği düşünülmektedir. Adipoz dokudan salgılanan adipokinler arasında tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-6 (IL-6), C reaktif protein (CRP) ve adiponektin bulunmaktadır (Pickup ve Crook, 1998). Bu adipokinler beyin ve periferel organlarla beraber enerji homeostazisini ve metabolizmayı düzenlemekle görevlidirler. Bu sitokinlerden TNF- α , IL-6 ve CRP; karaciğerde üretilen akut-faz proteinlerinin artışına ve β hücrelerinin sekretuar fonksiyonunun bozulmasına yol açmaktadır (Dandona ve ark., 2004). Adipoz dokuda bulunan makrofajların da obez hastalarda arttığı ve inflamasyon sürecine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Weisberg ve ark., 2003; Xu ve ark., 2003). Bu makrofajlar proinflamatuvar faktörlerin asıl kaynağıdır ve adipositlerden salgılanan adipokinleri düzenlediği düşünülmektedir (Xu ve ark., 2003). Matür adipositleri oluşturan preadipositlerin makrofajlara transdiferansiye olabilmesi (Wellen ve Hotamisligil, 2005)

ve genel olarak makrofajlar ve endotel hücrelerinden salgılanan monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) faktörünün adipositlerce de salgılandığı (Gerhardt ve ark., 2001; Christiansen ve ark., 2005) göz önüne alındığında, inflamasyon ile T2D arasındaki bağ daha da güçlenmektedir (Banerjee ve Saxena, 2014).

TNF- α ve IL-6 majör adipokinler olarak varsayılmaktadır ve iki molekül de insülin sinyal yolağında bozulmaya yol açarak insülin direncine sebep olmaktadır (Peraldi ve Spiegelman, 1998; Fernandez-Real ve Ricart, 2003; Ruan ve Lodish, 2003; Senn ve ark., 2003; Dandona ve ark., 2005). TNF- α ekspresyonu obezitede oldukça fazladır. IL-6 ise immün sistem hücreleri, endotel hücreleri, adipositler, düz kas hücreler gibi pek çok tip hücreden salgılanmaktadır. Edinilmiş ve doğal bağışıklık sisteminde IL-6 hem inflamasyon amplifikasyonu hem de inflamasyondan korunma görevlerine sahiptir (Jones ve ark., 2001; Kamimura ve ark., 2003). IL-6'nın hipertrigliseridemide ekspresyonunu arttırdığı ve lipolizi arttırdığı; aynı zamanda glukoz-bağımlı insülin sekresyonunu inhibe ettiği hayvan modellerinde gösterilmiştir (Sandler ve ark., 1990; Southern ve ark., 1990; Wadt ve ark., 1998; Choi ve ark., 2004). Ancak yine de IL-6'nın insülin direncindeki rolü tartışmalıdır (Carey ve Febbraio, 2004). Adiposit hücrelerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda IL-6'nın insülin direncine sebep olduğu gösterilmiştir (Stouthard ve ark., 1996; Lagathu ve ark., 2003; Rotter ve ark., 2003). Genel olarak IL-6 seviyelerinin artmasının, GLUT-4 inhibisyonu aracılığıyla insülin duyarlılığının düşmesine sebebiyet verdiği gözlenmiştir (Strassmann ve ark., 1993).



Şekil 2.8. IL-6, ve T2D oluşumu şematik gösterimi.

İnflamasyon artışıyla bağlantılı olarak, kanda dolaşan inflamatuvar faktörlerin bir diğer kaynağı, kanda bulunan mononükleer hücrelerdir. Obezlerde periferik kan mononükleer hücrelerinin (PKMH) inflamasyona yatkın bulunduğu, proinflamatuvar sitokin ekspresyonunda artış gözlemlendiği, nükleer faktör κ B (NF- κ B) ile düzenlenen proinflamatuvar gen transkripsiyonunun arttığı (Ghanim ve ark., 2004) ve majör bir NF- κ B elemanı olan p65 (Rel A) proteinin intranükleer ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Yine bu hücrelerde NF- κ B inhibitörü olan inhibitör κ B (I κ B) β ekspresyonunun oldukça azaldığı bildirilmiştir (Dandona ve ark., 2005).

Bazı T2D vakalarında β hücre yıkımının sebebinin otoantikorlar ile bağlantılı olarak IL-1 β , TNF- α ve IFN- γ aracılı olduğu düşünülmektedir (Donath ve ark., 2003). Bu 3 faktörün sinerjik olarak çalıştığı ve β hücre apoptozuna neden olduğu T1D’de gösterilmiştir (Atkinson ve ark., 2011). T2D’de de nadir görülmekle beraber bu sistemin bulunması, T1D ile T2D arasındaki olası bir bağlantıya işaret etmektedir.

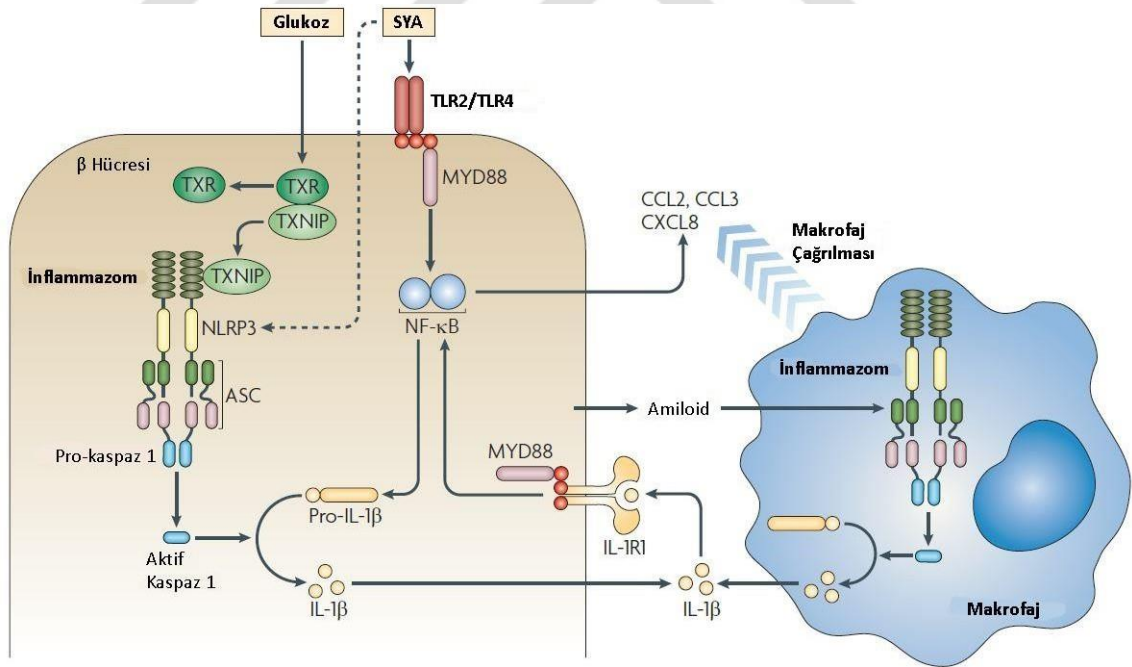
Genom çapında yapılan çalışmalarda T2D ile alakalı olabilecek 19 adet gen tespit edilmiştir (McCarthy ve Zeggini, 2009). Bu genlerin frekanslarının hasta bireylerde

normalden fazla olduğu, ancak tek başına T2D riskini arttırmaya olan katkılarının ortalama derece olduğu görülmüştür.

Proinflamatuvar sitokinlerin, insülin ve glukoz homeostazının düzenlenmesindeki rolü yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Pickup ve ark., 1997). IL-6, CRP ve fibrinojen düzeyleri, sağlıklı ancak sonradan diyabet olan hastalarda; sağlıklı kontrollere göre oldukça artmıştır (Pradhan ve ark., 2001; Festa ve ark., 2002; Thorand ve ark., 2003; Meigs ve ark., 2004; Thorand ve ark., 2007). Dahası, hayvan modellerinde dışarıdan TNF- α ve IL-6 verilmesi insülin direncine sebep olmuş (Hotamisligil, 2006; Krogh-Madsen ve ark., 2006), anti-TNF- α ajanlarıyla muamele ise insülin duyarlılığını ve glukoz homeostazını arttırmıştır (Kiortsis ve ark., 2005). Ancak T2D ile inflamatuvar faktör salınımı arasındaki mekanizmalara hala tam anlamda ışık tutulamamıştır. Makrofajlarda, adipositlerde, antijen sunan B hücrelerinde ve dendritik hücrelerde bulunan patern-tanım reseptörleri (PRR), Toll-benzeri reseptörler (TLR) gibi reseptörler, mikrobiyal komponentlerin (bakteriyel lipopolisakkarit) (Pickup, 2004) ya da besin faktörlerinin (serbest yağ asitleri) (Beutler, 2004; Shi ve ark., 2006; Song ve ark., 2006; Bilan ve ark., 2009) bağlanması sonucu aktive olmaktadır. PRR'lere bağlanma sonucu NF- κ B ve aktivatör protein-1 (AP-1) aktivasyonunu gerçekleştiren transkripsiyonel olaylar sonucunda inflamatuvar yanıt oluşmaktadır (Takeda ve Akira, 2004). Aktivasyon sonucu bu intrasitoplazmik moleküler kaskadlar, proinflamatuvar sitokin transkripsiyonunu (Medzhitov ve Janeway, 2000) ve akut-faz inflamatuvar mediyatörlerin (Baumann ve Gauldie, 1994; Steel ve Whitehead, 1994; Gabay ve Kushner, 1999) sentezini ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve NF- κ B kinaz- β inhibitörünün (IKK) aktivasyonunu sağlamaktadır. Karaciğer ve adipoz dokuda, bu iki molekül, insülin reseptörünün (INSR) ilk hedefi olan IRS-1'i inaktive etmekte ve insülin sinyalinin kaybına yol açmaktadırlar (Aguirre ve ark., 2000; Montecucco ve ark., 2008). Bu moleküler bağlantıların insülin homeostazının disregülasyonuna sebep olduğu düşünülmektedir.

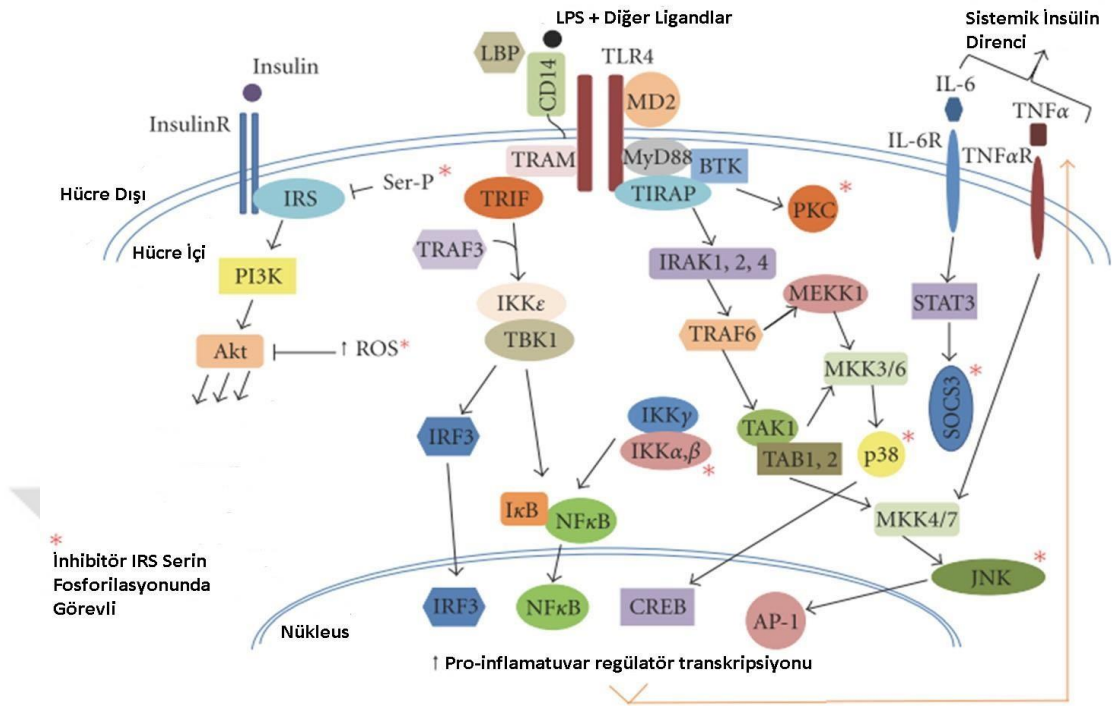
Pankreas adacıklarında inflamasyon sürecinin başladığına dair en erken kanıt, hipergliseminin β hücre apoptozunu indüklediğidir (Donath ve ark., 1999). Bu mekanizma incelendiğinde, yüksek glukoz konsantrasyonlarının proapoptotik bir reseptör olan FAS (CD95) ekspresyonunun β hücrelerinde indüklendiği (Maedler ve ark., 2001) ve bu olayın

β hücrelerinin glukoz tarafından indüklenerek IL-1 β üretmesiyle upregüle olduğu gösterilmiştir . Böylece IL-1 β ve FAS, hem β hücrelerinin glukoz-indüklü sekretuar fonksiyonunun bozulmasına hem de apoptozuna katkıda bulunmaktadır (Maedler ve ark., 2001). Glukoz-indüklü IL-1 β üretiminin ise NOD-, LRR- ve pirin domain-içeren 3 (NLRP3 ya da NALP3) inflamazom mekanizması üzerinden gerçekleştiği düşünülmektedir. Yüksek konsantrasyondaki glukoz ve reaktif oksijen türleri (ROS), tiyoredoksin ile etkileşen proteinin (TXNIP) tiyoredoksinden ayrılmasını ve TXNIP'ın NLRP3 inflamazomuna bağlanmasını sağlamakta ve bu kaspaz 1 aktivasyonuna sebep olmaktadır. Sonuç olarak aktive olan kaspaz 1 pro-IL-1 β 'yi IL-1 β 'ya keserek/işleyerek matür IL-1 β üretimi sağlanmaktadır (Zhou ve ark., 2010). IL-1 β ile alakalı bu mekanizmalar, otoinflamasyon döngüsü ile amplifiye olabilir. Özellikle, izole edilen insan β hücrelerinin IL-1 β otostimülasyonuna oldukça duyarlı olduğu bilinmektedir (Bonis-Schnetzler ve ark., 2008).

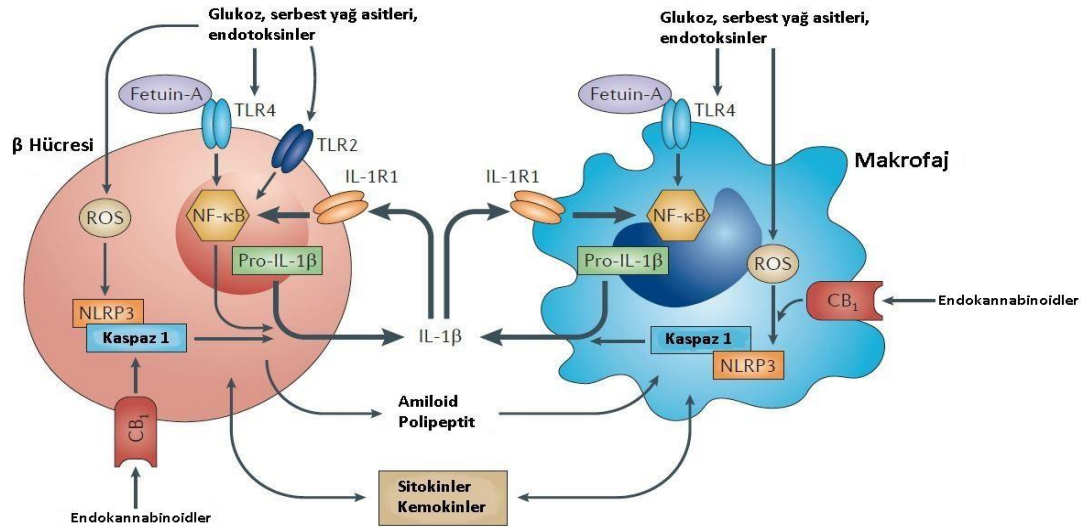


Şekil 2.9. Yüksek glukoz konsantrasyonları, tiyoredoksin-etkileşimli proteinin (TXNIP), inhibitörü olan tiyoredoksinden (TXR) ayrışması yoluyla β - hücrelerinden interlekin - 1 β (IL - 1 β) üretimini teşvik eder, NOD-, LRR- ve pirin domain 3 inflamazomunun (NLRP3) aktive edilmesine neden olur, kaspaz 1 aktivasyonu ve pro-IL-1 β 'in kesilerek IL-1 β üretimi sağlanır. IL-1 β , CC faktör kemokin ligand 2 (CCL2), CCL3 ve CXCL8 gibi çok çeşitli sitokin ve kemokinlerin üretimini nükleer faktör - κ B (NF- κ B) aktivasyonu ile indükler. Bu, serbest yağ asidi-indüklü (FFA) Toll benzeri reseptör 2 (TLR2) veya TLR4'ün aktivasyonunu artırır ve makrofajların ortama çağırılmasına yol açar. FFA'lar ayrıca NLRP3 inflamazomunu doğrudan aktive edebilir. Adacık - türevli amiloid, NLRP3 inflamazomu yoluyla ortama çağırılan makrofajları aktive ederek IL-1 β üretimini ve IL-1 reseptör tip 1 (IL-1R1) yoluyla IL-1 β otostimülasyonunu artırabilir (Donath ve Shoelson, 2011).

