

Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Meşe Palamudu (*Quercus branti* Lindl.) Ekstraktların Karaciğer ve Pankreası Koruyucu Etkileri

Turan YAMAN*¹, Abdulahad DOĞAN²

¹ Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

Özet

Diabetes mellitus (DM) tüm dünyada en sık rastlanan kronik endokrin bozukluktur. Sunulan bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabetik sıçan modelinde, karaciğer ve pankreas yapısında ortaya çıkan histolojik değişiklikler üzerine güçlü antioksidan özelliklere sahip olan meşe palamudu (*Quercus branti* Lindl.) ekstraktının farklı dozlarının koruyucu etkinliği diyabet tedavisinde kullanılan ticari bir preparasyon olan Akarboz (Glukobay®) ile kıyaslamalı olarak araştırıldı. Kırkiki adet erkek Wistar albino cinsi sıçan; Kontrol; Diabetes mellitus (DM); DM + 20 mg/kg Akarboz; DM + 100 mg/kg meşe palamudu (MP) ekstresi (MP1); DM + 250 mg/kg MP ekstresi (MP2) grubu, DM + 500 mg/kg MP ekstresi (MP3) olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Deneysel diyabet 50 mg/kg streptozotosinin intraperitoneal (i.p.) olarak enjeksiyonu ile oluşturuldu. Meşe palamudu ekstraktının tüm dozları ve Akarboz 21 gün boyunca gastrik gavaj yolu ile verildi. Kan glukoz düzeyleri deney süresince kaydedildi. Karaciğer kesitlerinin incelenmesinde, diyabetik sıçanlarda hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz, portal alanlarda yangısal hücre infiltrasyonu, fibrozis ve safra kanalı hiperplazisi görüldü. Pankreas kesitlerinde langerhans adacıklarının belirgin hücre kaybı sonucu normal görünümünü kaybettiği gözlemlendi. Bu histopatolojik değişiklikler meşe palamudu ekstraktı verilen MP1, MP2 ve MP3 gruplarında önemli derecede azalmıştı. Sonuç olarak, meşe palamudu ekstraktının sıçanlarda STZ ile oluşturulan diyabette karaciğer ve pankreas hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu sunulan bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: diyabet, karaciğer, Meşe palamudu, patoloji

Protective Effects of Acorn (*Quercus Branti* lindl.) Extract on Liver and Pancreas in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Summary

Diabetes mellitus (DM) is the most common chronic endocrine disorder in worldwide. The protective effects of acorn (*Quercus branti* Lindl.) extract, potent antioxidant properties, were investigated on histological changes of liver and pancreas in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats in this study. For this purpose the effect of different doses of extract were compared with Akarboz (Glukobay®), a commercial anti-diabetic preparation. Forty-two healthy Wistar albino male rats were divided into six groups as Control; Diabetes mellitus (DM); DM+Akarboz 20 mg/kg; DM+100 mg/kg acorn (MP1); DM+250 mg/kg acorn extract (MP2); DM+500 mg/kg acorn (MP3). Experimental diabetes was induced by a single-dose [50 mg/kg, intra-peritoneal (i.p)] STZ injection. Essential dosages of acorn extracts and Akarboz were applied with gastric gavage for 21 day. Blood glucose levels were recorded throughout the all experiment period. Examination of stained liver sections revealed necrosis and degeneration of hepatocytes, inflammatory cell infiltration and fibrosis in portal area and bile duct hyperplasia in the diabetic rats. Marked abnormal histology with evident cell loss were detected in pancreas tissues. These histopathological changes were significantly decreased in MP1, MP2 and MP3 groups with administration of acorn extract. In conclusion the present study indicates that acorn extract have a protective effect on hepatic and pancreatic damage in STZ-induced diabetic rats.

Key words: Acorn, diabetes, liver, pathology

• Bu Çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından desteklenmiştir (YUBAP). Proje Numarası: 2013-FBE-D064

GİRİŐ

Diabetes mellitus, günümüz insanının yaşam şartlarından dolayı tüm dünyada hızla yayılan, yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır (1). Bu hastalık, insülin sekresyonu, aktivasyonu veya her ikisindeki defekt sonucu şekillenen hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir bozukluktur (2). Hiperglisemi, glukozun hepatik yapımının artmasıyla beraber kas ve yağ hücrelerinin yetersiz glukoz alımına bağlı periferik kullanımının azalmasıyla da serbest kan dolaşımındaki glukozun yüksekliği ile sonuçlanan semptomdur (3). Diyabet süresinde oluşan kronik hiperglisemi (tip 1 ve tip 2’de) rektif oksijen türlerini arttırarak oksidatif strese neden olur (4). Diyabet ve ilişkili komplikasyonların patogenezinde ve ilerlemesinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı bildirilmiştir (5, 6).

Karaciğer, karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde merkezi ve kritik bir rol oynar (7). Diyabete bağlı olarak karaciğerde glikojen ve lipid metabolizmasını etkileyen çeşitli yapısal ve fonksiyonel bozukluklar şekillenir (8). Diyabet sonucu özellikle karaciğer olmak üzere pek çok organda oksidatif stresin arttığı belirtilmiştir (9). Hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres sonucu hepatositlerde belirgin şişkinlik, kromatin yoğunlaşması, apoptotik cisimcikler ve nekroz oluştuğu bildirilmiştir (10). Ayrıca oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu bilinen pankreas β hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin

toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünölmektedir (11).

Yapılan çalışmalarda polifenolik bileşiklerin STZ ile uyarılan diyabetik sıçanlarda oksidatif strese bağlı diyabetik komplikasyonların tedavisi ve önlenmesinde potansiyel birer antioksidan olduğu gösterilmiştir (12, 13). Meşe (*Quercus*) türleri polifenolik içerikleri ve geleneksel tıpta kullanılmalarından dolayı tüm dünyada iyi bilinmektedir (14). Bazı meşe palamudlarının içerdikleri polifenolik bileşiklerin biyolojik aktivitelerinden dolayı ishal, hemarajik ve iltihaplı hastalıklara karşı kullanıldığı bildirilmiştir (15). *Quercus brantii* Lind. (Fagaceae) ise Türkiye ormanlarında özellikle Güney ve Doğu Anadolu bölgelerinde yaygın bir meşe türüdür. Bu türün palamudunda gallik asid, metil gallat, epi-kateşin, p-komerik asid, elagik asid, rutin ve kuersitin gibi polifenolik bileşiklerin bulunduğu tespit edilmiştir (16).

Ratlarda STZ ile indüklenmiş diyabete karşı meşe palamudunun koruyucu etkisi üzerine çalışma bulunmamaktadır. Sunulan bu çalışma ile karaciğer ve pankreasta şekillenen diyabet kaynaklı hasara karşı Meşe (*Quercus brantii* Lindl.) palamudu ekstraktının koruyucu etkinliğini histopatolojik olarak ilk defa araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bitki Materyali

Meşe (*Quercus sp.*) bitkisi (37° 33' 39" K, 41° 45' 53" D) Mardin Dargeçit ilçesi (Hacı Hamza Köyü) yöresindeki koordinatlardan toplanarak Van YYÜ Biyoloji Bölümü Herbaryumuna getirildi. Yapılan teşhis sonucu meşe (*Quercus brantii* Lindl. herbaryum No:163743) türü olduğu belirlendi. Bu türe ait bitkilerden örnekler alınarak herbaryum numarası verilerek kayıt altına alındı.

Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Dalar ve Konczak (17) metodu modifiye ederek ekstraktlar hazırlandı. Meşe (*Quercus brantii* Lindl.) palamudunu tam olgunlaştığı zamanda nemden ve güneşten korunarak olabildiğince hijyen şartlarında toplandı. Meşe palamudları kurutuldu, parçalanarak toz haline getirildi. Meşe palamudu tozu 1/5 oranında distile (dH₂O) su ile sulandırıldı. Elektromanyetik karıştırıcı ile 24 saat boyunca çözünmesi sağlandı. Karışım filtre kâğıdından süzülür. Süzülen sıvı evaporatora konularak suyun buharlaşması sağlandıktan sonra kıvamsız madde falcon tüplerine konularak -80 °C de 48 saat bekletildi. Donmuş falcon tüpleri -51 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liofilize cihazına bırakıldı. Kuruyan ekstrakt parçalanarak tekrar toz haline getirildi ve çalışmada kullanılmak üzere +4 °C de muhafaza edildi. Deney hayvanlarına gavaj yapılma aşamasına gelindiğinde; hazırlanan ekstre canlı sıçan ağırlığına göre belirlenen miktarda tartıldı. Saf suda çözündürülerek enjektör yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilitik filtreden (Millipore) geçirildi ve gavaj için hazır hale getirildi.