Pankreas adacıklarındaki IL-1 β ekspresyonunu düzenleyen başka moleküller ve mekanizmalar da bulunmaktadır. Örneğin serbest yağ asitlerinin (oleat, palmitat ve stearat vb.) *in vitro* ortamda insan ve sıçan pankreas adacık hücrelerinde IL-1 β ve IL-1 β -bağımlı proinflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Boni-Schnetzler ve ark., 2009; Ehses ve ark., 2010). Glukoz, serbest yağ asidi gibi besin-kaynaklı IL-1 β aktivasyonu oldukça komplekstir. Serbest yağ asitleri direkt olarak TLR2 ve TLR4 aktivasyonu ile ya da indirekt olarak seramid gibi metabolitler ile proinflamatuvar molekül üretilmesini uyatabilmektedir (Lee ve ark., 2001; Lee ve ark., 2004; Haversen ve ark., 2009; Ehses ve ark., 2010) (Figür X3). İnflamasyon sinyallerine ek olarak serbest yağ asitlerinin de insülin direncini uyardığı hakkında güçlü kanıtlar bulunmaktadır. İskelet kası arterine serbest yağ asidi enjeksiyonu sonrası protein kinaz C (PKC)- θ ve JNK aktivasyonu indüklenmiştir (Hotamisligil, 2006; Montecucco ve ark., 2008; Bilan ve ark., 2009). PKC- θ , JNK gibi IRS-1 ve insülin sinyalini inaktif hale getirebilir (Montecucco ve ark., 2008). Bunu IRS-1'in sinyal-taşıyan tirozin fosforilasyonunu azaltan serin fosforilasyonu sayesinde gerçekleştirir. Dahası, JNK ve IKK'nin sitokin-aracılı transkripsiyonel upregülasyonu AP-1 ve NF- κ B ekspresyonunu arttırmaktadır ve TNF- α aktivasyonuna sebep olup lokal ve sistemik inflamatuvar yanıtın daha da artmasını sağlamaktadır (Hu ve ark., 2006).



Şekil 2.10. TLR4 sinyal yollarının şematik gösterimi. MyD88 / TIRAP ve TRAM / TRIF yollarının aktifleştirilmesi yoluyla TLR4'ün sinyal iletimi, doğal bağışıklık tepkilerini kuvvetlendirir ve IRS'nin serin fosforilasyonu yoluyla insülinin sinyal iletimini engeller. (J. J. Kim ve Sears, 2010).



Şekil 2.11. Tip 2 diyabette adacık iltihabı. Pankreas adacık hücrelerinin yüksek konsantrasyonlarda glukoz ve serbest yağ asitlerine uzun süre maruz kalması adacık hücresi metabolik aktivitesini artırarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) artmasına neden olur. Bu NLRP3 (NOD-, LRR- ve pirin domaini içeren 3) inflamazomunun ve kaspaz 1'in aktivasyonunu artırır, böylece olgun interleukin-β (IL - 1β) üretilmesini sağlar. Bakteriyel hücre duvarından salgılanan lipopolisakaritler (endotoksinler) veya Fetuin - A'ya bağlanan serbest yağ asitleri, Toll benzeri reseptör 2 (TLR2) ve TLR4'ü aktive eder; Endokannabinoidler ayrıca inflamazomu kannabinoid 1 reseptörü (CB1) ile aktive edebilirler. IL - 1β otostimülasyonu inflamasyonu artırır. IL - 1β, immün hücrelerin ortama göç etmesine yol açan çeşitli sitokinlerin ve kemokinlerin ekspresyonunu indükler. Makrofajlar daha sonra insan adacık amiloid polipeptidi, yüksek seviyelerde glukoz, serbest yağ asitleri, endotoksinler ve endokannabinoidler tarafından aktive edilebilir, bu da zararlı IL-1β konsantrasyonu oluşmasına yol açar (Donath, 2014).

İlginç olarak, pankreas adacıklarında görülen amiloid birikimi T2D'nin bir belirticidir ve amiloid polipeptidinin NLRP3 inflamazom aracılığıyla IL-1 β üretimine katkıda bulunması olasıdır (Donath, 2014). Ancak amiloid polipeptidinin sadece makrofajlarda IL-1 β salınımını indüklediği, amiloid birikimi için oldukça uzun süreli (yaklaşık 1 yıl) yüksek yağ içerikli beslenmeye gerek olduğu ve adacık inflamasyonu daha kısa sürede (yaklaşık 8 hafta) (Ehses ve ark., 2010) kendini gösterdiği için amiloid polipeptit-aracılı IL-1 β salınımının adacık inflamasyonunun geç evrelerinde olduğu düşünülmektedir. İnflamazomun metabolik tehlike sensörü olarak davrandığı düşünülürse, inflamazom aktivasyonu sonucunda birçok inflamatuvar molekülün sentezinin uyarılması olası bir sonuçtur.

SİTOKİN TİPİ	METOT	SONUÇ	REFERANS
IL-1 β	Pankreas adacık hücre kültürüne farklı konsantrasyonlarda D-Glukoz verildi. ELISA yapıldı	Glukoz konsantrasyonu arttıkça IL-1 β sitokin seviyesi arttı (ELISA)	(Maedler ve ark., 2002)
IL-1 β	10 T2D, 9 kontrol kadavra donörlerden izole edilen β hücreleri hücre kültüründe incelendi. Koşullu medyumlarına ELISA yapıldı	T2D hastalarından izole edilen β hücrelerinin koşullu medyumunda IL-1 β sitokin seviyesi yüksekti (ELISA)	(Boni-Schnetzler ve ark., 2008)
IL-1 β	İnsan kadavra pankreas dokusundan izole edilen pankreas adacık hücre kültürüne farklı konsantrasyonlarda D-Glukoz verildi. qPCR ile mRNA seviyesi incelendi	Glukoz konsantrasyonu arttıkça IL-1 β mRNA seviyesi arttı (qPCR)	(Igoillo-Esteve ve ark., 2010)
TNF- α	18 T2D, 21 kontrol kadavradonörlerden pankreas adacık hücreleri izole edildi Kültür ortamında yaklaşık 3 gün kültüre edildi. Koşullu medyumlarına ELISA yapıldı	T2D hastalarından izole edilen β hücrelerinin koşullu medyumunda TNF- α sitokin seviyesi yüksekti (ELISA)	(Butcher ve ark., 2014)
TNF- α	10 diyabetik 10 kontrol farenin serumu incelendi. ELISA yapıldı	Diyabet farelerde kontrol farelere göre TNF- α sitokin seviyesi arttı	(Heba ve ark., 2012)
TNF- α	25 T2D ve 10 kontrol donörün serumu incelendi. ELISA yapıldı	T2D hastalarında kontrole kıyasla TNF- α sitokin seviyesi arttı	(Qasim ve ark., 2018)

Tablo 2.1. Diyabetin TNF- α ve IL-1 β sitokinlerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar ve sonuçları

2.3. Stevia Reabudiana

Stevia rebaudiana Berton (SR), Paraguay'ın kuzeydoğusunda bulunan Asteraceae ailesine ait bir bitkidir. Son bilgiler, bu türün Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Çin, Japonya ve Avrupa'nın bazı bölgeleri gibi diğer ülkelere de yayıldığını gösteriyor. Ülkemizde de başta Antalya olmak üzere birçok bölgede yetiştirilmeye başlanmıştır. Stevia cinsinde yaklaşık 230 tür bitki olmasına rağmen, sadece *S. rebaudiana* ve *S. phlebophylla* türleri, steviol glukozitleri (SG'ler) içerdiğinden dolayı tatlıdır (Brandle ve

Telmer, 2007).

Stevia'nın kurutulmuş yaprakları, normal sakkaroz'dan yaklaşık 300 kat daha tatlı olmasına karşı kalori değeri sadece 2,7 kcal / g'dır (Brandle ve Telmer, 2007) . Artan sakkaroz tüketimi sağlık sorunlarına yol açmaktadır, bu nedenle düşük kalorili tatlandırıcıların tüketimi giderek daha fazla teşvik edilmektedir (Brandle ve Telmer, 2007). Diğer tatlandırıcılar (sakkaroz ve yapay tatlandırıcılar) ile karşılaştırıldığında, Stevia'nın besin değeri yüksek ve sağlık üzerinde faydalı bir etkisi vardır. Ek olarak, Stevia yaprakları diğer tatlandırıcılara kıyasla mükemmel işlevsel özelliklere sahiptir. Stevia'nın diğer yapay tatlandırıcılar gibi nörolojik veya böbrek yan etkileri yoktur. Stevia, diğer çok yönlü kullanımlarına ek olarak, mantar önleyici ve bakteri önleyici özelliklere sahiptir. Diyabetik hastalar için, ayrıca gargaralar ve diş macunları gibi günlük kullanım ürünlerinde güvenle kullanılmaktadır (Atteh ve ark., 2008).

2.3.1. Stevia Rebaudiana'nın Biyokimyasal Bileşenleri

Günümüzde birçok ülkede SR tatlandırıcı olarak ticari amaçla yetiştirilmektedir. Bununla birlikte, sağlığa yararlı özellikler sağlayan başka bileşikler (fitokimyasallar dahil) içerir (Atteh ve ark., 2008). Bu bitkinin tatlılığından sorumlu olan bileşikler 1931'de Fransız kimyagerler M. Bridel ve R. Lavieille'in steviol glukozitleri izole ettiği zaman rapor edilmiştir. Bu bileşiklere stevioside ve rebaudioside adı verildi ve gıda endüstrisi tarafından tatlandırıcılar olarak kullanıldı (Lemus-Mondaca ve ark., 2012). Stevioside ve rebaudioside A (en tatlı bileşik) yaprakların %5-10'unu ve %2-4'ünü (kuru bazda) temsil eder. Rebaudiosides B, rebaudiosides C, rebaudiosides D, rebaudiosides E, rebaudiosides F, dulcoside A, rubusoside ve steviolbioside gibi diğer azınlık glukozitleri de vardır. Rebaudioside A, gıda endüstrisi tarafından sakkaroz'un yerine kullanılır, oysa steviosid, diyabet, obezite, çürük önleme ve atardamar basıncının azalmasının tedavisi için terapötik uygulamalara sahiptir (Barriocanal ve ark., 2008).

2.3.2. *Stevia rebaudiana* Bertoni'nın Diabetes Mellitus ile ilişkisi

Bugüne kadar, bilinen 150 *Stevia* türünden, *Stevia rebaudiana* Bertoni, kendine has tadıyla türünün tek örneğidir (Savage ve ark., 2007). Ayrıca, bu bitki tedavi edici nitelikleri nedeniyle diyabeti tedavi etmek için Paraguay ve Brezilya'nın Guarani Kızılderililer tarafından kullanılmıştır (Debnath ve ark, 2008). Bitkinin yaprakları belirgin bir şekilde tat vermesine rağmen, kalori içermezler (Cekic ve ark., 2011), β -karoten, tiamin, austroinulin, riboflavin, çeşitli terpenler ve flavonoidler gibi metabolitleri bakımından zengindirler (Wang ve ark., 2012). Bu sıfır kalorili özellik, kan şekeri seviyesini yükseltmeyeceğinden obezite ve diyabet hastası olan hastalar için de faydalı olabilir (Konoshima ve ark, 2002). Genel olarak, dünya çapındaki araştırmacılar SR'nın antidiyabetik etkileri konusunda hemfikirdir; ancak etkilerin bu metabolik hastalıkla mücadeleye nasıl katkıda bulundukları konusunda farklı fikirler sunarlar. *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisinden ekstrakte edilebilen steviol glukozitlerden en yaygın olanları stevioside ve rebaudioside A' dır (Debnath ve ark, 2008). Yapraklardan çıkarılan bu bileşenlerin bitki tarafından uygulanan antihiperglisemik aktivitelere katkıda bulunan başlıca maddeler olduğu ileri sürülmektedir (Hossain ve ark, 2011). STZ veya Alloxan ile oluşturulan diyabetik sıçanlarda yapılan bazı çalışmalarda, farklı metotlar ile uygulanan SR ekstraktlarının, kan glukoz seviyesini azalttığı ve anti-hiperglisemik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Ağızdan verilen SR ekstraktı, zamana bağlı olarak diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyelerinde bir düşüşe (Misra ve ark., 2011), anti-hiperglisemik etkiye ve diyabet kaynaklı farelerin hepatik glukoneogenezinde bir azalmaya neden olmuştur (Hossain ve ark, 2011). Yapılan bir çalışmada ağızdan verilen SR ekstraktının, zamana bağlı olarak diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyelerinde bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (Sharma ve ark, 2012). Yine farklı bir çalışmada, Tip 2 diyabet olan 12 kişiye stevioside (20 mg / kg vücut ağırlığı) diyeti uygulandığında piruvat karboksilaz ve fosfoenolpiruvat karboksilazın (PEPCK) aktivitesini azaltarak kan glukoz konsantrasyonunda bir düşüşe yol açtığı ve aynı zamanda kandaki postprandial glukoz seviyelerini yaklaşık %18 azalttığı tespit edilmiştir. (Gregersen ve ark., 2004).