Deney Hayvanları

Araştırmamızın canlı materyali olan 54 adet *Wistar albino* ırkı erkek sıçan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edildi. Üç-4 aylık, 200-350 gr ağırlığındaki hayvanlar, deneyin sonuna kadar 25±1 °C oda sıcaklığında 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık ışık periyodunda barındırıldı ve *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışmaya başlanmadan önce hayvanların kan glukoz değerlerine bakıldı. Yapılan çalışmada parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındıktan sonra uygulamaya geçildi. Bu çalışma için etik kurul onayı Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Toksisite testi

Wistar cinsi sıçan deney hayvanları gruplara ayrılmadan önce meşe (*Quercus brantii* Lindl.) palamudu ekstraktları ile 250, 500 ve 1000 mg/kg olmak üzere üç farklı dozda toksisite testi

yapıldı (18). Toksisite testi aşağıdaki şekilde 3 farklı dozda yapıldı.

1. Grup (n=4): 250 mg/kg MP ekstresi gavaj yoluyla verildi.
2. Grup (n=4): 500 mg/kg MP ekstresi gavaj yoluyla verildi.
3. Grup (n=4): 1000 mg/kg MP ekstresi gavaj yoluyla verildi.

Toksisite testi uygulamaları boyunca hayvanlarda herhangi bir olumsuzluk veya ölüme rastlanmadı.

Streptozotosinle (STZ) sıçanlarda diyabet oluşturulması

Çalışmada kullanılan 42 adet sıçan her grupta (n=7) olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplara 0.1M buffer sitrat (pH:4.5) içinde STZ'nin çözünmesiyle canlı ağırlıklarına göre tek doz (50 mg/kg) enjeksiyonla intraperitoneal (ip) yolla veriler diyabet olmaları sağlandı. Diyabet oluşturulan gruplarda STZ enjeksiyonundan 3 gün sonra sıçanların kan glukoz değerleri Accu-Chek Go (Roche) glukometre ile ölçülerek 200 mg/dL üzerindeki sıçanlar diyabet olarak kabul edilmiştir.

Deney protokolü

Toksisite testi sonrası 42 adet sağlıklı *Wistar albino* ırkı erkek sıçan, her grupta 7 sıçan olacak şekilde, aşağıdaki şekilde 6 gruba ayrıldı.

1. Grup (n=7): Kontrol grubu: Bu gruba herhangi bir şey uygulanmadı.
2. Grup (n=7): Diabetes mellitus (DM) grubu: Bu gruba STZ (50 mg/kg) (ip) uygulandı.
3. Grup (n=7): Diabetes mellitus + Akarboz (DM+Akarboz) grubu: Bu gruba STZ (50 mg/kg) (i.p) yolla ve 20 mg/kg Akarboz tabletleri suda çözerek gastrik gavaj yoluyla verildi.
4. Grup (n=7): Diabetes mellitus + Meşe palamudu (MP1) grubu: Bu gruba STZ (50 mg/kg) (ip) yolla ve 100 mg/kg MP ekstresi gastrik gavaj yoluyla verildi.
5. Grup (n=7): Diabetes mellitus + Meşe palamudu (MP2) grubu: Bu gruba STZ (50 mg/kg) (ip) yolla ve 250 mg/kg MP ekstresi gastrik gavaj yoluyla verildi.
6. Grup (n=7): Diabetes mellitus + Meşe palamudu (MP3) grubu: Bu gruba STZ (50 mg/kg) (ip) yolla ve 500 mg/kg MP ekstresi gastrik gavaj yoluyla verildi.

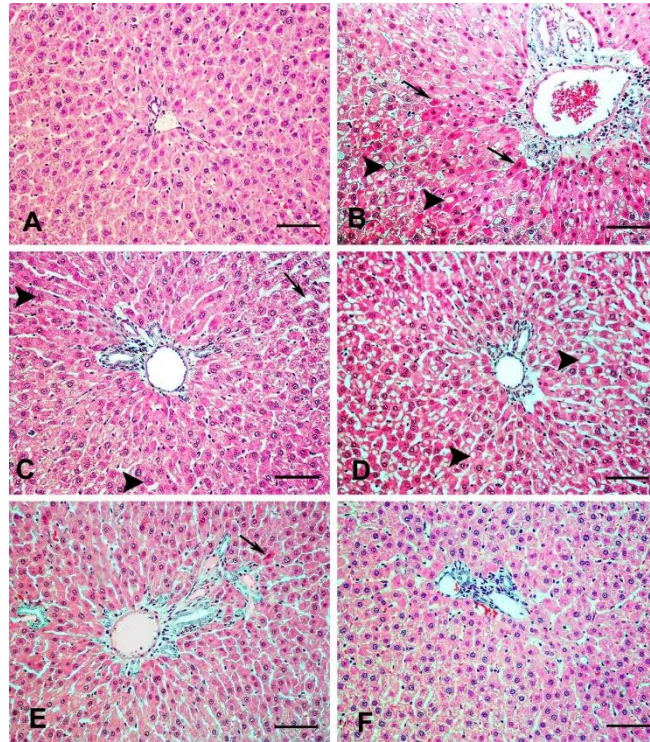
Uygulamalar sırasında yem ve su kısıtlamasına gidilmeden (*ad libitum*) beslenmeleri sağlandı. 21 gün devam eden bu çalışmada 3 günde bir kuyruk veninden MP ekstraları ve Akarboz verilmeden önce ve verildikten 1, 3 ve 6 saat sonraki kan glukoz değerlerine bakıldı. Ayrıca her hafta hayvanların canlı ağırlıkları alındı ve çalışma hedeflenen sürede sonlandırıldı.