DENEY MODELİ	METOT	SONUÇ	REFERANS
Obez olmayan diyabetik Goto-Kakizaki (GK) sıçanları	Arter içi glukoz toleransının test edilmesinde 6 hafta süreyle sudaki steviosidle (25 mg / kg) oral diyet.	Tedavi antihiperglisemik etkiye sahipti ve insülinde artışa neden oldu.	(Jeppesen ve ark., 2003)
Sağlıklı erkek Wistar sıçanlar	15 gün boyunca SR yapraklarından (20 mg / kg / gün) ve steviosit (5.5 mg / kg / gün) ekstraktı oral diyet.	Stevia Özü, glisemi ve hepatik glukoneogenezi azaltmıştır.	(Ferreira ve ark., 2006)
Obez olmayan diyabetik Goto-Kakizaki (GK) sıçanları	Soya bazlı bir diyet ile 3 hafta boyunca steviosid (30 mg / kg) içeren su ile oral diyet. Arter içi glukoz toleransı test edildi.	Bir anti-hiperglisemik etki, glukagonda bir azalma ve insülinde bir artış vardı.	(Jeppesen ve ark., 2006)
Streptozotosin kaynaklı (55 mg / kg) diyabetik sıçanlar	Toz SR ekstraktı içeren su ile oral diyet, 3 hafta boyunca 150, 200 ve 250 mg / kg dozlarında verildi.	Sulu ekstraktın hipoglisemik bir etkisi vardı. Ayrıca, 250 mg / kg'lık doz, farelerin vücut ağırlığında bir düşüş sağladı.	(Sumon ve ark., 2008)
Alloksan kaynaklı diyabetik Wistar sıçanları	28 gün boyunca SR'nin sulu, metanolik ve eter özleri ile oral tedavi.	SR diyeti kan glukozunu düşürdü.	(Kujur ve ark., 2010)
Alloksan kaynaklı diyabetik Long-Evans fareleri	SR'den alınan beş alkaloid ekstrakt ile oral diyet, vücut ağırlığına sahip hiperglisemik farelerin kg'ı başına 150 mg'lık dozda verildi.	Hipergliseminin yoğunluğundaki azalma ve ayrıca glukoz tolerans aktivitesinde bir gelişme üzerinde olumlu bir etki vardı.	(Hossain ve ark., 2011)
Alloksan kaynaklı (180 mg / kg) albino diyabetik Wistar sıçanları	SR'den elde edilen özüt ile oral tedavi 10 gün boyunca 200 ve 400 mg / kg dozlarında verildi.	Diyet, hipoglisemi için koşul oluşturmada kan glukoz seviyelerini önemli ölçüde azalttı	(Misra ve ark., 2011)
Streptozotosin kaynaklı (60 mg / kg) diyabetik Wistar sıçanları	Bir ay boyunca, sıçanlar Stevia yaprakları, polifenoller ve liflerden (her ikisi de SR'den alınmış) oluşan bir süt diyeti uygulandı.	Kan glukozunda azalma ve insülinde artış vardı.	(Shivanna ve ark., 2013)
Alloksan kaynaklı (150 mg / kg) diyabetik sıçanlar	SR'den alınan ekstrakt ile oral diyet, 28 gün boyunca 250 mg / kg'lık dozda verildi.	Önemli bir antioksidan etkisi ve hiperglisemik seviyelerde bir azalma vardı.	(Sharma ve ark., 2012)
Alloksan kaynaklı (150 mg / kg) diyabetik fareler	SR yapraklarından elde edilen metanolik ekstrakt 21 gün boyunca 300 mg / kg dozda diyet olarak verildi.	Diyet, kan glukoz seviyesini ve ayrıca yüksek hepatik glikojen içeriğini önemli ölçüde azalttı.	(Singh ve ark., 2013)
Tip 2 diyabet hastaları	1 g steviosid içeren standart bir diyet uygulandı. Kan şekeri seviyesi 240 dakika sonra ölçüldü.	Diyet, postprandiyal kan glukozunu azaltmıştır. Bu, glukoz metabolizması üzerinde yararlı bir etki olduğunu gösterir.	(Gregersen ve ark., 2004)

Tablo 2.2. SR ile yapılan çalışmalar ve sonuçları.

Bessler H. ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, Sweet’N Low , Splenda ve stevia olmak üzere üç farklı tatlandırıcının, Periferik Kan Mononükleer Hücre (PKMH)’lerde sitokin ekspresyonuna etkisi incelenmiştir. PKMH’ler LPS ve Kolon Kanseri Hücre hattı ile stimüle edilmiştir. Kanseri hücre hattı ve PKMH ortak kültür medyumuna (RPMI-1640) 1mg/ml konsantrasyonda tatlandırıcılar eklenmiştir. Bu medium ile 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saat sonunda 1mg/ml stevia eklenen hücre kültürünün koşullu medyumunda, IL-1 β ve TNF- α seviyelerinin, tatlandırıcı eklenmeyen

ve diğ er tatlandırıcı gruplarına göre d    k olduğu tespit edilmiştir. (Bessler ve Djaldetti, 2019).

Farklı tatlandırıcıların (Sukroz, Suklaroz ve Stevia) payer plaklarından izole edilen CD4+ yardımcı T hücrelerinden salgılanan sitokinler üzerindeki etkisini araştıran başka bir çalışmada, stevianın IFN-  salınımını azalttığı tespit edilmiştir (Rosales-Gomez ve ark., 2018).

Sıçanlarda Thioacetamide (TAA) ile oluşturulan siroz modelinde 10 hafta boyunca 100 ml/kg stevianın, anti-inflamatu r etkileri belirlenmiştir. Bu çalışmada, stevia diyeti uygulanan siroz modeli sıçanlarda, IL-6, TNF- , IL-  seviyelerinin d    ğ  tespit edilmiştir (Ramos-Tovar ve ark., 2018). Ayrıca Lipopolisakkarit enjeksiyonu ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlar, stevia ile tedavi edildiğinde, karaciğer fonksiyonlarının iyileştiği ve proinflamatu r sitokin seviyelerinin d    ğ  tespit edilmiştir (Elzinga ve ark., 2017).

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Denekler

Bu araştırmada kullanılan 150-250 gr ağırlıkları arasındaki 36 adet wistar sıçan Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden elde edildi. Tüm denekler deney sonlanıncaya kadar Deney Hayvanları Ünitesi'nde 12/12 saat karanlık/aydınlık periyodunda, $28\pm4^{\circ}\text{C}$ 'da sıcaklığında barındırıldı. Denekler için normal diyet ve su kullanıldı.

3.2. Deney Planı

Stevia gruplarındaki hayvanlara vücut ağırlığı oranında 2 mg/kg ve 25mg/kg miktarında 28 gün boyunca her gün gavaj yoluyla stevia ekstraktı verildi. Diyabet yapılacak olan sıçanlara, 50 mg/kg STZ ile intraperitoneal olarak tez doz enjeksiyon yapıldı (Deeds ve ark., 2011). STZ enjeksiyonundan 2 gün sonra, kan örnekleri sıçanların kuyruk venlerinden alındı ve glukoz seviyesi ölçüldü. Kan glukoz değeri $> 200 \text{ mg/dL}$ 'den yüksek olan hayvanlar diyabet olarak kabul edildi. Gavaj uygulamasına başlamadan önce her hayvanın ağırlığı ve kan glukoz değerleri ölçüldü.

28 gün sonunda hayvanlardan, ELISA ve flow sitometri metodları için periferik kan alındı. Devamında ELISA yöntemi ile IL-1 β ve TNF- α sitokin seviyelerine bakıldı, flow sitometri metodu ile Total T lenfosit sayısı (CD3), Yardımcı T lenfosit sayısı (CD4 $^{+}$) ve Sitotoksik T lenfosit sayısı (CD8 $^{+}$) yüzey belirteçlerine bakıldı.

Deney grupları aşağıdaki gibi belirlendi.

1. Grup: kontrol (n=6)
2. Grup: 2mg/kg stevia (n=6)
3. Grup: 25mg/kg stevia (n=6)
4. Grup: diyabet (n=6)
5. Grup: diyabet+ 2mg/kg stevia (n=6)
6. Grup: diyabet + 25mg/kg stevia (n=6)

3.3. Kan örneklerinin toplanması

28 gün stevia diyeti gavaj aracılığıyla uygulandıktan sonra sıçanların abdominal veninden periferik kan alındı. Fow sitometri yöntemi için 1ml kan mor kapaklı edta'lı antikoagulant kan alma tüplerine (BD Vacutainer K2EDTA) alındı. ELISA yöntemi için 5ml kan sarı kapaklı serum tüplerine (BD Vacutainer jelli sarı tüp) alındı.

3.4. Flow Sitometri

3.4.1. Kullanılan solüsyonlar

- **BD FACS Lysing Solution #349202**
- **PBS (Phosphate Buffered Saline-Fosfat tamponlu tuz)**
 - 16 gr Sodyum Klorür
 - 0,8 gr Potasyum Dihidrojen Fosfat
 - 2,85 gr Disodium Hidrojen Fosfat
 - 2 lt distile su
 - Ph:7,2-7,4 arası olmalıdır. Ayarlama yapılmaz.
- **PBS-NaN3**
 - ✓ 1g Sodyum Azid
 - ✓ 1L PBS

3.4.2. Flow Sitometri Protokolü

- Her bir örnek için 100µl kan 1,5ml'lik steril ependorflara alındı.
- Tüplere 1'er µl CD3 (BIOLEGEND-201403) FITC konjuge, CD4 (BIOLEGEND-201507) PE konjuge, CD8 (BIOLEGEND-201712) PerCP antikorları kan örneklerine eklendi. Oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübe edildi.
- Ependorflara 900µl FACS Lysing solüsyonu eklendi. Vorteks ile karıştırılıp buz içinde 15 dakika inkübe edildi.
- 400g'de 5 dakika santrifüj yapıldı.
- Süpernatant uzaklaştırıldı.
- 1ml PBS-NaN3 eklendi ve 400g'de 5 dakika santrifüj yapıldı.
- Süpernatant uzaklaştırıldı.
- 1ml PBS-NaN3 eklendi ve 400g'de 5 dakika santrifüj yapıldı.
- Süpernatant uzaklaştırıldı.
- Pellet 400µl PBS-NaN3 ile çözüldü ve Flow Sitometri cihazında CytExpert yazılımı

ile ölçüm ve analizler yapıldı.

3.5. ELISA

Sıçanlardan alınan kan örnekleri 5000rpm’de 10 dakika santrifüj yapıldı. Üstte kalan serum ependorf tüplere alındı.

Rat IL-1 Beta PicoKine ELİSA KİT EK0393 ve Rat TNF alpha PicoKine ELİSA Kit EK0526 ELİSA Kitlerinin protokollerine göre yapılmıştır.

1- Standartlar dilue edildi.

64ng/L	Standard No.5	120µl Original Standard + 120µl Standard diluents
32ng/L	Standard No.4	120µl Standard No.5 + 120µl Standard diluents
16ng/L	Standard No.3	120µl Standard No.4 + 120µl Standard diluent
8ng/L	Standard No.2	120µl Standard No.3 + 120µl Standard diluent
4ng/L	Standard No.1	120µl Standard No.2 + 120µl Standard diluent

- 2- Blank kuyucuğu boş bırakıldı. Standart kuyucuklarına 50µl standart solüsyonları eklendi. Örnek kuyucuklarına 40 µl örnekler yüklendi.
- 3- Örnek kuyucuklarına; 10µl IL-1 Beta kiti için Anti-IL-1β, TNF-alfa kiti için Anti-TNF-α biotin konjige antikor solusyonu eklendi. Oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edildi.
- 4- 50µl Streptaavidin-HRP solusyonu eklendi. Hafifçe çalkalanıp 60 dakika inkübasyon yapıldı.
- 5- 5 kez yıkama solusyonu ile 1-2 dakika yıkandı.
- 6- Her kuyuya 50µl kromojen A ve ardından 50µl kromojen B solusyonu eklendi.
- 7- 37 °C de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi.
- 8- Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 50µl stop solusyonu eklendi.
- 9- 450 nm de spektrometre cihazında ölçüldü.
- 10- KC Junior yazılımı kullanılarak analiz edildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Gruplar karşılaştırılarak istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı, Student t-test ve One Way ANOVA testleri uygulanarak belirlendi. $P \leq 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



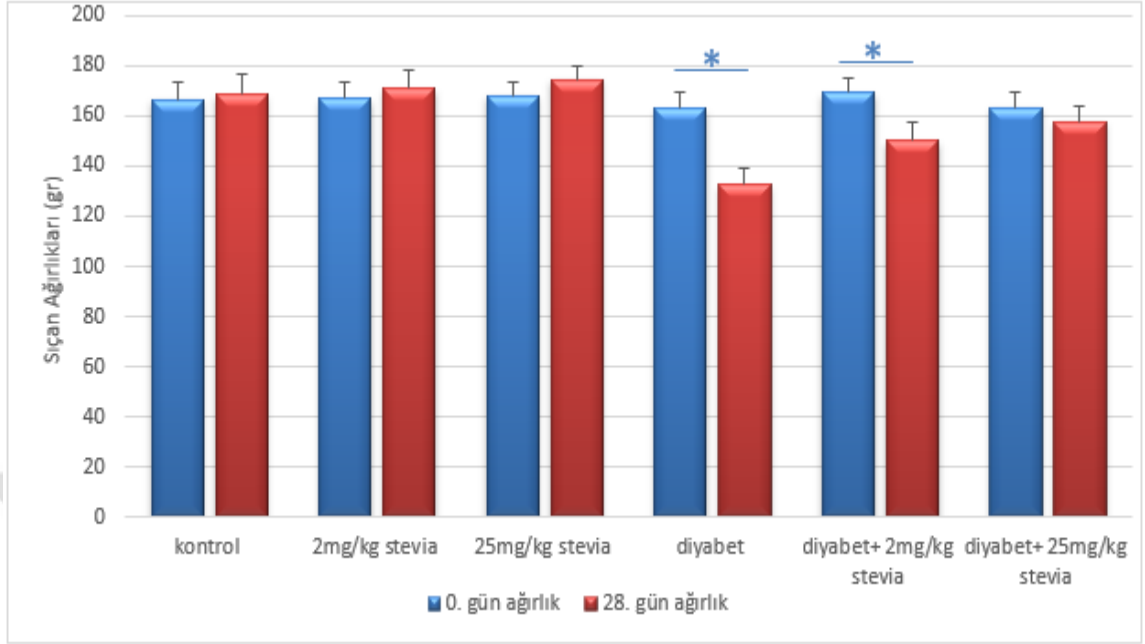
BULGULAR

4.1. Sıçan Ağırlıkları

Tüm grupların 0. gün ve 28. gün ağırlıkları ölçüldü. Ağırlıkları ölçümleri sonucunda, 28.gün ağırlığı en yüksek artış gösteren grup 25mg/kg stevia grubu olarak gözlendi. Diyabet ve diyabet+ 2mg/kg stevia gruplarında sıçan ağırlıklarının 0. güne göre, 28. günde anlamlı olarak azaldığı tespit edildi. Gruplar arası ağırlıklar karşılaştırıldığında, Diyabet ve diyabet+ 2mg/kg stevia gruplarında sıçan ağırlıklarının, diğer gruplara göre anlamlı olarak azaldığı tespit edildi

	0. Gün Ortalama Ağırlıkları (gr) $\pm$ standart sapma	28. Gün Ortalama Ağırlıkları (gr) $\pm$ standart sapma
kontrol grubu	166.56 $\pm$ 7.12	168.53 $\pm$ 8.3
2mg/kg stevia grubu	167.016 $\pm$ 6.53	170.98 $\pm$ 7.1
25mg/kg stevia grubu	168.183 $\pm$ 5.4	174.48 $\pm$ 5.8
diyabet grubu	163.1 $\pm$ 6.7	132.58 $\pm$ 6.9*
diyabet+ 2mg/kgstevia grubu	169.16 $\pm$ 6.2	149.98 $\pm$ 7.2*
diyabet+ 25mg/kgstevia grubu	163.46 $\pm$ 5.7	157.66 $\pm$ 6.1

Tablo 4.1. 0. ve 28. gün ortalama sıçan ağırlıkları (* $p \leq 0,05$)



Şekil 4.1. 0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait sıçan ağırlıklarının karşılaştırılması. (* $p \leq 0,05$)

	kontrol grubu	2mg/kg stevia grubu	25mg/kg stevia grubu	diyabet grubu	diyabet+ 2mg/kgstevia grubu	diyabet+ 25mg/kgstevia grubu
kontrol grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	a.d.
2mg/kg stevia grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	a.d.
25mg/kg stevia grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	a.d.
diyabet grubu	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	a.d.	a.d.	(* $p \leq 0,05$)
diyabet+ 2mg/kg stevia grubu	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	a.d.	a.d.	(* $p \leq 0,05$)
diyabet+ 25mg/kg stevia grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	a.d.

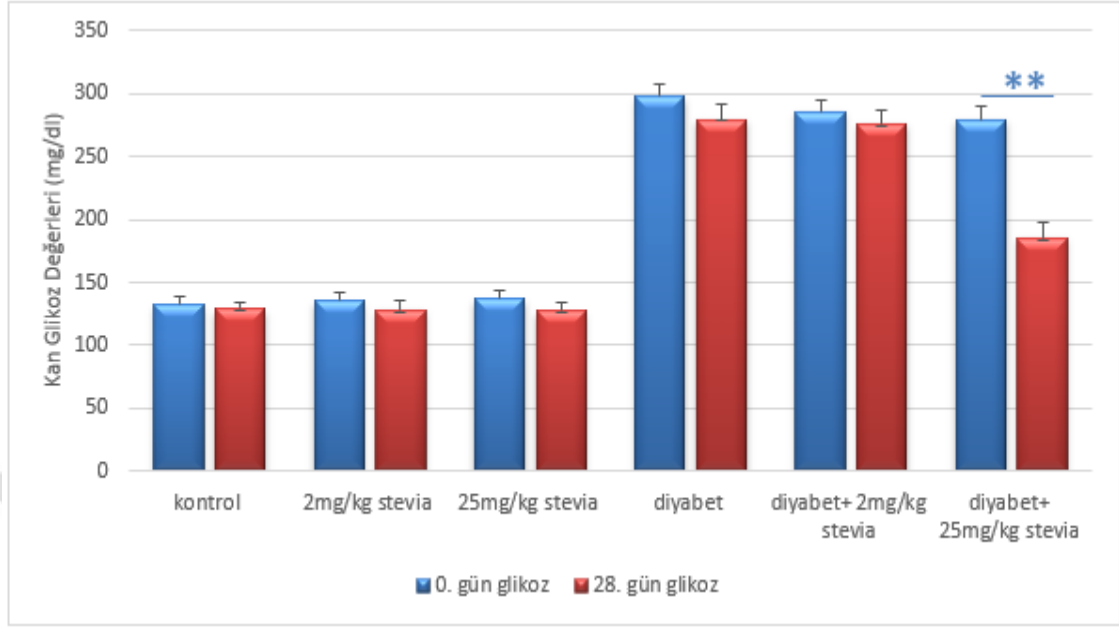
Tablo 4.2. 28. gün sıçan ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması (a.d.=anlamli değil) (* $p \leq 0,05$, a.d.>0,05)

4.2. Kan Glukoz Ölçümleri

Tüm Gruplara ait 0. gün ve 28. gün kan glukoz değerleri değerlendirildi. Diyabet gruplarına STZ enjeksiyonu yapıp kan şekeri 200 mg yüksek tespit edildikten 3 gün sonra 0. gün olarak kabul edildi. STZ ile diyabet oluşturulan gruplarda kan glukoz değeri istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdi. 28 gün sonunda en yüksek kan glukoz değeri diyabet grubunda tespit edildi. Diyabet+ 25mg/kg stevia grubunda 28 gün sonunda 0. güne göre anlamlı bir azalma tespit edildi. Diyabet olmayan gruplardaki azalmalar anlamlı değildi.

	0. Gün Ortalama Glukoz (mg/dl) $\pm$ standart sapma	28. Gün Ortalama Glukoz (mg/dl) $\pm$ standart sapma
kontrol grubu	132.5 $\pm$ 6.12	129 $\pm$ 5.25
2mg/kg stevia grubu	135 $\pm$ 7.58	128 $\pm$ 8.26
25mg/kg stevia grubu	136.66 $\pm$ 6.43	127.5 $\pm$ 7.13
diyabet grubu	297.33 $\pm$ 10.13	279.33 $\pm$ 11.75
diyabet+ 2mg/kgstevia grubu	285.5 $\pm$ 9.85	275.66 $\pm$ 10.58
diyabet+ 25mg/kgstevia grubu	278.83 $\pm$ 11.36	185.16 $\pm$ 12.41**

Tablo 4.3. 0. ve 28. gün ortalama kan glukoz değerleri (** $p \leq 0,01$)



Şekil 4.2. 0. ve 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait kan glukoz değerlerinin karşılaştırılması (** $p \leq 0,01$)

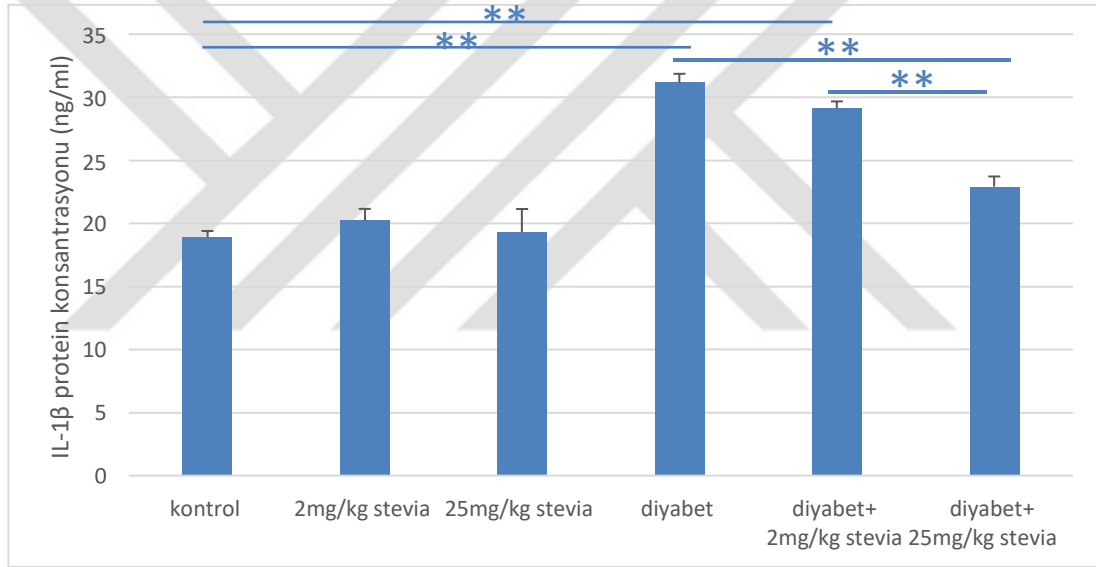
	kontrol grubu	2mg/kg stevia grubu	25mg/kg stevia grubu	diyabet grubu	diyabet+ 2mg/kgstevi a grubu	diyabet+ 25mg/kgs tevia grubu
kontrol grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	(* $p \leq 0,05$)
2mg/kg stevia grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	(* $p \leq 0,05$)
25mg/kg stevia grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	(* $p \leq 0,05$)
diyabet grubu	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	a.d.	a.d.	(** $p \leq 0,01$)
diyabet+ 2mg/kgstevi a grubu	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	a.d.	a.d.	(** $p \leq 0,01$)
diyabet+ 25mg/kgstevi a grubu	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	(** $p \leq 0,01$)	(** $p \leq 0,01$)	a.d.

Tablo 4.4. 28. gün Glukoz değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması (a.d.=anlamli değil) (* $p \leq 0,05$, a.d.>0,05)

4.3. ELISA Bulguları

4.3.1. IL-1 β sonuçları

Kan serum IL-1 β sonuçlarımıza göre, 28. günde en yüksek IL-1 β miktarı gruplar arasında diyabet grubunda gözlemlendi. Diyabet ve diyabet + 2 mg/kg stevia gruplarında IL-1 β seviyesi, kontrol, 2 mg/kg stevia, 25 mg/kg stevia ve diyabet + 25 mg/kg stevia gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Diyabet + 25 mg/kg stevia grubunun, diyabet ve diyabet + 2 mg/kg stevia gruplarına göre anlamlı derecede düşük protein miktarına sahip olduğu tespit edildi (şekil 4.3.).



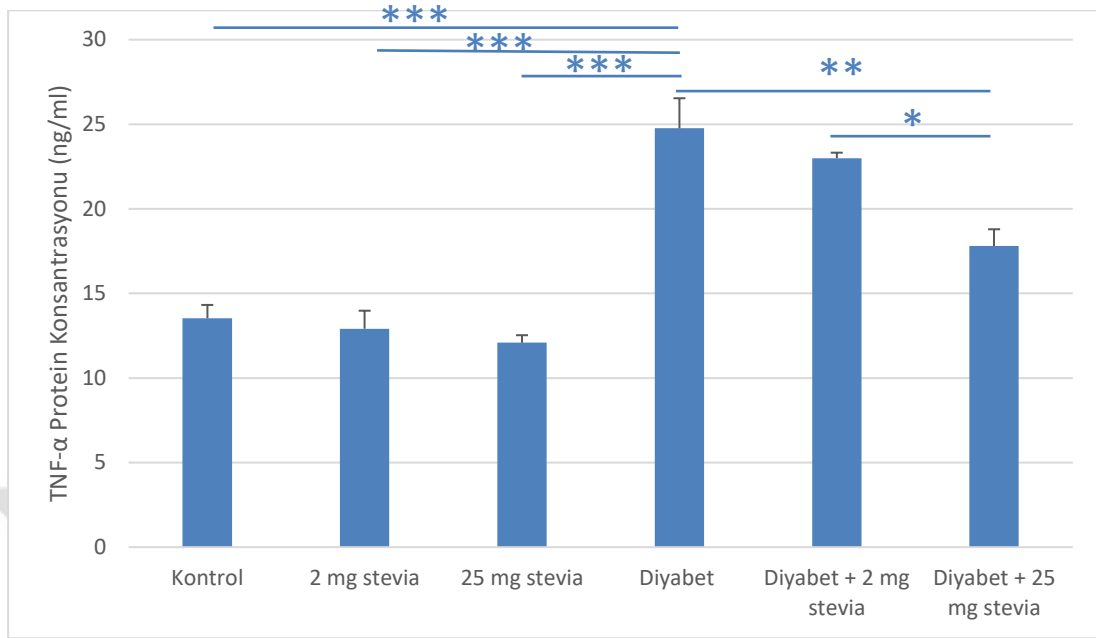
Şekil 4.3. 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait IL-1 β protein miktarlarının karşılaştırılması (** p<0,01)

	kontr ol grubu	2mg/kg stevia grubu	25mg/kg stevia grubu	diyab et grubu	diyabet+ 2mg/kgstevi a grubu	diyabet+ 25mg/kgstevi a grubu
kontrol grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(** p≤0,01)	(** p≤0,01)	a.d.
2mg/kg stevi a grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(** p≤0,01)	(** p≤0,01)	a.d.
25mg/kg stevi a grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(** p≤0,01)	(** p≤0,01)	a.d.
diyabet grubu	(** p≤0,01)	(** p≤0,01)	(** p≤0,01)	a.d.	a.d.	(** p≤0,01)
diyabet+ 2mg/kgstevi a grubu	(** p≤0,01)	(** p≤0,01)	(** p≤0,01)	a.d.	a.d.	(** p≤0,01)
diyabet+ 25mg/kgstevi a grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(** p≤0,01)	(** p≤0,01)	a.d.

Tablo 4.5. 28. gün IL-1 β seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması (a.d.=anlamli değil) (** p≤0,01, a.d.>0,05)

4.3.2. TNF- α Sonuçları

Yapmış olduğumuz serum TNF- α sonuçlarına göre, en yüksek miktarda TNF- α seviyesi stevia diyeti uygulanmayan diyabet grubunda gözlemlendi. Diyabet ve diyabet + 2 mg/kg stevia gruplarında TNF- α seviyesi, kontrol, 2 mg/kg stevia, 25 mg/kg stevia ve diyabet + 25 mg/kg stevia gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Diyabet + 25 mg/kg stevia grubunun, diyabet ve diyabet + 2 mg/kg stevia gruplarına göre anlamlı derecede düşük protein miktarına sahip olduğu tespit edildi (şekil 4.4.).



Şekil 4.4. 28. Günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait TNF- α protein konsantrasyonlarının karşılaştırılması (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$)

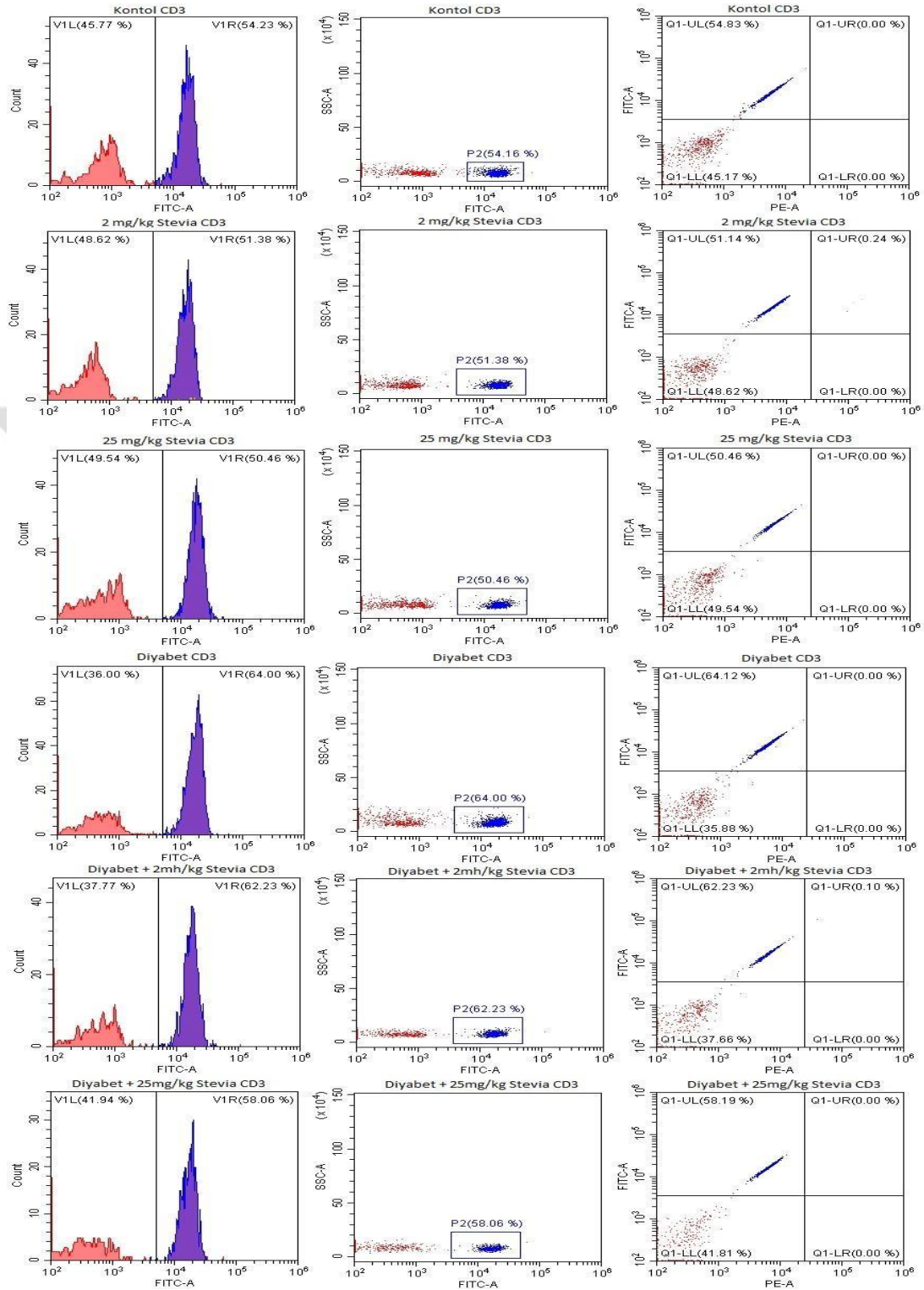
	kontr ol grub u	2mg/kg stevia grubu	25mg/kg stevia grubu	diyab et grub u	diyabet+ 2mg/kgstev ia grubu	diyabet+ 25mg/kgstev ia grubu
kontrol grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(*** $p \leq 0,001$)	(** $p \leq 0,01$)	(* $p \leq 0,05$)
2mg/kg stev ia grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(*** $p \leq 0,001$)	(** $p \leq 0,01$)	(* $p \leq 0,05$)
25mg/kg stev ia grubu	a.d.	a.d.	a.d.	(*** $p \leq 0,001$)	(** $p \leq 0,01$)	(* $p \leq 0,05$)
diyabet grubu	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	(*** $p \leq 0,001$)	a.d.	(* $p \leq 0,05$)	(** $p \leq 0,01$)
diyabet+ 2mg/kgstev ia grubu	(** $p \leq 0,01$)	(** $p \leq 0,01$)	(** $p \leq 0,01$)	(* $p \leq 0,05$)	a.d.	(* $p \leq 0,05$)
diyabet+ 25mg/kgstev ia grubu	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	(* $p \leq 0,05$)	(** $p \leq 0,01$)	(* $p \leq 0,05$)	a.d.