Histopatolojik inceleme

Sıçanlar 21 günlük deneme sonunda % 10'lık ketamin ile anesteziye tabi tutuldu. Ötenazi ve nekropsinin ardından organlardaki makroskopik bulgular kaydedildi. Alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formalin solusyonunda tespit edildikten sonra rutin takip yapılarak parafin bloklara gömüldü ve mikrotomla 4 µm'lik kesitler alındı. Kesitler hematoxilen-eozin, gerekli görülenler ise Masson's trichrom ve Sudan black boyaları ile boyanarak araştırma mikroskopunda incelendi.

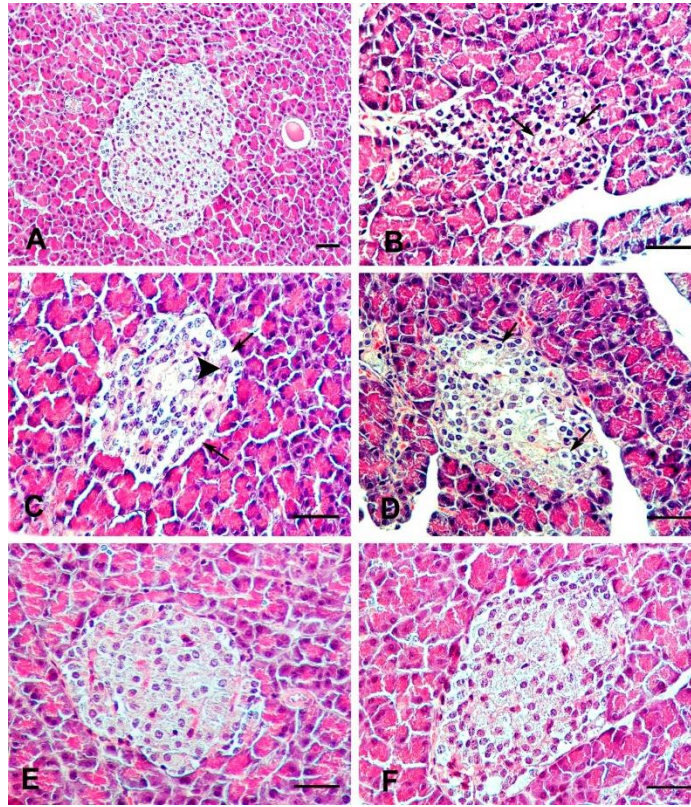
BULGULAR

Kontrol grubu sıçanların karaciğerlerinin normal histolojik görünümde oldukları görüldü (Şekil 1A). DM grubu sıçanlarda ise en belirgin bulgunların hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve nekroz şeklinde olduğu tespit edildi. Özellikle periasiner bölgede bulunan hepatositlerin sitoplazmasında tek büyük ya da birden fazla küçük yuvarlak vakoullerin olduğu gözlemlendi. Bu değişikliklerden dolayı hepatositlerde dejenerasyon ve portal aralıklarda genişleme şekillendiği görüldü. Ayrıca portal alanlarda fibrozis, safra kanalı proliferasyonu, yangısal hücre infiltrasyonu ve yer yer çift çekirdekli hepatositlerin olduğu gözlemlendi (Şekil 1B). Akarboz ile tedavi sonucunda bu bulguların önemli oranda azalmış olduğu tespit edildi (Şekil 1C). İlk tedavi grubu olan MP1 (100 mg/kg) grubunda hepatositlerin sitoplazmasında vakoulyasyonların şekillendiği görülürken (Şekil 1D), MP2 (250 mg/kg) grubunda ise hepatositlerde hafif nekroz ve remark kordonlarında disosiasyon şekillendiği görüldü (Şekil 1E). MP3 (500 mg/kg) grubunun ise kontrol grubu ile benzer histolojik görünümde olduğu tespit edildi (Şekil 1F).