Tablo 4.6. 28. gün TNF- α seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması (a.d.=anlamli değil) (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$, a.d.>0,05)

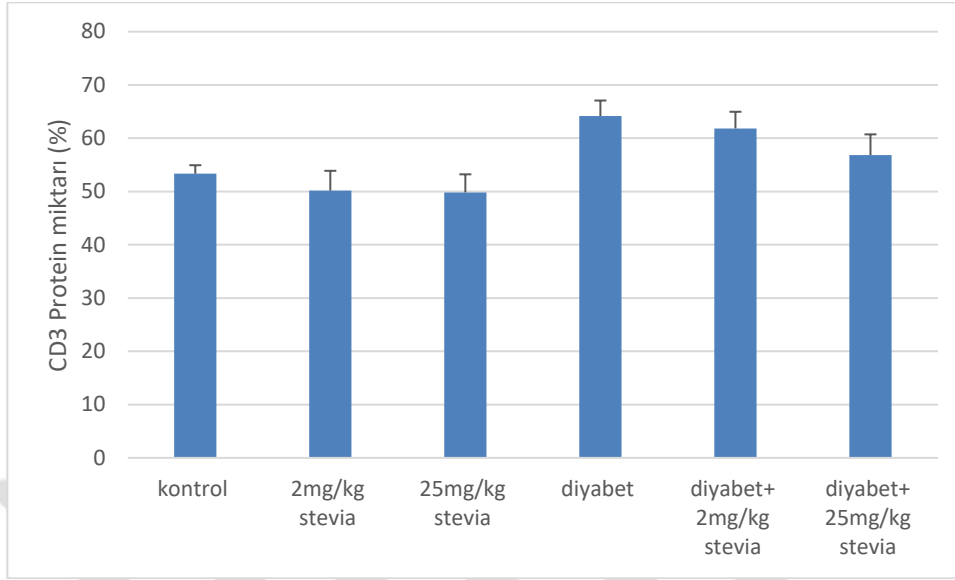
4.4. Flow Sitometri Bulguları

Tüm gruptaki total T lenfosit sayısı, flow sitometri metodu ile belirlendi. Gruplara ait kan örnekleri alınıp, total T lenfosit hücre sayıları karşılaştırıldığında, diyabet grubundaki T hücre sayısının diğer gruplara göre yüksek olduğu ancak bu artışın anlamlı olmadığı belirlendi.(şekil4.6.)



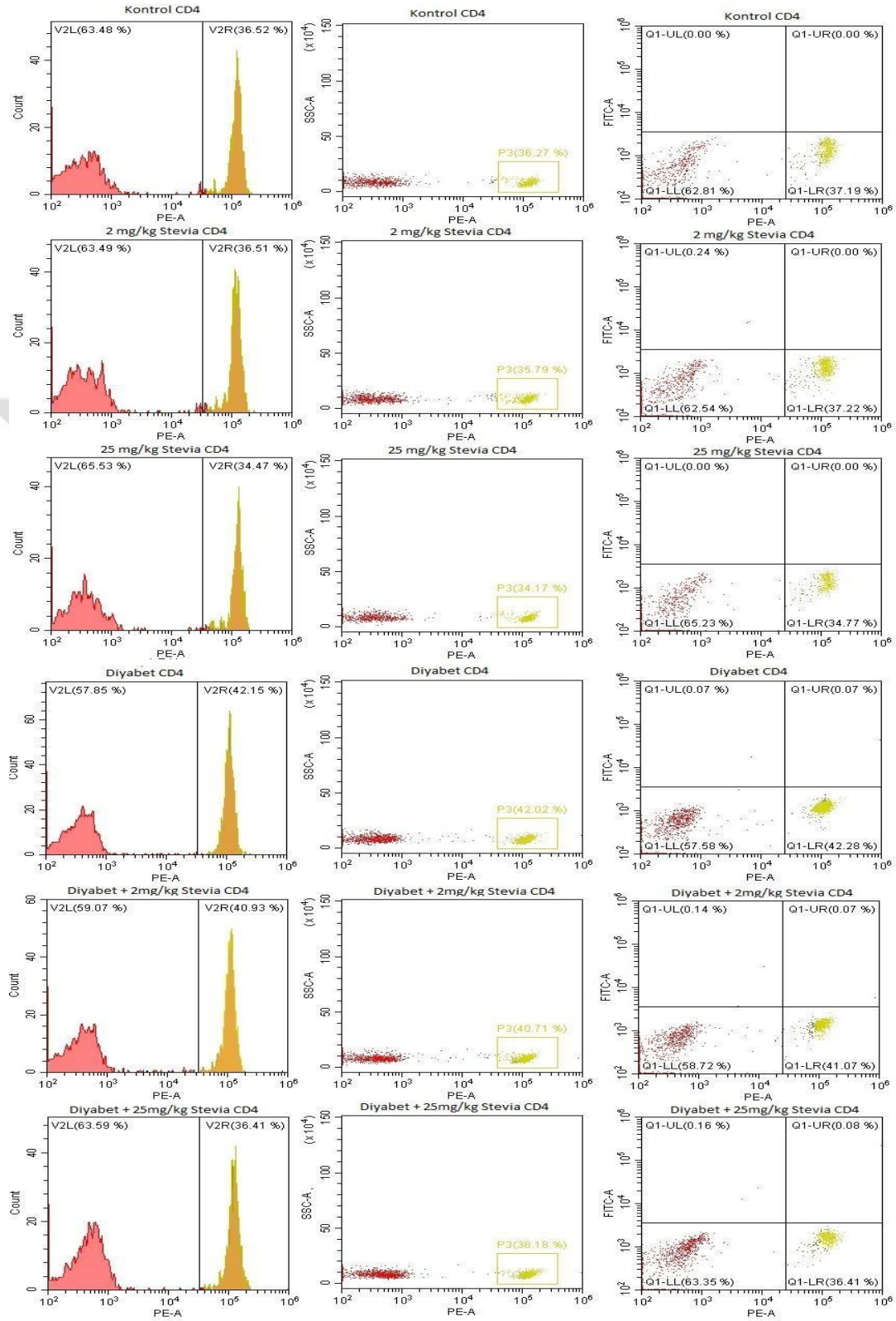


Şekil 4.5. 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait total T lenfosit hücre sayılarının miktarı

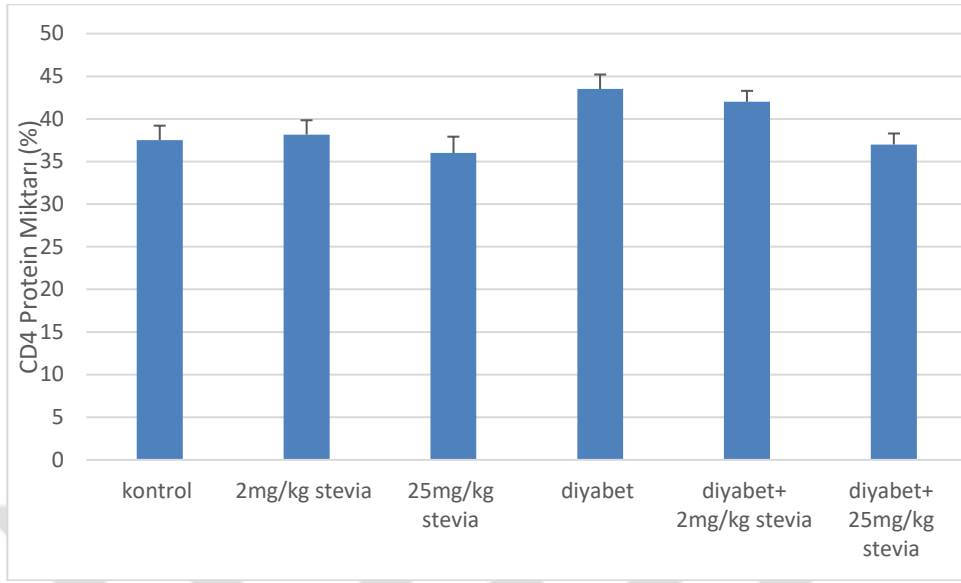


Şekil 4.6. 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait total T lenfosit hücre sayısının miktarlarının karşılaştırılması.

Yardımcı T lenfositlere (CD4+) ait hücre sayıları; Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia grupları arasında değerlendirildi. CD4+ hücre sayısı Diyabet grubunda en yüksek seviyede olsa da bu artış anlamlı değildi. (şekil 4.8.)



Şekil 4.7. 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait Yardımcı T lenfosit hücre (CD4+) sayıları

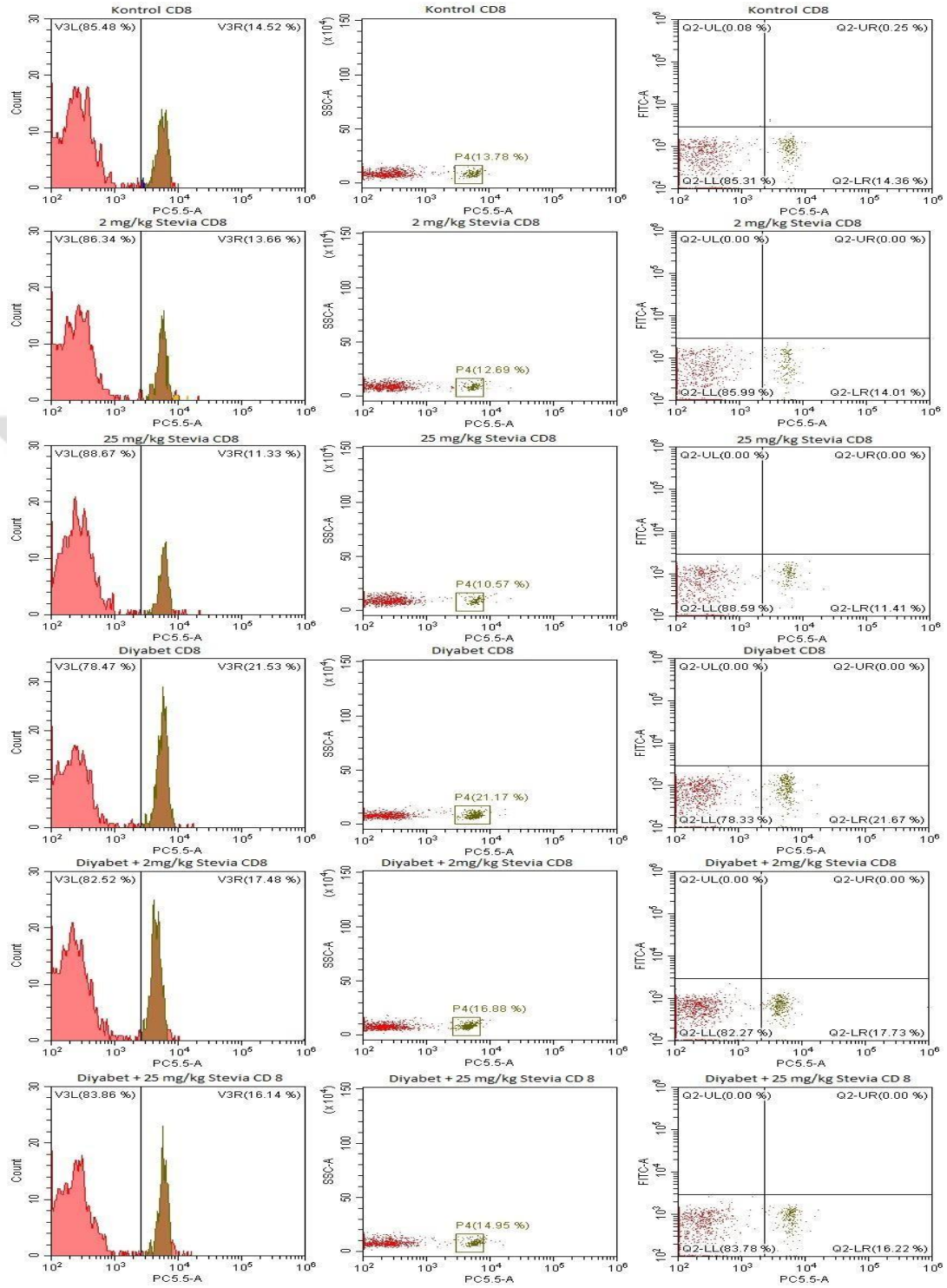


Şekil 4.8. 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait Yardımcı T lenfosit hücre (CD4+) sayımlarlarının karşılaştırılması

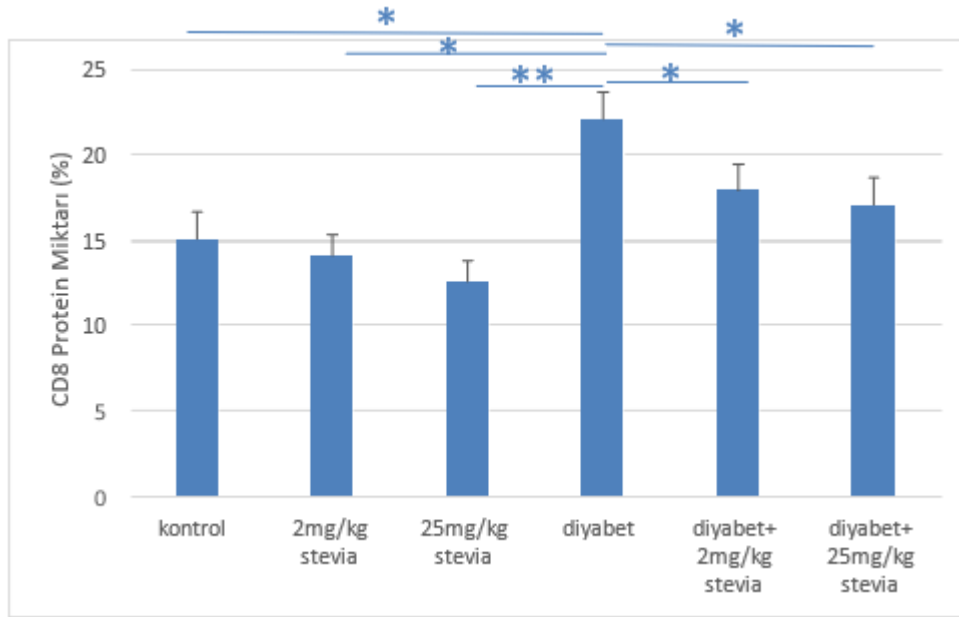
Tüm gruplara ait sitotoksik T lenfosit (CD8⁺) hücre sayısı belirlendi. Gruplar karşılaştırıldığında en yüksek sitotoksik T lenfosit (CD8⁺) hücre sayısı Diyabet grubunda tespit edildi.

Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi. Aynı şekilde Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg grupları arasında da istatistiksel anlamlılık belirlenmedi.

Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg gruplarının CD8 protein seviyesi Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, Diyabet grubunun CD8 miktarının anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi (şekil 4.10.).



Şekil 4.9. 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait CD8 hücre miktarları



Şekil 4.10. 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait CD8 hücre miktarlarının karşılaştırılması (* p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001)

	CD3	CD4	CD8
Kontrol grubu	% 53.33 ± 1.59	% 37.5 ± 1.70	% 15.16 ± 1.63
2mg/kg stevia grubu	% 50.16 ± 3.71	% 38.16 ± 1.67	% 14.5 ± 1.29
25mg/kg stevia grubu	% 49.83 ± 2.38	% 36.16 ± 1.91	% 12.5 ± 1.25
Diyabet grubu	% 64.16 ± 3.91	% 43.5 ± 1.70	% 22.33* ± 1.63
Diyabet+ 2mg/kgstevia grubu	% 61.83 ± 3.13	% 42.83 ± 1.29	% 17.83 ± 1.57
Diyabet+ 25mg/kgstevia grubu	% 56.83 ± 3.89	% 37.16 ± 1.31	% 17.5 ± 1.62

Tablo 4.7. 28. günde Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia gruplarına ait CD3, CD4 ve CD8 hücre sayılarının yüzdesi ve standart sapmaları.

TARTIŞMA

Diyabet vücudun farklı bölgelerinde birçok komplikasyona sebep olan metabolik bir hastalıktır. Akut metabolik komplikasyonların yanı sıra, uzun dönemde vasküler, renal, retinal ya da nöropatik bozukluklara yol açan, morbidite ve erken mortalite riski yüksek bir hastalıktır (Alemzadeh ve ark., 2004). Bu hastalığın tedavisindeki amaç uzun vadede komplikasyonları önlemektir.

Diyabet hastalığına, pankreasta bulunan β hücrelerinin kaybı veya β hücrelerinde salgılanan insulinin hücreler tarafından yeterince kullanılamaması sebep olur. Beta hücrelerine pankreasta bulunan T hücrelerinin saldırması sonucunda pankreastaki β hücre sayısı azalır ve yeterli insulin üretilemez. Bu durum Tip 1 diyabetin (T1D) oluşmasına neden olur.

Timusta gerçekleşen T hücrelerinin negatif seçiminde meydana gelen herhangi bir bozukluk, T hücrelerinin yabancı olmayan vücut hücrelerine saldırmasına yol açar. Negatif seçimden kaçan T lenfositler pankreasa göç edip ASH'lar ile etkileşime girerler. Etkileşim sonucunda efektör T hücre aktivasyonu gerçekleşir. Efektör T hücreleri pankreas adacıklarında inflamasyonunu başlatır ve β hücrelerinin kaybına yol açarlar. Sonuç olarak pankreastaki β hücre sayısı azalır ve yeterli insulin üretilemez. Hayvan deneylerinden elde edilen kanıtlar yardımcı CD4⁺ ve sitotoksik CD8⁺ T lenfositlerin T1D'in gelişmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (El-Sheikh ve ark., 1999; Phillips ve ark., 2009; Richardson ve ark., 2014).

T1D'de pankreas beta hücrelerinin kaybında üç sitokin, IFN- γ , TNF- α ve IL-1 β birleşik etkisi rol oynar (Feuerer ve ark., 2009). Bu inflamatuvar moleküllerin birleşik etkisi, indüklenabilir nitrik oksit sentazın (iNOS) artması ve ardından nitrik oksit (NO) üretimi ile sonuçlanır. Ayrıca bu sitokinler, β Hücreleri apoptozunda da görev alırlar (F. Moore ve ark., 2009).

Stevia rebaudiana bitkisi çok uzun zamandır tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Normal şekere göre düşük kalorili olmasından dolayı diyabet hastaları tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca *Stevia rebaudiana* bitkisiyle ilgili bir çok bilimsel çalışma mevcuttur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, SR'nin glukoz metabolizmasındaki

etkisinin yanı sıra immünomodülatör özellikleri de araştırılmaya başlanmıştır. Literatürde; SR'nin, pro-inflamatuar sitokin salınımını düşürdüğü gösterilmiştir (Eizirik ve ark., 2009).

Otoimmün bir hastalık olan diyabette, immün fonksiyonların araştırılması, hastalığın anlaşılması ve tedavisi için oldukça önemli çalışmalardır. Stevia'nın immünomodülatör etkileri anlaşıldığında diyabetin tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre, diyabet grubunda sıçan ağırlıkları, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir. Eleazu CO ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Wistar sıçanlarının ağırlıkları değerlendirilmiştir. Yaptıkları çalışmada, diyabet sıçanların vücut ağırlıklarının, kontrol sıçanlara oranla anlamlı olarak düşük olduğunu belirlemişlerdir (Eleazu ve ark., 2014). Pournaghi P ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ise yine diyabetik Sprague-Dawley sıçanların ağırlıklarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (Pournaghi ve ark., 2012).

Yaptığımız çalışmada, 28 gün boyunca 25mg stevia diyeti uygulanan diyabetik hayvanların ağırlıklarının, sadece diyabet olan hayvanlara göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. Jeppesen PB ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, stevioside diyeti uygulanan diyabetik sıçanların, diyet uygulanmayan diyabetik sıçanlara göre ağırlıklarının anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (Jeppesen ve ark., 2003). Bizim yaptığımız çalışma ve literatürdeki diğer çalışmalar (Jeppesen ve ark., 2003; Pournaghi ve ark., 2012; Eleazu ve ark., 2014) göz önüne alındığında, sıçan ağırlığındaki istatistiksel olarak anlamlı azalmalar, diyabetin vücut ağırlığını azalttığını göstermektedir. Diyabet + 25 mg/kg stevia grubunda ise stevianın, diyabetin vücut ağırlığı üzerindeki olumsuz etkisini azalttığı söylenebilir. Stevia diyeti, diyabet ile kaybedilen ağırlık kaybını tolere edebilir.

Çalışmamızda 0. ve 28. gün kan glukoz ölçümleri gerçekleştirildi. Diyabet grubunda, kontrol ve stevia gruplarına göre anlamlı bir artış olduğu belirlendi. Ewenighi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sağlıklı sıçanlarla diyabetik sıçanların kan glukoz ölçümleri karşılaştırılmıştır. Diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir (Ewenighi ve ark., 2013). Eleazu CO ve

arkadaşlarının yaptığı çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş olup Wistar Ratların kan glukoz ölçümleri yapıldığında, diyabet sıçanların kontrol sıçanlara oranla kan glukoz seviyesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (Eleazu ve ark., 2014).

Yapılan kan glukoz ölçümleri sonucunda, diyabet sıçanlara 28 gün boyunca 25 mg/kg stevia verilen grupta, kan glukoz seviyesinin diyabet sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı belirlendi. Sumon MH ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulan albino ratların kan glukoz ölçümleri karşılaştırıldığında, stevia diyeti yapılan grupta, glukoz değerlerinin, diyet uygulanmayan diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı tespit edilmiştir (Sumon ve ark, 2008). Yaptığımız çalışma stevianın, diyabetin oluşturduğu kan glukoz seviyesindeki artışı, azalttığını göstermektedir.

Yapmış olduğumuz serumdaki IL-1 β ELISA sonuçlarına göre, IL-1 β miktarı en yüksek olarak diyabet grubunda tespit edildi. Ehses JA ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, diyabetik sıçanların IL-1 β seviyesi sağlıklı sıçanlara göre yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir (Ehses ve ark., 2010). Akash ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada da IL-1 β seviyesinin Tip 2 Diyabetli sıçanlarda yükseldiği gösterilmiştir. Ayrıca IL-1 β antagonisti düzenleyicilerinin diyabetin tedavisi için kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir (Akash ve ark, 2012).

Yaptığımız serum IL-1 β ELISA ölçümlerinde Diyabet + 25 mg/kg Stevia grubunda, diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi. Bessler H ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, mononükleer hücreler ile ko-kültürü yapılan HuCC kolon kanseri hücre hattına verilen stevianın, PKMH'lerden salgılanan IL-1 β seviyesini azalttığı gösterilmiştir (Bessler ve Djaldetti, 2019). Tovar ER ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada siroz modeli oluşturulan sıçanlarda, stevianın karaciğerde IL-1 β salınımını azalttığı bildirilmiştir (Ramos-Tovar ve ark., 2018).

TNF- α ELISA sonuçlarımıza göre, serumdaki TNF- α miktarı en yüksek olarak diyabet grubunda belirlendi. Francisco CO ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada Tip 2 Diyabetli hastaların kanında TNF- α düzeyinin kontrol gurubuna ait kan örneklerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Francisco ve ark., 2016).

Serumdaki TNF- α ELISA ölçümlerimizde, Diyabet + 25 mg/kg Steviagrubunda, diyabet

grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi. Bessler H ve arkadaşları yaptıkları çalışmada stevianın hücre kültüründe PKMH'den salgılanan TNF- α miktarını düzenlediğini göstermişlerdir (Bessler ve Djaldetti, 2019).

Yaptığımız çalışma ve literatürdeki diğer çalışmalar (Francisco ve ark., 2016; Ramos-Tovar ve ark., 2018; Bessler ve Djaldetti, 2019) stevianın, diyabetik sıçanlarda sitokin salınımını düzenlediğini göstermektedir. Bulgularımız stevianın diyabetik sıçanlarda β hücre kaybına yol açan proinflamatuvar sitokinlerin periferel dolaşımdaki düzeyini azalttığını göstermektedir.

Flow sitometri deney sonuçlarımıza göre, CD3+ T hücre miktarı ve CD4+ T hücre miktarı diyabet grubunda en yüksek seviyede idi ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Flow sitometri deney sonuçlarımıza göre, CD8 miktarı diyabet grubunda istatistiksel olarak en yüksek seviyede tespit edildi. Walker LSK ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada CD8+ T hücrelerinin diyabet hastalarında sağlıklılara göre daha yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir (Walker ve von Herrath, 2016).

Araştırmamız literatürdeki diğer çalışmalar ile birlikte değerlendirildiğinde, stevianın sitotoksik T hücreleri sayıları üzerinde negatif etkisi olduğunu göstermektedir. Bulgularımız stevianın diyabetik sıçanlarda β hücre kaybına yol açan CD8+ T hücrelerinin periferel dolaşımdaki sayısını azalttığını göstermektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Kontrol, 2 mg/kg Stevia, 25 mg/kg Stevia, STZ ile oluşturulmuş Diyabet, Diyabet + 2 mg/kg Stevia ve Diyabet + 25 mg/kg Stevia grupları ile çalışıldı. Çalışmamızda stevianın diyabetik sıçanlardaki immünomodülatör etkileri değerlendirildi. Ayrıca stevianın kan glukoz seviyesine ve hayvan ağırlığına etkileri belirlendi.

Elde edilen sonuçlar maddeler halinde aşağıda belirtilmiştir.

1. Sıçan ağırlıklarının diyabet + 25 mg/kg stevia grubunda, diyabet grubuna göre arttığı,
2. Kan glukoz değerinin diyabet + 25 mg/kg stevia grubunda, diyabet grubuna göre azaldığı,
3. Serumda IL-1 β sitokin düzeyinin diyabet +25 mg/kg stevia grubunda, diyabet grubuna göre azaldığı,
4. Serumda TNF- α sitokin düzeyinin diyabet + 25 mg/kg stevia grubunda, diyabet grubuna göre azaldığı,
5. Periferel dolaşımda sitotoksik CD8+ T hücre sayısının diyabet + 25 mg/kg stevia grubunda, diyabet grubuna göre azaldığı sonuçlarına varıldı.

IL-1 β 'nın ve TNF- α 'nın T hücre aktivasyonuna ve proliferasyonuna etkileri (Mehta ve ark., 2018; Ben- Sasson ve ark., 2013) göz önüne alındığında, stevianın total T hücre, yardımcı T hücre ve sitotoksik T hücreler üzerindeki etkileri ile TNF- α ve IL-1 β sitokinleri üzerine etkileri koralasyon göstermektedir.

Sonuç olarak stevia diyeti, hiperglisemik koşullarda periferel dolaşımdaki sitotoksik T hücreler ile proinflamatuvar sitokinlerden TNF-alfa ve IL-1 Beta'nın azalmasına neden olmaktadır. Böylece diyabette gerçekleşen inflamasyon sürecini azaltarak düzenlemektedir.

KAYNAKLAR

- Agerberth, B., & Gudmundsson, G. H. Host antimicrobial defence peptides in human disease. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2006; 306: 67-90.
- Aguirre, V., Uchida, T., Yenush, L., Davis, R., & White, M. F. The c-jun nh(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of ser(307). *J Biol Chem*. 2000; 275 (12): 9047-9054.
- Akash, M. S. H., Shen, Q., Rehman, K., Chen, S. Interleukin-1 receptor antagonist: a new therapy for type 2 diabetes mellitus. *J Pharm Sci*. 2012; 101 (5): 1647-58.
- Aksentijevich, I., Masters, S. L., Ferguson, P. J., Dancey, P., Frenkel, J., van Royen-Kerkhoff, A., . . . Goldbach-Mansky, R. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist. *N Engl J Med*. 2009; 360 (23): 2426-2437.
- Alemzadeh, R., Ellis, J. N., Holzum, M. K., Parton, E. A., & Wyatt, D. T. Beneficial effects of continuous subcutaneous insulin infusion and flexible multiple daily insulin regimen using insulin glargine in type 1 diabetes. *Pediatrics*. 2004; 114 (1): e91-95.
- Atkinson, M. A., Bluestone, J. A., Eisenbarth, G. S., Hebrok, M., Herold, K. C., Accili, D., . . . Rhodes, C. J. How does type 1 diabetes develop?: The notion of homicide or beta-cell suicide revisited. *Diabetes*. 2011; 60 (5): 1370-1379.
- Atteh, J. O., Onagbesan, O. M., Tona, K., Decuypere, E., Geuns, J. M., & Buyse, J. Evaluation of supplementary stevia (*stevia rebaudiana*, *bertoni*) leaves and stevioside in broiler diets: Effects on feed intake, nutrient metabolism, blood parameters and growth performance. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2008; 92 (6): 640-649.
- Bachmann, M. F., & Kopf, M. Balancing protective immunity and immunopathology. *Curr Opin Immunol*. 2002; 14 (4): 413-419.
- Banerjee, M., & Saxena, M. Genetic polymorphisms of cytokine genes in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2014; 5 (4): 493-504.
- Barba, F. J., Criado, M. N., Belda-Galbis, C. M., Esteve, M. J., & Rodrigo, D. *Stevia rebaudiana bertoni* as a natural antioxidant/antimicrobial for high pressure processed fruit extract: Processing parameter optimization. *Food Chem*. 2014; 148: 261-267.
- Barbero, S., & Ponte, P. L. [infectious diseases in the fetus and newborn infant]. *Arch Sci Med (Torino)*. 1977; 134 (4): 413-435.
- Barriocanal, L. A., Palacios, M., Benitez, G., Benitez, S., Jimenez, J. T., Jimenez, N., & Rojas, V. Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as sweeteners in humans. A pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in type 1 and type 2 diabetics. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2008; 51 (1): 37-41.
- Baumann, H., & Gauldie, J. The acute phase response. *Immunol Today*. 1994; 15 (2): 74-80.