Şekil 1: Kontrol grubu (A): Karaciğerin normal histolojik görünümü. Diyabetik grup (B): Hepatositlerde vakuoler dejenerasyon (ok başları) ve nekroz (oklar). DM + Akarboz grubu(C): Remark kordonlarında disosiasyon (ok) ve çift çekirdekli hepatositler (ok başları). MP1 grubu (D): Hepatositlerde vakuoler dejenerasyon (ok başları). MP2 grubu (E): Hepatositlerde hafif dejenerasyon ve nekroz (ok). MP3 grubu (F): Karaciğerin normale yakın histolojik görünümü. (H&E Bar 100 µm).

Kontrol grubu sıçanların pankreas kesitlerinde langerhans adacıklarının büyük düzenli ve sınırlarının iyi tanımlanmış olduğu görüldü. Langerhans adacık hücrelerinin ise normal görünümde oldukları tespit edildi (Şekil 2A). Diyabet grubu sıçanların pankreatik kesitlerinde ise en belirgin bulguların langerhans adacık yapılarının bozulması ve hücrelerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler şeklinde olduğu gözlemlendi. Langerhans adacıklarında belirgin hücre kaybı ve hücresel düzenin bozulması ile birlikte büzüştüğü ve bozulduğu tespit edildi. Nekrotik hücrelerde belirgin sitoplazmik vakoulasyon ve piknotik nükleus olduğu gözlemlendi. Dejeneratif ve nekrotik hücrelerin sitoplazmasında ağırlıklı olarak hidropik dejenerasyon ve degranülasyon olduğu saptanırken, piknotik çekirdekli hücrelerin koyu eozinofilik sitoplazmaları olduğu görüldü (Şekil 2B). Akarboz ile tedavi edilen gruplardaki sıçanlarda langerhans adacık yapılarının kısmen korunduğu gözlenmekle birlikte bazı hücrelerde dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin şekillendiği saptandı (Şekil 2C). Düşük doz MP ile tedavi edilen sıçanlarda (MP1, 100 mg/kg) MP tedavisi ile birlikte langerhans adacık yapılarında önemli oranda iyileşme ve hücre sayısında artış tespit edildi. Ayrıca dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin önemli oranda azaldığı görüldü (Şekil 2D). Diğer tedavi grupları olan MP2 ve MP3 gruplarında ise önemli bir bulguya rastlanmadı ve langerhans adacık yapılarının kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği tespit edildi (Şekil 2E, F).



Şekil 2: Kontrol grubu (A): Pankreasın normal histolojik görünümü (H&E Bar 50 µm). Diyabetik grup (B): Langerhans adacık yapılarında bozulma ve vakuoler sitoplazmalı hücreler (oklar) DM+Akarboz grubu(C): Bozulmuş langerhans adacık yapısı (ok) ve dejeneratif hücreler (ok başı). MP1 grubu (D): Bazı Langerhans adacık hücrelerinde dejenerasyon (oklar). MP2 grubu (E): Langerhans adacık yapılarının normale yakın görünümü. MP3 grubu (F): Pankreasın normale yakın histolojik görünümü (H&E Bar 100 µm).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Diyabete bağlı komplikasyonların gelişiminde hipergliseminin indüklediği oksidatif stres önemli bir rol oynamaktadır (19). Kronik hiperglisemi, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi ile vücudun redoks dengesinin değişmesine neden olarak oksidatif strese katkıda bulunmaktadır (20). Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, enzimatik olmayan glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan sorbitol yol aktivitesi, metabolik stres, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal oluşumunu arttırdığı ve antioksidan enzimlerin etkinliğini azalttığı bildirilmektedir (21). Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitenin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (22). Sonuç olarak uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin, diyabetin uzun dönemli komplikasyonlarının oluşmasıyla ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (23).

Selektif olarak pankreas β - hücrelerini yıkımlayarak insülin yetersizliği ve hiperglisemiye yol açtığı için deneysel diyabet çalışmalarında STZ kullanılır. STZ'nin diyabetojenik etkisi esas olarak pankreatik hücrelerde toksisiteye sebep olan reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimine bağlanır. Bu da insülin salınım ve sentezini azaltarak karaciğer, böbrek ve hematopoetik sistem organlarının etkilenmesine neden olur (24). Maritim ve ark., (25), STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda serbest radikal üretimini arttırdığını bildirmişlerdir. Artan serbest radikallerin antioksidan savunma bileşenlerini tüketerek hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve membranlarda oksidatif hasara yol açabileceği ve lipid peroksidasyonuna yatkınlığı arttırabileceği belirtilmiştir (5). Bu yüzden serbest radikalleri temizleme özelliğine sahip bileşiklerin diyabetik koşulları düzeltebileceği ön görülmüştür (26).