- Ben-Sasson, S. Z., Wang, K., Cohen, J., & Paul, W. E. Il-1 β strikingly enhances antigen-driven cd4 and cd8 t-cell responses. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2013; 78: 117-124.
- Ben Aribia, M. H., Leroy, E., Lantz, O., Metivier, D., Autran, B., Charpentier, B., . . . Senik, A. Il-2- induced proliferation of human circulating nk cells and t lymphocytes: Synergistic effects of il-1 and il-2. *J Immunol.* 1987; 139 (2): 443-451.
- Bessler, H., & Djaldetti, M. The impact of three commercial sweeteners on cytokine expression by mononuclears impelled by colon carcinoma cells. *Int J Food Sci Nutr.* 2019; 70 (8): 970-976.
- Beutler, B. Innate immunity: An overview. *Mol Immunol.* 2004; 40 (12): 845-859.
- Beutler, B., & Cerami, A. The biology of cachectin/tnf--a primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol.* 1989; 7: 625-655.
- Bilan, P. J., Samokhvalov, V., Koshkina, A., Schertzer, J. D., Samaan, M. C., & Klip, A. Direct and macrophage-mediated actions of fatty acids causing insulin resistance in muscle cells. *Arch Physiol Biochem.* 2009; 115 (4): 176-190.
- Biondi-Zoccai, G. G., Abbate, A., Liuzzo, G., & Biasucci, L. M. Atherothrombosis, inflammation, and diabetes. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 41 (7): 1071-1077.
- Bloomgarden, Z. T. Inflammation and insulin resistance. *Diabetes Care.* 2003; 26 (5): 1619-1623.
- Boni-Schnetzler, M., Boller, S., Debray, S., Bouzakri, K., Meier, D. T., Prazak, R., . . . Donath, M. Y. Free fatty acids induce a proinflammatory response in islets via the abundantly expressed interleukin-1 receptor i. *Endocrinology.* 2009; 150 (12): 5218-5229.
- Boni-Schnetzler, M., Thorne, J., Parnaud, G., Marselli, L., Ehse, J. A., Kerr-Conte, J., . . . Donath, M. Y. Increased interleukin (il)-1 β messenger ribonucleic acid expression in beta -cells of individuals with type 2 diabetes and regulation of il-1 β in human islets by glucose and autostimulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93 (10): 4065-4074.
- Brandle, J. E., & Telmer, P. G. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry.* 2007; 68 (14): 1855- 1863.
- Butcher, M. J., Hallinger, D., Garcia, E., Machida, Y., Chakrabarti, S., Nadler, J., . . . Imai, Y. Association of proinflammatory cytokines and islet resident leucocytes with islet dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2014; 57 (3): 491-501.
- Calle, M. C., & Fernandez, M. L. Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2012; 38 (3): 183-191.
- Carey, A. L., & Febbraio, M. A. Interleukin-6 and insulin sensitivity: Friend or foe? *Diabetologia.* 2004; 47 (7): 1135-1142.
- Cekic, V., Vasovic, V., Jakovljevic, V., Mikov, M., & Sabo, A. Hypoglycaemic action of stevioside and small a, cyrillic barley and brewer's yeast based preparation in the experimental model on mice. *Bosn J Basic Med Sci.* 2011; 11 (1): 11-16.
- Cerretti, D. P., Kozlosky, C. J., Mosley, B., Nelson, N., Van Ness, K., Greenstreet, T. A., . . . et al. Molecular cloning of the interleukin-1 β converting enzyme. *Science.* 1992; 256 (5053): 97-100.
- Chen, W., Frank, M. E., Jin, W., & Wahl, S. M. Tgf- β released by apoptotic t cells contributes to an immunosuppressive milieu. *Immunity.* 2001; 14 (6): 715-725.

- Choi, S. E., Choi, K. M., Yoon, I. H., Shin, J. Y., Kim, J. S., Park, W. Y., . . . Park, C. G. IL-6 protects pancreatic islet beta cells from pro-inflammatory cytokines-induced cell death and functional impairment in vitro and in vivo. *Transpl Immunol.* 2004; 13 (1): 43-53.
- Christiansen, T., Richelsen, B., & Bruun, J. M. Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. *Int J Obes (Lond).* 2005; 29 (1): 146-150.
- Clark, M., Kroger, C. J., & Tisch, R. M. Type 1 diabetes: A chronic anti-self-inflammatory response. *Front Immunol.* 2017; 8: 1898.
- Cnop, M., Welsh, N., Jonas, J. C., Jorns, A., Lenzen, S., & Eizirik, D. L. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: Many differences, few similarities. *Diabetes.* 2005; 54 Suppl 2: S97-107.
- Cooper, M. D., & Alder, M. N. The evolution of adaptive immune systems. *Cell.* 2006; 124 (4): 815-822.
- Coppieters, K. T., Dotta, F., Amirian, N., Campbell, P. D., Kay, T. W., Atkinson, M. A., . . . von Herrath, M. G. Demonstration of islet-autoreactive cd8 t cells in insulinitic lesions from recent onset and long-term type 1 diabetes patients. *J Exp Med.* 2012; 209 (1): 51-60.
- Dandona, P., Aljada, A., & Bandyopadhyay, A. Inflammation: The link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 2004; 25 (1): 4-7.
- Dandona, P., Aljada, A., Chaudhuri, A., Mohanty, P., & Garg, R. Metabolic syndrome: A comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation.* 2005; 111 (11): 1448-1454.
- Debnath, M. et. al. Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. *Journal of Medicinal Plants Research.* 2008; 2 (2): 45-51.
- Deeds, M. C., Anderson, J. M., Armstrong, A. S., Gastineau, D. A., Hiddinga, H. J., Jahangir, A., . . . Kudva, Y. C. Single dose streptozotocin-induced diabetes: Considerations for study design in islet transplantation models. *Lab Anim.* 2011; 45 (3): 131-140.
- Deeney, J. T., Prentki, M., & Corkey, B. E. Metabolic control of beta-cell function. *Semin Cell Dev Biol.* 2000; 11 (4): 267-275.
- Dinarello, C. A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* 2011; 117 (14): 3720-3732.
- Dinarello, C. A., & Wolff, S. M. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med.* 1993; 328 (2): 106-113.
- Donath, M. Y. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: Time to start. *Nat Rev Drug Discov.* 2014; 13 (6): 465-476.
- Donath, M. Y., Gross, D. J., Cerasi, E., & Kaiser, N. Hyperglycemia-induced beta-cell apoptosis in pancreatic islets of psammomys obesus during development of diabetes. *Diabetes.* 1999; 48 (4): 738-744.
- Donath, M. Y., & Shoelson, S. E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11 (2): 98-107.

- Donath, M. Y., Storling, J., Maedler, K., & Mandrup-Poulsen, T. Inflammatory mediators and islet beta-cell failure: A link between type 1 and type 2 diabetes. *J Mol Med (Berl)*. 2003; 81 (8): 455-470.
- Duncan, B. B., Schmidt, M. I., Pankow, J. S., Ballantyne, C. M., Couper, D., Vigo, A., . . . Atherosclerosis Risk in Communities, S. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: The atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003; 52 (7): 1799-1805.
- Ehses, J. A., Meier, D. T., Wueest, S., Rytka, J., Boller, S., Wielinga, P. Y., . . . Donath, M. Y. Toll- like receptor 2-deficient mice are protected from insulin resistance and beta cell dysfunction induced by a high-fat diet. *Diabetologia*. 2010; 53 (8): 1795-1806.
- Eizirik, D. L., Colli, M. L., & Ortis, F. The role of inflammation in insulinitis and beta-cell loss in type 1 diabetes. *Nat Rev Endocrinol*. 2009; 5 (4): 219-226.
- El-Sheikh, A., Suarez-Pinzon, W. L., Power, R. F., & Rabinovitch, A. Both cd4(+)and cd8(+)t cells are required for ifn-gamma gene expression in pancreatic islets and autoimmune diabetes development in biobreeding rats. *J Autoimmun*. 1999; 12 (2): 109-119.
- Eleazu, C. O., Eleazu, K. C., Ironkwe, A., & Iroaganachi, M. A. Effect of livingstone potato (*Plectranthus esculentus* n.E.Br) on diabetes and its complications in streptozotocin induced diabetes in rats. *Diabetes Metab J*. 2014; 38 (5): 366-374.
- Elzinga, S. E., Rohleder, B., Schanbacher, B., McQuerry, K., Barker, V. D., & Adams, A. A. Metabolic and inflammatory responses to the common sweetener stevioside and a glycemic challenge in horses with equine metabolic syndrome. *Domest Anim Endocrinol*. 2017; 60: 1-8.
- Engelgau, M. M., Colagiuri, S., Ramachandran, A., Borch-Johnsen, K., Narayan, K. M., & Atlanta Meeting, G. Prevention of type 2 diabetes: Issues and strategies for identifying persons for interventions. *Diabetes Technol Ther*. 2004; 6 (6): 874-882.
- Ewenighi, C. O., Uchechukwu, D., Adejumo, B. I., Onyeausi, J. C., Nnatuanya, I. N., Onoh, O. G., . . . Ogbuikwe, O. I. Responses to glycemic control therapy according to age, gender, level of adiposity, and duration of diabetes in type 2 diabetic patients. *Indian J Med Sci*. 2013; 67 (3-4): 61-69.
- Farrar, M. A., & Schreiber, R. D. The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. *Annu Rev Immunol*. 1993; 11: 571-611.
- Fernandez-Real, J. M., & Ricart, W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev*. 2003; 24 (3): 278-301.
- Ferreira, E. B., de Assis Rocha Neves, F., da Costa, M. A., do Prado, W. A., de Araujo Funari Ferri, L., & Bazotte, R. B. Comparative effects of stevia rebaudiana leaves and stevioside on glycaemia and hepatic gluconeogenesis. *Planta Med*. 2006; 72 (8): 691-696.
- Festa, A., D'Agostino, R., Jr., Howard, G., Mykkanen, L., Tracy, R. P., & Haffner, S. M. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: The insulin resistance atherosclerosis study (iras). *Circulation*. 2000; 102 (1): 42-47.
- Festa, A., D'Agostino, R., Jr., Tracy, R. P., Haffner, S. M., & Insulin Resistance Atherosclerosis, S. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen

- activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: The insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes*. 2002; 51 (4): 1131-1137.
- Feuerer, M., Shen, Y., Littman, D. R., Benoist, C., & Mathis, D. How punctual ablation of regulatory t cells unleashes an autoimmune lesion within the pancreatic islets. *Immunity*. 2009; 31 (4): 654-664.
- Francisco, C. O., Catai, A. M., Moura-Tonello, S. C., Arruda, L. C., Lopes, S. L., Benze, B. G., . . . Leal, A. M. Cytokine profile and lymphocyte subsets in type 2 diabetes. *Braz J Med Biol Res*. 2016; 49 (4): e5062.
- Freeman, D. J., Norrie, J., Caslake, M. J., Gaw, A., Ford, I., Lowe, G. D., . . . West of Scotland Coronary Prevention, S. C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the west of scotland coronary prevention study. *Diabetes*. 2002; 51 (5): 1596-1600.
- Fried, S. K., Bunkin, D. A., & Greenberg, A. S. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: Depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83 (3): 847-850.
- Gabay, C., & Kushner, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. 1999; 340 (6): 448-454.
- Gerhardt, C. C., Romero, I. A., Cancelli, R., Camoin, L., & Strosberg, A. D. Chemokines control fat accumulation and leptin secretion by cultured human adipocytes. *Mol Cell Endocrinol*. 2001; 175 (1-2): 81-92.
- Ghanim, H., Aljada, A., Hofmeyer, D., Syed, T., Mohanty, P., & Dandona, P. Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. *Circulation*. 2004; 110 (12): 1564-1571.
- Global Health Estimates 2015 : Deaths by Cause Age Sex by Country and by Region 2000-2015. *Global Report on Diabetes* [Internet]. World Health Organization (2016).
- Goyal, S. K., Samsher, & Goyal, R. K. Stevia (stevia rebaudiana) a bio-sweetener: A review. *Int J Food Sci Nutr*. 2010; 61 (1): 1-10.
- Gregersen, S., Jeppesen, P. B., Holst, J. J., & Hermansen, K. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2004; 53 (1): 73-76.
- Guermonprez, P., Valladeau, J., Zitvogel, L., Thery, C., & Amigorena, S. Antigen presentation and t cell stimulation by dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2002; 20: 621-667.
- Han, T. S., Sattar, N., Williams, K., Gonzalez-Villalpando, C., Lean, M. E., & Haffner, S. M. Prospective study of c-reactive protein in relation to the development of diabetes and metabolic syndrome in the mexico city diabetes study. *Diabetes Care*. 2002; 25 (11): 2016-2021.
- Haverson, L., Danielsson, K. N., Fogelstrand, L., & Wiklund, O. Induction of proinflammatory cytokines by long-chain saturated fatty acids in human macrophages. *Atherosclerosis*. 2009; 202 (2): 382-393.
- Heba, M. S. E., El-Elaimy, I. A., Ibrahim, H. M., Badr, M., Gamal, B. Increased level of type I Interferon (IFN) during type I diabetes (T1D) induces apoptosis in spleen-homing T cells. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2012; 6(37): 2675-2681.
- Hossain, M. S., Alam, M. B., Asadujjaman, M., Islam, M. M., Rahman, M. A., Islam, M. A., Islam, A. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of different fractions of *S. rebaudiana* leaves in alloxan induced diabetics rats. *Int J Pharm Sci Res*.

- 2011; 2: 1722– 1729.
- Hotamisligil, G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006; 444 (7121): 860-867.
- Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S., & Spiegelman, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993; 259 (5091): 87-91.
- Hu, P., Han, Z., Couvillon, A. D., Kaufman, R. J., & Exton, J. H. Autocrine tumor necrosis factor α links endoplasmic reticulum stress to the membrane death receptor pathway through ire1 α -mediated nf-kappa β activation and down-regulation of traf2 expression. *Mol Cell Biol*. 2006; 26 (8): 3071-3084.
- Igoillo-Esteve, M., Marselli, L., Cunha, D. A., Ladriere, L., Ortis, F., Grieco, F. A., . . . Cnop, M. Palmitate induces a pro-inflammatory response in human pancreatic islets that mimics ccl2 expression by beta cells in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2010; 53 (7): 1395-1405.
- In't Veld, P. Insulitis in human type 1 diabetes: The quest for an elusive lesion. *Islets*. 2011; 3 (4): 131-138.
- Jenkinson, E. J., Jenkinson, W. E., Rossi, S. W., & Anderson, G. The thymus and t-cell commitment: The right niche for notch? *Nat Rev Immunol*. 2006; 6 (7): 551-555.
- Jeppesen, P. B., Dyrskog, S. E., Agger, A., Gregersen, S., Colombo, M., Xiao, J., & Hermansen, K. Can stevioside in combination with a soy-based dietary supplement be a new useful treatment of type 2 diabetes? An in vivo study in the diabetic goto-kakizaki rat. *Rev Diabet Stud*. 2006; 3 (4): 189-199.
- Jeppesen, P. B., Gregersen, S., Rolfsen, S. E., Jepsen, M., Colombo, M., Agger, A., . . . Hermansen, K. Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic goto-kakizaki rat. *Metabolism*. 2003; 52 (3): 372-378.
- Jones, S. A., Horiuchi, S., Topley, N., Yamamoto, N., & Fuller, G. M. The soluble interleukin 6 receptor: Mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J*. 2001; 15 (1): 43-58.
- Kamimura, D., Ishihara, K., & Hirano, T. Il-6 signal transduction and its physiological roles: The signal orchestration model. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 2003; 149: 1-38.
- Kaminuma, O., Kitamura, F., Miyatake, S., Yamaoka, K., Miyoshi, H., Inokuma, S., . . . Hiroi, T. T-box 21 transcription factor is responsible for distorted t(h)2 differentiation in human peripheral cd4⁺ t cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123 (4): 813-823 e813.
- Katsarou, A., Gudbjornsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., . . . Lernmark, A. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17016.
- Kim, E. Y., Priatel, J. J., Teh, S. J., & Teh, H. S. Tnf receptor type 2 (p75) functions as a costimulator for antigen-driven t cell responses in vivo. *J Immunol*. 2006; 176 (2): 1026-1035.