Yapılan pek çok çalışmada fenolik bileşiklerin serbest radikallere karşı süpürücü etkisi olduğu ve güçlü antioksidan role sahip oldukları vurgulanmıştır (27, 28). Antioksidanların, büyük bir olasılıkla diyabette bozulan oksidatif stresin, protein glikasyonunun ve glukoz metabolizmasının düzeltilmesinde önemli etkiler oluşturdukları belirtilmiştir (6). Hipergliseminin zararlı etkilerine karşı korumada ve aynı zamanda glukoz metabolizması üzerindeki olumlu etkilerden dolayı diyabet tedavisinde antioksidan aktiviteye sahip

bitkiler ile bu bitkilerden elde edilen bazı etken maddelerin kullanılmasının iyi bir diyet stratejisi olduğu kabul edilmektedir (29). Meşe ağaçlarının farklı yapılarında bulunan bazı fenolik bileşiklerin antioksidan, serbest radikal süpürücü, DNA hasarı koruyucu ve anti-neoplastik özelliklerinin olduğu vurgulanmıştır (30). Ayrıca bazı flavonoid bileşiklerin fosforilasyonu önleyerek süperoksit radikal oluşumlarını engellediği bildirilmiştir (31). Şöhretoğlu ve ark. (14), bazı meşe türlerinin (*Quercus* spp) ekstrelerinin insan eritrositlerinde H_2O_2 'nin neden olduğu sitotoksositeye karşı standart bileşiklere (askorbik asit) göre serbest radikalleri toplama ve koruyucu etkisinin daha iyi olduğu ve bu bitki ekstrelerinin yüksek antioksidan ve antiproliferatif faaliyetleri ile doğal bileşiklerin sentetik maddeleri için alternatif olabileceğini vurgulamıştır.

Karaciğer sentral metabolik bir organ olup diyabet sonucu oluşan oksidatif hasara bağlı olarak şekillenen reaktif oksijen türlerine maruz kaldığı bildirilmiştir (32). Bu nedenden dolayı dolayı hepatositlerde ve endotelial hücrelerde apoptozis şekillendiği ileri sürülmüştür (33). STZ ile indüklenen diyabet çalışmalarında hepatositlerde nekroz, yangısal hücre infiltrasyonu, lipidozis (34), sinüzoidlerde dilatasyon (35) ve portal aralıklarda bozukluk (26) bildirilen bulgulardır. Sunulan bu çalışmada da diyabet grubu sıçanlarda benzer bulguların şekillendiği görüldü (Şekil 1B). Şekillenen bu bulguların MP tedavisiyle önemli oranda azaldığı tespit edildi (Şekil 1 D,E,F).

Histopatolojik olarak pankreasta temel lezyonların langerhans adacıklarında olduğu bildirilmiştir (36). Yapılan deneysel çalışmalarda STZ ile indüklenen pankreatik β -hücrelerinin toksisitesi araştırılmış ve reaktif oksijen türlerinin üretimi sonucu olduğu düşünülmüştür (37). Çalışmamızda STZ uygulaması sonucu diyabet grubu sıçanların pankreaslarında, langerhans adacık sınırlarının bozulduğu ve büzüştüğü, endokrin hücrelerde ise belirgin sitoplazmik vakoulesyon ve piknotik nükleus şekillendiği tespit edildi (Şekil 2B). Bu sonuçların daha önce bildirilen çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir (38,39). İlk tedavi grubu olan MP1 (100 mg/kg) grubundan itibaren MP tedavisi sonucu şekillenen bulguların önemli oranda iyileştiği görüldü (Şekil 2D). Diğer iki tedavi grubunda ise langerhans adacık yapılarının kontrol grubuna benzer görünümde oldukları saptandı (Şekil 2E, F).

Bu çalışmanın biyokimyasal sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada MP ekstraktının anti-diyabetik, anti-hiperglisemik ve anti-oksidan etkileri incelenmiştir. Karaciğer harabiyet

biyobelirteçleri olan serum Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), alkalin fosfataz (ALP) ve Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim seviyeleri, insülin seviyesi, kan glukozu, lipid profili [total trigliserit (TG), total kolesterol (TC), LDL-kolesterol (LDL-c) ve HDL-kolesterol (HDL-c)], Kreatinin, Üre ve C-peptid düzeyleri ile total kanda glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) düzeyinin tespit edildiği ayrıca, karaciğer dokusu örneklerinde antioksidan kapasite etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden katalaz (CAT), süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) aktiviteleri ve redükte glutatyon (GSH) seviyeleri ile lipid peroksidasyon (MDA) düzeylerinin değerlendirildiği araştırma sonucunda MP ekstraktının diyabette şekillenen oksidatif hasara karşı karaciğer ve pankreası koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (3). Dolayısıyla elde edilen sonuçlar çalışmamızı destekler niteliktedir.

Sonuç olarak, bu çalışmamızda elde edilen bulgular ışığında, STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde, MP ekstraktının antioksidan aktivitesinden dolayı karaciğer ve pankreasta şekillenen hasarı önlediği görülmüştür. Bu nedenle MP'nin diyabete bağlı şekillenen komplikasyonların tedavisinde destekleyici olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Pitkanen OM, Martin JM, Hallman M, Akerblom HK, Sariola H, Andersson SM. (1992). Free radical activity during development of insulin dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci.* 50(5): 335-339.
2. Huang THW, Peng G, Kota BP, Li GQ, Yamahara J, Roufogalis BD Li Y. (2005). Anti-diabetic action of Punica granatum flower extract: activation of PPAR-c and identification of an active component. *Toxicol Appl Pharmacol.* 207: 160-169.
3. Doğan A. (2014). Deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda bazı bitki ekstraktlarının iyileştirici etkilerinin araştırılması. Doktora tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
4. King GL, Loeken MR. (2004). Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochem Cell Biol.* 122 (4): 333-338.
5. Baynes JW. (1991): Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes.* 40: 405-412.
6. Altan N, Dinçel AS, Koca C. (2006). Diabetes Mellitus and Oxidative Stress. *Turk J Biochem.* 31 (2): 51-56.
7. Levinthal GN, Tavill AS. (1999). Liver disease and diabetes mellitus. *Clinical Diabetes.* 17(2):73-81.
8. Sanchez SS, Abregu AV, Aybar MJ, Sanchez Riera AN. (2000). Changes in liver gangliosides in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biol Int.* 24: 897-904.
9. Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, Tan MH. (2007). Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes care.* 30(3): 734-743.
10. Manna P, Das J, Ghosh J, Sil PC. (2010). Contribution of type 1 diabetes to rat liver dysfunction and cellular damage via activation of NOS, PARP, IkappaBalpha/NF-kappaB, MAPKs, and mitochondria-dependent pathways: Prophylactic role of arjunolic acid. *Free Radic Biol Med.* 48: 1465-1484.
11. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poyntout V. (2004). β -cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes.* 53 (Supplement 1): 119-124.
12. Schmatz R, Perreira LB, Stefanello N, Mazzanti C, Spanevello R, Gutierrez J. (2012). Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochimie.* 94 (2): 374-383.
13. Çelik S, Erdogan S, Tuzcu M. (2009). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) exhibits significant potential as an antidiabetic and liver-protective agent in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacological Research.* 60(4): 270-276.
14. Şöhretoğlu, D, Sabuncuoğlu S, Harput UŞ. (2012). Evaluation of antioxidative, protective effect against H₂O₂ induced cytotoxicity, and cytotoxic activities of three different Quercus species. *Food Chem Toxicol.* 50(2): 141-146.
15. Leporatti ML, Ivancheva S. (2003). Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *J Ethnopharmacol.* 87(2): 123-142.
16. Çoruh N, Nebigil C, Özgökçe F. (2014). Rapid and comprehensive separation for the phenolic constituents of quercus brantii acorns by rp-hplc-dad. *J Liq Chromatogr R T.* 37(6): 907-915.

17. Dalar A, Konczak I. (2013). Phenolic contents, antioxidant capacities and inhibitory activities against key metabolic syndrome relevant enzymes of herbal teas from Eastern Anatolia. *Ind Crop Prod.* 44: 383-390.
18. Ibeha BO, Ezeaja MI. (2011). Preliminary study of antidiabetic activity of the methanolic leaf extract of *Axonopus compressus* (P. Beauv) in alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 138 (3): 713–716.
19. Goh S, Cooper ME. (2008). The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 93 (4): 1143-1152.
20. Prasath GS, Subramanian SP. (2013). Fisetin, a tetra hydroxy flavone recuperates antioxidant status and protects hepatocellular ultrastructure from hyperglycemia mediated oxidative stress in streptozotocin induced experimental diabetes in rats. *Food Chem Toxicol.* 59: 249-255.
21. Baynes JW, Thorpe SR. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes.* 48 (1): 1-9.
22. Tiedge M, Lortz S, Munday R, Lenzen S. (1998). Complementary action of antioxidant enzyme in the protection of bioengineered insulin-producing RINm5F cells against the toxicity of reactive oxygen species. *Diabetes.* 47(10): 1578-1585.
23. Van Dam PS, Gispen WH, Bravenboer B, Van Asbeck BS, Erkelens DW, Marx JJM. (1995). The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes/metabolism reviews.* 11(3), 181-192.
24. Wu KK, Huan Y. (2008). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Curr Protoc Pharmacol*, doi: 10.1002/0471141755.ph0547s40.
25. Maritim AC, Sandres RA, Watkins JB. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol.* 17(1):24-38.
26. Ahmed D, Kumar V, Verma A, Gupta PS, Kumar H, Dhingra V, Mishra V, Sharma M. (2014). Antidiabetic, renal/hepatic/pancreas/cardiac protective and antioxidant potential of methanol/dichloromethane extract of *Albizzia Lebbeck Benth.* Stem bark (ALEX) on streptozotocin induced diabetic rats. *BMC complement Altern Med.* DOI: 10.1186/1472-6882-14-243.
27. Sakulnarmrat K, Konczak I. (2012). Composition of native Australian herbs polyphenolic-rich fractions and in vitro inhibitory activities against key enzymes relevant to metabolic syndrome. *Food Chemistry.* 134 (2): 1011-1019.
28. Mai TT, Thu NN, Tien P G, Van Chuyen N. (2007). Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. *J Nutr Sci Vitaminol.* 53 (3): 267-276.
29. Nicolle E, Souard F, Faure P, Boumendjel A. (2011). Flavonoids as promising lead compounds in type 2 diabetes mellitus: molecules of interest and structure activity relationship. *Curr Med Chem.* 18(17): 2661-2672.
30. Almeida IF, Fernandes E, Lima JL, Costa PC, Bahia MF.(2008). Protective effect of *Castanea sativa* and *Quercus robur* leaf extracts against oxygen and nitrogen reactive species. *J Photochem Photobiol B.* 91: 87–95.
31. Meng Z, Zhou Y, Lu J, Sugahara K, Xu S, Kodama H.(2001). Effect of five flavonoid compounds isolated from *Quercus dentata* Thunb on superoxide generation in human neutrophils and phosphorylation of neutrophil proteins. *Clinica Chimica Acta.* 306 (1-2): 97–102.
32. Seven A, Güzel S, Seymen O, Civelek S, Bolayirli M, Uncul M. (2004). Effects of Vitamin E Supplementation on Oxidative Stress in Streptozotocin induced diabetic rats: investigation of liver and plasma. *Yonsei Med J.* 45(4): 703-710.
33. Jaeschke H.(2000). Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroen Hepatol.* 15: 718–724.
34. Zhang C, Lu X, Tan Y, Li B, Miao X, Jin L, Shi X, Zhang X, Miao L, Li X, Cai L. (2012). Diabetes-induced hepatic pathogenic damage, inflammation, oxidative stress, and insulin resistance was exacerbated in zinc deficient mouse model. *Plos One.* DOI: 10.1371/journal.pone.0049257.
35. Noor A, Gunasekaran S, Manickam AS, Vijayalakshmi MA. (2008). Antidiabetic activity of *Aloe vera* and histology of organs in streptozotocin-induced diabetic rats. *Current Sci.* 94 (8): 1070-1076.
36. Aykan BT, Tüzüner N, Sav A, İnce U. (1990): *Kısa Patoloji, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.* 546-552.

37. Meral İ, Yener Z, Kahraman T, Mert N. (2001). Effect of *Nigella sativa* on Glucose Concentration, Lipid Peroxidation, Anti-Oxidant Defence System and Liver Damage in Experimentally-Induced Diabetic Rabbits. *J Vet Med A*. 48: 593-599
38. Kanter M, Coskun O, Korkmaz A, Oter S. (2004). Effects of *Nigella sativa* on oxidative stress and β -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*. 279(1): 685-691.
39. El-Kordy EA, Alshahrani AM. (2015). Effect of genistein, a natural soy isoflavone, on pancreatic β -cells of streptozotocin-induced diabetic rats: Histological and immunohistochemical study. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*. 3(3), 108-119.

Yazışma Adresi: Yrd. Doç. Dr. Turan YAMAN

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, 21280, Diyarbakır/Türkiye

Fax: **+90 412 248 8020**;

Tel: **+90 412 248 8021** E-mail: turan.yaman@dicle.edu.tr