- Kim, J. J., & Sears, D. D. Tlr4 and insulin resistance. *Gastroenterol Res Pract*. 2010; 2010.
- Kiortsis, D. N., Mavridis, A. K., Vasakos, S., Nikas, S. N., & Drosos, A. A. Effects of infliximab treatment on insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64 (5): 765-766.
- Kolb, H., & Mandrup-Poulsen, T. An immune origin of type 2 diabetes? *Diabetologia*. 2005; 48 (6): 1038-1050.
- Konoshima, T., Takasaki, M. Cancer-chemopreventive effects of natural sweeteners and related compounds. *Pure and Applied Chemistry*. 2002; 74 (7): 1309–1316.
- Krogh-Madsen, R., Plomgaard, P., Moller, K., Mittendorfer, B., & Pedersen, B. K. Influence of tnf- alpha and il-6 infusions on insulin sensitivity and expression of il-18 in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006; 291 (1): E108-114.
- Kujur, R. S., Singh, V., Ram, M., Yadava, H. N., Singh, K. K., Kumari, S., & Roy, B. K. Antidiabetic activity and phytochemical screening of crude extract of stevia rebaudiana in alloxan- induced diabetic rats. *Pharmacognosy Res*. 2010; 2 (4): 258-263.
- Lagathu, C., Bastard, J. P., Auclair, M., Maachi, M., Capeau, J., & Caron, M. Chronic interleukin-6 (il-6) treatment increased il-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: Prevention by rosiglitazone. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 311 (2): 372-379.
- Leahy, J. L. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res*. 2005; 36 (3): 197-209.
- LeBien, T. W., & Tedder, T. F. B lymphocytes: How they develop and function. *Blood*. 2008; 112 (5): 1570-1580.
- Lee, J. Y., Sohn, K. H., Rhee, S. H., & Hwang, D. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through toll-like receptor 4. *J Biol Chem*. 2001; 276 (20): 16683-16689.
- Lee, J. Y., Zhao, L., Youn, H. S., Weatherill, A. R., Tapping, R., Feng, L., . . . Hwang, D. H. Saturated fatty acid activates but polyunsaturated fatty acid inhibits toll-like receptor 2 dimerized with toll-like receptor 6 or 1. *J Biol Chem*. 2004; 279 (17): 16971-16979.
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Galvez, A., Zura-Bravo, L., & Ah-Hen, K. Stevia rebaudiana bertonii, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chem*. 2012; 132 (3): 1121-1132.
- Li, M. O., & Flavell, R. A. Contextual regulation of inflammation: A duet by transforming growth factor-beta and interleukin-10. *Immunity*. 2008; 28 (4): 468-476.
- Li, M. O., Wan, Y. Y., Sanjabi, S., Robertson, A. K., & Flavell, R. A. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2006; 24: 99-146.
- Loh, L., Ivarsson, M. A., Michaelsson, J., Sandberg, J. K., & Nixon, D. F. Invariant natural killer t cells developing in the human fetus accumulate and mature in the small intestine. *Mucosal Immunol*. 2014; 7 (5): 1233-1243.
- Maedler, K., Sergeev, P., Ris, F., Oberholzer, J., Joller-Jemelka, H. I., Spinas, G. A., . . . Donath, M. Y. Glucose-induced beta cell production of il-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest*. 2002; 110 (6): 851-860.
- Maedler, K., Spinas, G. A., Lehmann, R., Sergeev, P., Weber, M., Fontana, A., . . . Donath,

- M. Y. Glucose induces beta-cell apoptosis via upregulation of the fas receptor in human islets. *Diabetes*. 2001; 50 (8): 1683-1690.
- Mailer, R. K., Joly, A. L., Liu, S., Elias, S., Tegner, J., & Andersson, J. Il-1 β promotes th17 differentiation by inducing alternative splicing of foxp3. *Sci Rep*. 2015; 5: 14674.
- Markle, J. G., Frank, D. N., Mortin-Toth, S., Robertson, C. E., Feazel, L. M., Rolfe-Kampczyk, U., Danska, J. S. Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science*. 2013; 339 (6123): 1084-1088.
- McCarthy, M. I., & Zeggini, E. Genome-wide association studies in type 2 diabetes. *Curr Diab Rep*. 2009; 9 (2): 164-171.
- Medzhitov, R., & Janeway, C., Jr. Innate immunity. *N Engl J Med*. 2000; 343 (5): 338-344.
- Mehta, A. K., Gracias, D. T., & Croft, M. Tnf activity and t cells. *Cytokine*. 2018; 101: 14-18.
- Meier, C. A., Bobbioni, E., Gabay, C., Assimacopoulos-Jeannet, F., Golay, A., & Dayer, J. M. Il-1 receptor antagonist serum levels are increased in human obesity: A possible link to the resistance to leptin? *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87 (3): 1184-1188.
- Meigs, J. B., Hu, F. B., Rifai, N., & Manson, J. E. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2004; 291 (16): 1978-1986.
- Misra, H., Soni, M., Silawat, N., Mehta, D., Mehta, B. K., & Jain, D. C. Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of *stevia rebaudiana* bert. (bertoni) on alloxan- induced diabetic rats. *J Pharm Bioallied Sci*. 2011; 3 (2): 242-248.
- Montecucco, F., Steffens, S., & Mach, F. Insulin resistance: A proinflammatory state mediated by lipid-induced signaling dysfunction and involved in atherosclerotic plaque instability. *Mediators Inflamm*. 2008; 2008: 767623.
- Moore, F., Colli, M. L., Cnop, M., Esteve, M. I., Cardozo, A. K., Cunha, D. A., Eizirik, D. L. Ptpn2, a candidate gene for type 1 diabetes, modulates interferon-gamma-induced pancreatic beta-cell apoptosis. *Diabetes*. 2009; 58 (6): 1283-1291.
- Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., & O'Garra, A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001; 19: 683-765.
- Newgard, C. B., & McGarry, J. D. Metabolic coupling factors in pancreatic beta-cell signal transduction. *Annu Rev Biochem*. 1995; 64: 689-719.
- Pamukcu, A. M., Erturk, E., Yalciner, S., & Bryan, G. T. Histogenesis of urinary bladder cancer induced in rats by bracken fern. *Invest Urol*. 1976; 14 (3): 213-218.
- Pang, S., Zhang, L., Wang, H., Yi, Z., Li, L., Gao, L., . . . Wang, B. Cd8(+) t cells specific for beta cells encounter their cognate antigens in the islets of nod mice. *Eur J Immunol*. 2009; 39 (10): 2716-2724.
- Paul, W. E., *Fundamental Immunology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2003.
- Peraldi, P., & Spiegelman, B. Tnf- α and insulin resistance: Summary and future prospects. *Mol Cell Biochem*. 1998; 182 (1-2): 169-175.
- Phillips, J. M., Parish, N. M., Raine, T., Bland, C., Sawyer, Y., De La Pena, H., & Cooke, A. Type 1 diabetes development requires both cd4+ and cd8+ t cells and can be reversed by non- depleting antibodies targeting both t cell populations. *Rev Diabet Stud*. 2009; 6 (2): 97- 103.
- Pickup, J. C. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of

- type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27 (3): 813-823.
- Pickup, J. C., & Crook, M. A. Is type ii diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia*. 1998; 41 (10): 1241-1248.
- Pickup, J. C., Mattock, M. B., Chusney, G. D., & Burt, D. Niddm as a disease of the innate immune system: Association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome x. *Diabetologia*. 1997; 40 (11): 1286-1292.
- Pittas, A. G., Joseph, N. A., & Greenberg, A. S. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89 (2): 447-452.
- Pournaghi, P., Sadrkhanlou, R. A., Hasanzadeh, S., & Foroughi, A. An investigation on body weights, blood glucose levels and pituitary-gonadal axis hormones in diabetic and metformin-treated diabetic female rats. *Vet Res Forum*. 2012; 3 (2): 79-84.
- Pradhan, A. D., Cook, N. R., Buring, J. E., Manson, J. E., & Ridker, P. M. C-reactive protein is independently associated with fasting insulin in nondiabetic women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23 (4): 650-655.
- Pradhan, A. D., Manson, J. E., Rifai, N., Buring, J. E., & Ridker, P. M. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001; 286 (3): 327-334.
- Pradhan, A. D., & Ridker, P. M. Do atherosclerosis and type 2 diabetes share a common inflammatory basis? *Eur Heart J*. 2002; 23 (11): 831-834.
- Pugliese, A. Autoreactive t cells in type 1 diabetes. *J Clin Invest*. 2017; 127 (8): 2881-2891.
- Qasim, Q. A., Fareed, Y. Y., Hassan, J. Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor- α in Obese and Non-Obese Type 2 Diabetes Mellitus Patients as Compared with Control Subjects. *New Iraqi Journal of Medicine*. 2018; 15 (3): 297.
- Ramos-Tovar, E., Flores-Beltran, R. E., Galindo-Gomez, S., Vera-Aguilar, E., Diaz-Ruiz, A., Montes, S., . . . Muriel, P. Stevia rebaudiana tea prevents experimental cirrhosis via regulation of nf-kappab, nrf2, transforming growth factor beta, smad7, and hepatic stellate cell activation. *Phytother Res*. 2018; 32 (12): 2568-2576.
- Richardson, S. J., Morgan, N. G., & Foulis, A. K. Pancreatic pathology in type 1 diabetes mellitus. *Endocr Pathol*. 2014; 25 (1): 80-92.
- Roep, B. O. The role of t-cells in the pathogenesis of type 1 diabetes: From cause to cure. *Diabetologia*. 2003; 46 (3): 305-321.
- Rosales-Gomez, C. A., Martinez-Carrillo, B. E., Resendiz-Albor, A. A., Ramirez-Duran, N., Valdes- Ramos, R., Mondragon-Velasquez, T., & Escoto-Herrera, J. A. Chronic consumption of sweeteners and its effect on glycaemia, cytokines, hormones, and lymphocytes of galt in cd1 mice. *Biomed Res Int*. 2018; 2018: 1345282.
- Rotter, V., Nagaev, I., & Smith, U. Interleukin-6 (il-6) induces insulin resistance in 3t3-l1 adipocytes and is, like il-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J Biol Chem*. 2003; 278 (46): 45777-45784.
- Ruan, H., & Lodish, H. F. Insulin resistance in adipose tissue: Direct and indirect effects of tumor necrosis factor-alpha. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003; 14 (5): 447-455.

- Sandler, S., Bendtzen, K., Eizirik, D. L., & Welsh, M. Interleukin-6 affects insulin secretion and glucose metabolism of rat pancreatic islets in vitro. *Endocrinology*. 1990; 126 (2): 1288- 1294.
- Savage, D. B., Petersen, K. F., & Shulman, G. I. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev*. 2007; 87 (2): 507-520.
- Savita, S. M., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A. G., Ramakrishna, P. *Stevia rebaudiana* - A functional component for food industry. *Journal of Human Ecology*. 2010; 15 (4): 261- 264.
- Senn, J. J., Klover, P. J., Nowak, I. A., Zimmers, T. A., Koniaris, L. G., Furlanetto, R. W., & Mooney, R. A. Suppressor of cytokine signaling-3 (socs-3), a potential mediator of interleukin-6- dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem*. 2003; 278 (16): 13740-13746.
- Sharma, R., Yadav, R., Manivannan, E. Study of effect of *Stevia rebaudiana* bertoni on oxidative stress in type-2 diabetic rat models. *Biomedicine & Aging Pathology*. 2012; 126-131.
- Shi, H., Kokoeva, M. V., Inouye, K., Tzamelis, I., Yin, H., & Flier, J. S. Tlr4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006; 116 (11): 3015-3025.
- Shivanna, N., Naika, M., Khanum, F., & Kaul, V. K. Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of *stevia rebaudiana*. *J Diabetes Complications*. 2013; 27 (2): 103-113.
- Singh, S., Garg, V., Yadav, D. Antihyperglycemic and antioxidative ability of *S. rebaudiana* (Bertoni) leaves in diabetes induced mice. *Int J Pharm Pharm*. 2013; 5: 297– 302.
- Song, M. J., Kim, K. H., Yoon, J. M., & Kim, J. B. Activation of toll-like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 346 (3): 739-745.
- Songu, M., Katılmış, H. Immune system and protection from infections. *J Med Updates*. 2012; 2 (1): 31-42.
- Southern, C., Schulster, D., & Green, I. C. Inhibition of insulin secretion from rat islets of langerhans by interleukin-6. An effect distinct from that of interleukin-1. *Biochem J*. 1990; 272 (1): 243-245.
- Steel, D. M., & Whitehead, A. S. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid p component and serum amyloid a protein. *Immunol Today*. 1994; 15 (2): 81- 88.
- Stouthard, J. M., Oude Elferink, R. P., & Sauerwein, H. P. Interleukin-6 enhances glucose transport in 3t3-l1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996; 220 (2): 241-245.
- Strassmann, G., Fong, M., Windsor, S., & Neta, R. The role of interleukin-6 in lipopolysaccharide- induced weight loss, hypoglycemia and fibrinogen production, in vivo. *Cytokine*. 1993; 5 (4): 285-290.
- Sumon, M. H., Mostofa, A., Jahan, M. S., Kayesh, M. E. H., Haque, M. A. Comparative efficacy of powdered form of *stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) leaves and glimepiride in induced diabetic rats. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*. 2008; 6 (2)-8.

- Takahama, Y. Journey through the thymus: Stromal guides for t-cell development and selection. *Nat Rev Immunol*. 2006; 6 (2): 127-135.
- Takeda, K., & Akira, S. Tlr signaling pathways. *Semin Immunol*. 2004; 16 (1): 3-9.
- Terabe, M., Swann, J., Ambrosino, E., Sinha, P., Takaku, S., Hayakawa, Y., . . . Berzofsky, J. A. A nonclassical non-valpha14jalpha18 cd1d-restricted (type ii) nkt cell is sufficient for down- regulation of tumor immunosurveillance. *J Exp Med*. 2005; 202 (12):1627-1633.
- Thorand, B., Baumert, J., Kolb, H., Meisinger, C., Chambless, L., Koenig, W., & Herder, C. Sex differences in the prediction of type 2 diabetes by inflammatory markers: Results from the monica/kora augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Diabetes Care*. 2007; 30 (4): 854-860.
- Thorand, B., Lowel, H., Schneider, A., Kolb, H., Meisinger, C., Frohlich, M., & Koenig, W. C-reactive protein as a predictor for incident diabetes mellitus among middle-aged men: Results from the monica augsburg cohort study, 1984-1998. *Arch Intern Med*. 2003; 163 (1): 93-99.
- Tracey, K. J., Fong, Y., Hesse, D. G., Manogue, K. R., Lee, A. T., Kuo, G. C., . . . Cerami, A. Anti- cachectin/tnf monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*. 1987; 330 (6149): 662-664.
- Wadt, K. A., Larsen, C. M., Andersen, H. U., Nielsen, K., Karlsen, A. E., & Mandrup-Poulsen, T. Ciliary neurotrophic factor potentiates the beta-cell inhibitory effect of il-1beta in rat pancreatic islets associated with increased nitric oxide synthesis and increased expression of inducible nitric oxide synthase. *Diabetes*. 1998; 47 (10): 1602-1608.
- Walker, L. S., & von Herrath, M. Cd4 t cell differentiation in type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2016; 183 (1): 16-29.
- Wang, Z., Xue, L., Guo, C., Han, B., Pan, C., Zhao, S., . . . Ma, Q. Stevioside ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance and adipose tissue inflammation by downregulating the nf-kappab pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 417 (4): 1280-1285.
- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W., Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003; 112 (12): 1796-1808.
- Wellen, K. E., & Hotamisligil, G. S. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005; 115 (5): 1111-1119.
- World Health Organization Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014: Attaining the Nine Global Noncommunicable Diseases Targets; A Shared Responsibility.
- Xu, H., Barnes, G. T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C. J., . . . Chen, H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 2003; 112 (12): 1821-1830.
- Yoon, J. W., & Jun, H. S. Autoimmune destruction of pancreatic beta cells. *Am J Ther*. 2005; 12 (6): 580-591.
- Zhang, J. M., & An, J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007; 45

- (2): 27-37. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994; 372 (6505): 425-432.
- Zhou, K., Donnelly, L., Burch, L., Tavendale, R., Doney, A. S., Leese, G., . . . Pearson, E. R. Loss-of- function cyp2c9 variants improve therapeutic response to sulfonylureas in type 2 diabetes: A go-darts study. *Clin Pharmacol Ther*. 2010; 87 (1): 52-56.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Erhan	Uyruğu	Türkiye
Soyadı	Cebeci	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Samiha Ayverdi Anadolu Lisesi	2012
Lisans	Gebze Teknik Üniversitesi	2018
Yüksek Lisans		
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	Yök Dil	57

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Steviosid'in Normal ve Hiperglisemi Koşullarda Sıçan Plasentasında Endotel ve Trofoblast Hücrelerinde Glukoz Transportuna etkisinin Araştırılması.	Tubitak	2 yıl

Burslar-Ödüller:

Yayınlar ve Bildiriler: Poster sunumu, Elektron Mikroskopi Kongresi. 24-26 Nisan. "YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ SONUCU GERÇEKLEŞEN GEBELİKLERİN PLASENTALARINDA ANJİYOGENEZ MEKANİZMASININ İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENME