

Streptozosin İndüklü Deneysel Diyabet Modelinde Poliherbal Karışımın Hematoprotektif Etkileri

İsa Kiran¹, Ilknur Kulcanay Sahin², Mustafa Cengiz^{*3}, Canan Veyselova Sezer⁴,
Rifat Ertekin⁵, Suzan Onur⁶, Namik Bilici⁷, Adnan Ayhanci¹

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26000, Eskişehir, Türkiye

²Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, 71000, Kırıkkale, Türkiye

³Siirt Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Eğitimi Bölümü, 56100, Siirt, Türkiye

⁴Eskişehir Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26000, Eskişehir, Türkiye

⁵Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Bölümü, 26000, Eskişehir, Türkiye

⁶Karabük Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü, 78000, Karabük, Türkiye

⁷Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, 78000, Karabük, Türkiye

İsa Kiran, ORCID No: 0000-0002-9529-9273, Ilknur Kulcanay Sahin, ORCID No: 0000-0003-1948-6912,

Mustafa Cengiz, ORCID No: 0000-0002-6925-8371, Canan Veyselova Sezer, ORCID No: 0000-0002-3792-5993, Rifat Ertekin, ORCID No: 0000-0002-8041-8030, Suzan Onur, ORCID No: 0000-0001-8145-6090,

Namik Bilici, ORCID No: 0000-0002-8747-4713, Adnan Ayhanci, ORCID No: 0000-0003-4866-9814

MAKALE BİLGİSİ

ÖZ

Geliş: 28.06.2024
Kabul: 11.07.2024

Anahtar Kelimeler
Diyabet, Poiherbal
karışım, Metformin,
Streptozosin,
Antioksidan,
Hematoprotektif etki

*** Sorumlu Yazar**
m.cengiz@siirt.edu.tr

Bu çalışmada streptozosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanlarda *Curcuma longa*, *Nigella sativa*, *Prunus mahaleb* ve *Vitis vinifera* çekirdeğinden oluşan poliherbal (PH) ekstraktının periferik kan hücreleri (hemoglobin (HB), hematokrit (HTC), eritrosit (RBC), lökosit (WBC), trombosit (PLT)), kemik iliği, antioksidan parametreler (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve nonenzimatik antioksidan glutatyon (GSH)) ve lipid peroksidasyonu (malondialdehit (MDA)) üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Deneysel, 60 adet wistar sıçanı rastgele beş (5) gruba ayrıldı. Her grupta 12 sıçan vardı. Deneysel son günü (7. Gün), kontrol grubuna oral olarak 1 mL saline tamponu enjekte edilirken, STZ grubu (55 mg/kg, intraperitoneal, sitrat tamponunda (pH 4,5; 0,1 M)), STZ + metformin (MET, 100 mg/kg) grubu, STZ + PH I (500 mg/kg) grubu ve STZ + PH II (1000 mg/kg) grubuna enjekte edildi. STZ sıçanları, kontrol sıçanlarına kıyasla SOD, CAT ve GSH' da önemli bir azalma ve MDA serum konsantrasyonlarında bir artış gösterdi. Ayrıca RBC, HB, HTC, WBC, PLT ve kemik iliği hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$) bir STZ ilişkili azalma gözlemledik. MET uygulanan grupta ise STZ grubuna kıyasla RBC ve MDA seviyeleri hariç anlamlı bir değişime neden olduğu görülmüştür ($p < 0.001$). Öte yandan, farklı dozlarda PH uygulanan tüm gruplarda ise yukarıda bahsedilen tüm parametrelerdeki (RBC hariç) azalmalar yerini artışlara bırakırken, artışları ise azalışlar takip etmiştir ($p < 0.001$). Sonuç olarak, PH tedavisinin önemli terapötik etkileri bulunmaktadır; bunların yanı sıra STZ kaynaklı sıçan diyabet modelinde oksidatif stresi hafifletebilir ve lipid peroksidasyonu durumunu iyileştirebilir; bu da ileri klinik çalışmalar için ümit vericidir. Ayrıca, PH, MET ile kıyaslandığında daha güçlü bir iyileştirme potansiyeline sahip olabileceği görülmüştür.

Hematoprotective Effects of Polyherbal Mixture in Streptozocin-Induced Experimental Diabetes Model

Isa Kiran¹, Ilknur Kulcanay Sahin², Mustafa Cengiz^{*3}, Canan Vejselova Sezer⁴,
Rifat Ertekin⁵, Suzan Onur⁶, Namik Bilici⁷, Adnan Ayhanci¹

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26000, Eskişehir, Türkiye

²Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, 71000, Kırıkkale, Türkiye

³Siirt Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Eğitimi Bölümü, 56100, Siirt, Türkiye

⁴Eskişehir Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26000, Eskişehir, Türkiye

⁵Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Bölümü, 26000, Eskişehir, Türkiye

⁶Karabük Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü, 78000, Karabük, Türkiye

⁷Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, 78000, Karabük, Türkiye

Isa Kiran, ORCID No: 0000-0002-9529-9273, Ilknur Kulcanay Sahin, ORCID No: 0000-0003-1948-6912,

Mustafa Cengiz, ORCID No: 0000-0002-6925-8371, Canan Vejselova Sezer, ORCID No: 0000-0002-

3792-5993, Rifat Ertekin, ORCID No: 0000-0002-8041-8030, Suzan Onur, ORCID No: 0000-0001-8145-6090,

Namik Bilici, ORCID No: 0000-0002-8747-4713, Adnan Ayhanci, ORCID No: 0000-0003-4866-9814

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Received:28.06.2024
Accepted:11.07.2024

Keywords

Diabetes, Poiherbal
mixture, Metformin,
Streptozotocin,
Antioxidant,
Hematoprotective
effect

* Corresponding Author

m.cengiz@siirt.edu.tr

This study aimed to determine the effects of polyherbal (PH) extract consisting of *Curcuma longa*, *Nigella sativa*, *Prunus mahaleb* and *Vitis vinifera* seed on peripheral blood cells (hemoglobin (HB), hematocrit (HTC), erythrocytes (RBC), leukocytes (WBC), platelets (PLT)), bone marrow, antioxidant parameters (superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and nonenzymatic antioxidant glutathione (GSH)) and lipid peroxidation (malondialdehyde (MDA)) in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. In the experiment, 60 wistar rats were randomly divided into five (5) groups. There were 12 rats in each group. On the last day of the experiment (Day 7), 0.1 mL of saline buffer was orally injected into the control group, while STZ group (55 mg/kg, intraperitoneally, in citrate buffer (pH 4.5; 0.1 M)), STZ + metformin (MET, 100 mg/kg) group, STZ + PH I (500 mg/kg) group and STZ + PH II (1000 mg/kg) group were injected. STZ rats showed a significant decrease in SOD, CAT and GSH and an increase in MDA serum concentrations compared to control rats. We also observed a statistically significant ($p < 0.001$) STZ-related decrease in RBC, HB, HTC, WBC, PLT and bone marrow cell count. It was observed that there was a significant change in the MET-administered group compared to the STZ group, except for RBC and MDA levels ($p < 0.001$). On the other hand, in all groups treated with different doses of PH, the decreases in all the above-mentioned parameters (except RBC) were replaced by increases, while the increases were followed by decreases ($p < 0.001$). In conclusion, PH treatment has important therapeutic effects; in addition to these, it can alleviate oxidative stress and improve lipid peroxidation status in the STZ-induced rat diabetes model; this is promising for further clinical studies. In addition, PH has been shown to have a stronger healing potential compared to MET.

GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), sürekli hiperglisemik ortam kaynaklı reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi ile sonuçlanan kronik bir metabolik hastalıktır. Pankreas β hücreleri bu fizyolojik değişikliklere karşı son derece hassastır ve bunun neticesinde bu hücrelerin sayıları azalır ve diyabetin ilerlemesi kaçınılmaz hale gelmektedir (1). Zamanla hiperglisemi ve artan inflamasyon, hiperlipidemi ve nefropati gibi ikincil komplikasyonların gelişmesine yol açabilir (1-3). Tip 1 diyabette görüldüğü gibi sürekli devam eden hipergliseminin, eritrosit deformabilitesinin azalması ve artmış hemoliz gibi hematolojik değişiklikler yoluyla kardiyovasküler komplikasyonlara neden olduğu ve bunun da azalmış kırmızı kan hücresi (RBC) sayısı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Bu durumun da azalmış kırmızı kan hücresi (RBC) sayısı, hemoglobin (Hb) konsantrasyonu, hematokrit (Hct) seviyeleri, ortalama korpusküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), ortalama korpusküler hacim (MCV) ve kırmızı kan hücresi dağılım genişliği (RDW) ile ilişkilidir (2,3). Eritrosit membranı, yüzey deformabilitesi ve esnekliğinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (4, 5). Hipergliseminin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artan üretimi yoluyla eritrosit membranında modifikasyonlara ve bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir. ROS, RBC membran proteinlerinin nonenzimatik glikozilasyonuna ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi RBC membran antioksidan enzimlerinin inaktivasyonuna neden olur (6, 7). Hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi ROS'lar eritrosit membranını geçerek hem proteinlerini okside eder, eritrosit deformabilitesini daha da azaltır ve eritrositin ozmotik kırılabilirliğini artırır (8, 9). ROS ve apoptozun neden olduğu azalmış deformabilite ve artmış hemoliz, hücrelerin oksijen taşıma kapasitesini daha da azaltır (8). Ayrıca, oksijen taşıma kapasitesindeki uzun süreli azalma diyabetik aneminin gelişmesiyle sonuçlanır (7). Diyabetik anemi, RBC viskozitesinde azalmaya neden olur (10). Ayrıca, devam eden hipergliseminin neden olduğu diyabetik nefropati, interstisyel peritübüler fibroblasttan oluşan renal interstisyumun yıkımına neden olarak eritropoietin (EPO) üretiminde bozulmaya yol açar ki (7) bu bozulmanın neticesinde kemik iliği tarafından RBC üretiminde azalma ve sonuç olarak diyabetik anemi ile ilişkilidir (9).

Diyabet farmakoterapisinde kullanılan standart ilaçlar hiperglisemiye başarılı bir şekilde düzenlemede, bunların kullanımı genellikle metforminin neden olduğu gastrointestinal komplikasyonlar (11) ve insülin tedavisinin neden olduğu kilo alımı (12) gibi yan etkilerle birlikte görülmektedir. Ayrıca, bu farmakoterapiler artan ROS seviyesi ve sekonder diyabetik patolojilerin ilerlemesi sorununu tamamen çözememektedir. Dahası, standart ilaçlara erişim, bazen yüksek sağlık hizmeti maliyetleri, sosyoekonomik statü veya bölgesel erişilemezlik nedeniyle sınırlıdır (13). Buna göre, bu artan sağlık hizmeti yükünü hafifletebilecek yeni, ucuz ve kolay erişilebilir bir tedavi bulmak önem arz etmektedir. Bu sorunun cevabı günlük diyete bitki kaynaklı takviyelerin ve/veya tıbbi bitkiler gibi fonksiyonel gıdaların dahil edilmesinde yatıyor olabilir (14).

Yüzyıllardır antioksidan, hipoglisemik, hipolipidemik, hepatoprotektif ve nefroprotektif aktiviteleri nedeniyle birçok tıbbi bitki hem diyabetin hem de ilişkili komplikasyonların tedavisinde etnofarmakolojik terapiler olarak kullanılmıştır (14). Günümüzde farmakoterapi yaklaşımlarındaki önemli ilerlemelere rağmen, geleneksel tıbbın kullanımı hızla artmaktadır (13). Geleneksel tıp uygulayıcılarına göre, diyabet gibi karmaşık hastalıklar ele alındığında, polih herbal karışımlarla yapılan tedaviler, tek bir tıbbi bitki kullanımına dayalı terapilerden çok daha faydalı olabilir (15). Polih herbal preparatlarda kullanılan tıbbi bitkilerin sinerjik etkisi, toksisitelerini azaltırken koruyucu etkilerini artırarak daha iyi bir terapötik sonuca yol açabilir (16). Avrupalı bitki uzmanları tarafından çok sık reçete edilen 'diyabetik karşıtı' çok bitkili karışımlar mevcuttur (17). Bu çalışma kapsamında karşıtın içeriğinde bulunan bitkiler farklı karışımlarda diyabet karşıtı etkinlik gösterdiklerini rapor eden çalışmalar literatürde mevcuttur (18-21).

Bu polih herbal preparatı oluşturan bitkiler geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmalarına rağmen, polih herbal karşıtın anti-diyabetik etnofarmakolojik değerini doğrulayacak bir araştırma

verisi yoktur. Bu nedenle, bu çalışmada, STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda polih herbal ekstraktının periferik kan, kemik iliği ve antioksidan parametreler üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bitki Materyali

Araştırmada bitki olarak *Curcuma longa*, *Vitis vinifera* çekirdeği, *Nigella sativa* ve *Prunus mahaleb* eşit oranlarda birleştirilip polih herbal bir karışım elde edildi. Tüm ürünler ticari olarak temin edildi. Uygulamalar sırasında bitki örnekleri distile suda çözülerek uygulandı (19).

Deney Hayvanları

Bu çalışmada, Wistar albino erkek sıçanları Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı. San. Tic. A.S. tarafından sağlandı ve mevcut araştırma ESOGU Deney Hayvanları Etik Komitesi'nden onay aldı (Protokol No: 954-1/2023). Hayvanlar, normal bir pelet diyeti ve ad libitum su ile beslendi. Deneyden önce sıçanların 7 gün süreyle laboratuvar koşullarına alışmaları sağlandı. Laboratuvara getirilen hayvanlar kontrollü, standart şartlar altında (Sıcaklık; 23±3 °C, nem %35-60, 12/12 saatlik karanlık/ışık döngüsü) muhafaza edildi. Tüm gruplardaki sıçanların deney süresince günlük canlı ağırlık değişimleri ve yem-su tüketimleri kaydedildi.

Sıçanlarda Diyabet İndüksiyonu

Sıçanlarda deneysel Tip 1 diyabet modelini gerçekleştirmek için 55 mg/kg STZ enjeksiyonu i.p. olarak uygulandı (20). STZ, pH 4.5'e ayarlanmış 0.1 M soğuk sitrat tamponunda çözüldü. Hayvanlar, STZ enjeksiyonundan yedi gün sonra, gece boyunca aç bırakıldıktan sonra ticari bir glukoz ölçer ile açlık kan şekeri ölçülerek belirlendi. Kan glukoz seviyeleri >200mg/dL olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edilip ve deneyler için kullanıldı.

Kimyasal Maddeler ve Dozlar

PH ürünleri ve MET ticari olarak temin edildi. Bu PH ve MET (distile suda çözülerek)(100 mg/kg) çözülerek günlük taze olarak hazırlanıp sterilizasyon kuralları dâhilinde ekstrakte edilerek uygulandı. Kontrol grubu hariç diğer 4 gruba 55 mg/kg STZ dozu uygulandı.

Deney Grupları

60 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar rastgele seçimle her grupta n=12'şer adet olmak üzere toplam 5 grup oluşturuldu. Bunlar;

- Grup I (kontrol): Sıçanlara serum fizyolojik enjeksiyonun yedinci günün sonunda oral olarak 1 mL salin verildi (21). Kuyruk damarından alınan kanda (0.1 mL) 30. 60. 120. ve 240. dakikalarda kan şekerleri ölçüldü.

- Grup II (diyabetik): 55 mg/kg STZ enjeksiyonundan yedi gün sonra diyabet oluşma kriteri olan kan şekeri >200 mg/dL'nin üzerinde olan sıçanlar bu gruba dâhil edildi. Yedinci günün sonunda ağızdan 1 mL salin verildi. streptozotosin'in etkisini görebilmek için kuyruk damarından alınan kanda (0.1 mL) 30., 60., 120. ve 240. dakikalarda kan şekerleri ölçüldü.

- Grup III (STZ +100 mg/kg MET): Sıçanlarda STZ ile indüklenen diyabet oluşumundan sonra yedinci günün sonunda MET 100 mg/kg dozunda 1 mL oral yoldan verildi. Antidiyabetik ve metabolik etkilerini belirlemek için sıçanların kuyruk damarından alınan kanda (0.1 mL) 30., 60., 120. ve 240. dakikalarda kan şekerleri ölçüldü.

- Grup IV (STZ +500 mg/kg PH I): Sıçanlarda STZ ile indüklenen diyabet oluşumundan sonra yedinci günün sonunda PH I 500 mg/kg'lık bir dozda 1 mL de çözelti hazırlanıp oral yoldan

verildi. PH karışımının antidiyabetik ve metabolik etkilerini belirlemek için sıçanların kuyruk damarından alınan kanda (0.1 mL) 30. 60. 120. ve 240. dakikalarda kan şekerleri ölçüldü.

• Grup V (STZ+1000 mg/kg PH II): Sıçanlarda STZ ile indüklenen diyabet oluşumundan sonra yedinci günün sonunda PH II karışımından 1000 mg/kg'lık bir dozda 1 mL'de çözelti hazırlanıp oral yoldan verildi. PH karışımının antidiyabetik ve metabolik etkilerini belirlemek için sıçanların kuyruk damarından alınan kanda (0.1 mL) 30. 60. 120. ve 240. dakikalarda kan şekerleri ölçüldü. Kan glukoz ölçümleri tamamlandıktan sonra, sıçanlar hafif anestezi altında [ketamin (50 mg/kg)-ksilazin (10 mg/kg) intramüsküler] kalpten tüm kan alındı. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı ve akabinde Biyokimya cihazında ölçümler gerçekleştirildi.

Hematolojik Çalışmalar

Deneylede kullanılan sıçanların kan örneklerinden HB (G/DL), PLT ($X10^3/MM^3$), WBC ($X10^3/MM^3$), RBC ($X10^6/MM^3$) ve HCT (%) ile kemik iliği çalışmaları gerçekleştirildi. Gerçekleştirilen çalışmada normal fizyolojik parametreler kontrol grubu sıçanlardan elde edilen sonuçlar olarak kabul edilmiş ve deney gruplarının sonuçları bu verilere kıyaslanarak değerlendirilmiştir.

Antioksidan ve Lipid peroksidasyonu Göstergeleri

Antioksidan değerler olarak SOD (U/ML), CAT (NMOL/DK/ML) aktiviteleri, GSH ($\mu\text{mol/G}$) seviyeleri ve lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA (MMOL/ML) düzeyleri çalışıldı. Bu çalışmada kontrol grubu sıçanlardan elde edilen verilen normal fizyolojik parametreler olarak kabul edilmiştir Deney gruplarına ait sonuçları normal fizyolojik parametreler ile mukayese edilerek değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Değerlendirmeler

Tüm veri analizleri SPSS 20.0 ve Sigma Stat 3.5 paket programları ile yapıldı. Sürekli nicel veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak, nitel veriler ise n, ortanca değer, 25'inci ve 75'inci yüzdelerik değerler olarak ifade edildi. Bağımsız ölçümlerden oluşan ve normal dağılım gösteren sürekli veriler, One Way Anova testi ile normal dağılım göstermeyen skor değişkenlerinden oluşan veriler ise Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi. Bu iki testin çoklu karşılaştırmalarında Tukey ve Student Newman Keuls yöntemlerinden yararlandı. Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (p) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar, $p < 0.05$ olduğunda anlamlı olarak kabul edildi.

Araştırmanın Etik Yönü

Çalışmada tüm hayvan bakımı prosedürleri, UNESCO 1978 Hayvan Hakları Bildirgesi, WSPA 2000 Hayvan Refahı Evrensel Bildirgesi ve Avrupa Parlamentosu'nun bilimsel amaçlarla kullanılan hayvanların korunmasına dayalı 2010/63/EU Direktifi'nde formüle edilen Laboratuvar Hayvanları Bakım İlkeleri'ne uygun olarak yürütüldü ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Kurumsal İnceleme Kurulu (Etik Kurul) tarafından onaylandı (Protokol kodu 954-1/2023).

Araştırmanın Kısıtlılıkları

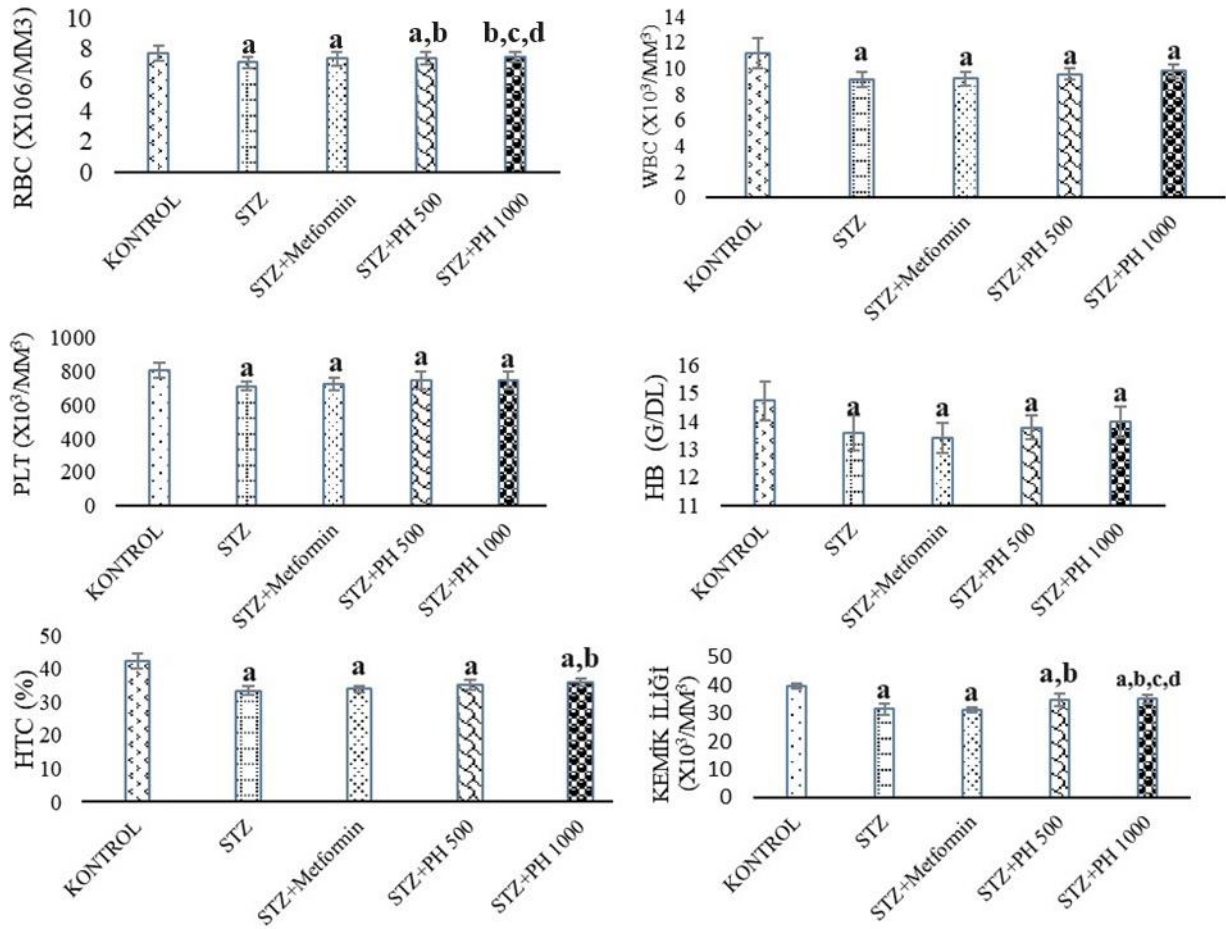
Çalışmada planlanan akıştan herhangi bir sapma olmamıştır.

Teşekkür

Yazarlar, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi'ne cömert desteklerinden dolayı teşekkürlerini sunarlar.

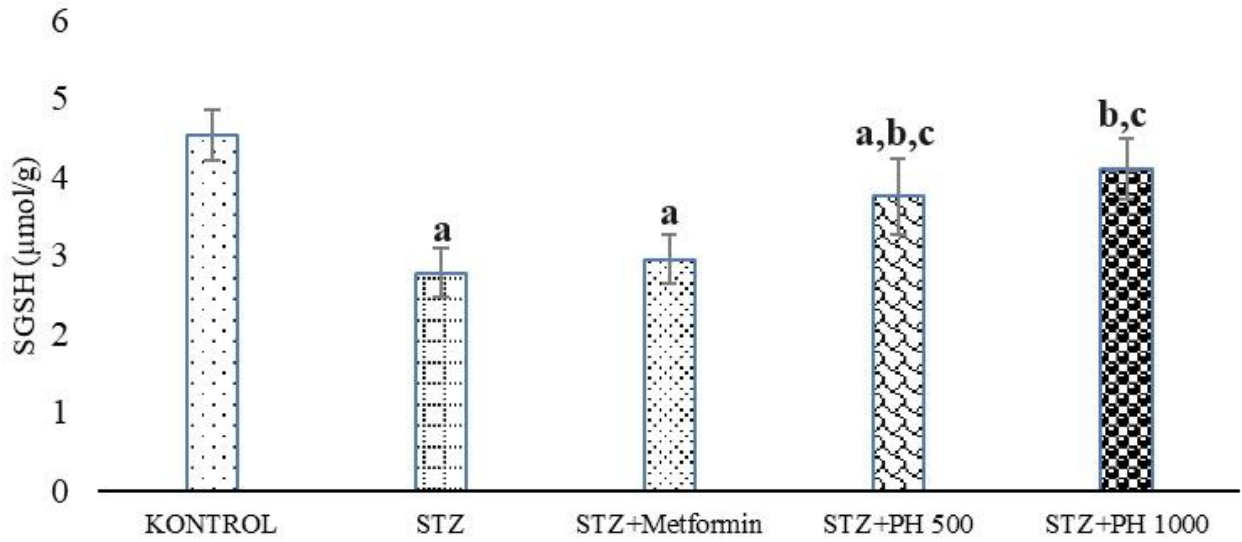
BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, STZ kaynaklı diyabetli sıçanlarda PH'nin hematolojik etkileri araştırıldı. STZ, insan diyabetini taklit eden diyabetik hayvan modelleri oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (23). STZ kaynaklı insüline bağımlı diabetes mellitusta hematolojik değişiklikleri belgeleyen birçok çalışma vardır. Örneğin, RBC deformabilitesindeki bozulma, literatür çalışmasında hiperglisemik STZ ile indüklenen diyabetik hayvanlarda gösterildiği gibi, azalmış RBC sayısı, HB konsantrasyonu, HTC seviyeleri, MCV, MCHC ve RDW konsantrasyonunu içeren hematolojik değişikliklerle ilişkili olduğu vurgulanmıştır (24). Khandekar ve ark. (25) ise yaptıkları çalışmada STZ enjeksiyonundan sonra HB, WBC, RBC sayıları diyabetik sıçanlarda kontrol göre önemli ölçüde azalırken, tedavi gruplarında bu kan parametreleri önemli ölçüde iyileşme göstermiştir (25). Bu çalışma sonuçlarımıza göre STZ uygulanan grupta, RBC, HB, HTC, WBC ve PLT sayıları hücreleri normal fizyolojik parametreleri birim olarak ifade eden kontrol grubu verilerine kıyasla azalma görülmüştür ($p<0.05$) (Şekil 1). STZ ile birlikte MET uygulanan gruba ait RBC, HB, HTC, WBC ve PLT sayısı bakımından normal fizyolojik değer olan kontrol grubuna göre anlamlı fark gözlenirken ($p<0.05$) sadece STZ uygulanan grup ile anlamlı bir fark görülmemiştir. Öte taraftan, PH karışımı uygulanan gruplarda ise kontrol grubuna kıyasla tüm parametreler için istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$). Bu bulgular literatür bulgularıyla uyumludur. Ayrıca bu çalışma kapsamında yapılan değerlendirme de kontrol grubu ve STZ grubu ile karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücrelerinin sayısı sadece STZ uygulanan deney grubunda anlamlı azalma gösterirken ($p<0.05$), PH uygulanan gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi ($p<0.05$). STZ nedenli kemik iliği çekirdekli hücrelerinin sayısındaki düşüş, hipergliseminin neden olduğu diyabetik nefropati, interstisyel peritübüler fibroblasttan oluşan renal interstisyumun yıkımına neden olarak eritropoietin (EPO) üretiminde bozulmaya neden olmuş olabilir (10). PH, tüm parametrelerde MET grubuna kıyasla artış eğilimi anlamlı ($p<0.05$) ve daha iyi bir koruma sağladığı değerlendirilmiştir. Dahası, tüm parametreler değerlendirildiğinde yüksek doz PH'nin düşük doz PH'dan daha iyi etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 2). Kemik iliği çekirdekli hücrelerinin sayısı bakımından kontrol grubu ve STZ grubu ile karşılaştırıldığında sadece STZ uygulanan deney grubunda anlamlı azalma gösterirken ($p<0.05$), PH uygulana gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi ($p<0.05$). PH, MET grubuna göre artış eğilimi anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p<0.05$). Tüm parametrelerde yüksek doz PH'nin düşük doz PH'dan daha iyi etki gösterdiği belirlenmiştir. (Şekil 2)

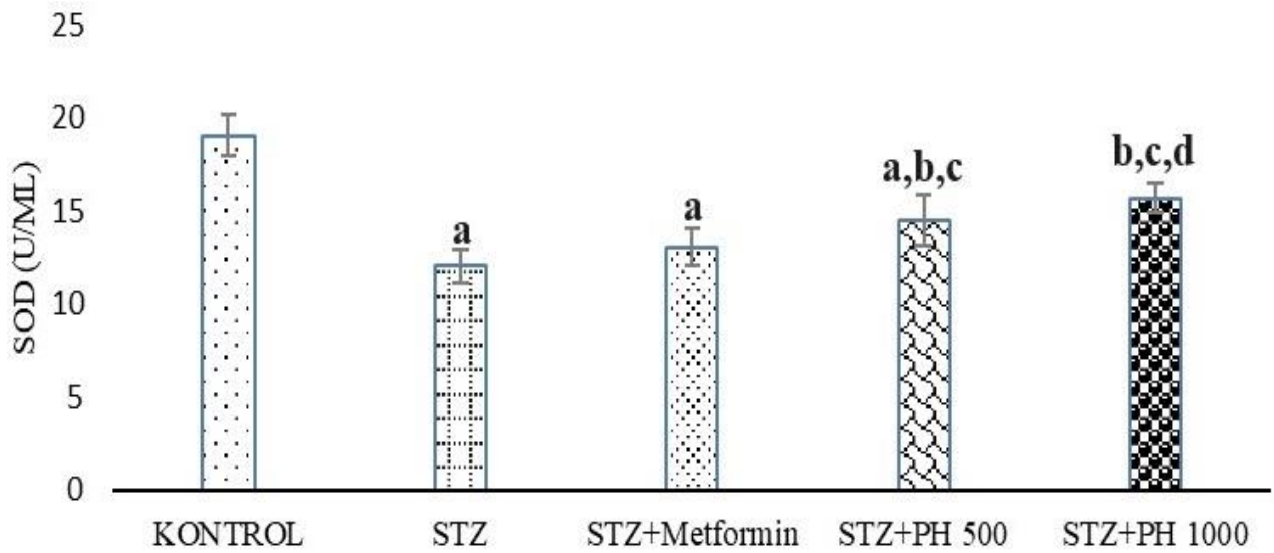


Şekil 1. Deney grupları arasında RBC, WBC, PLT, HTC değerlerinin dağılımı, HGB değişimi ve kemik iliği değerleri ilişkisi. a; $p < 0.001$ kontrol grubuna kıyasla anlamlı fark, b; $p < 0.05$ STZ grubuna kıyasla anlamlı fark, c; $p < 0.05$ STZ+MET grubuna kıyasla anlamlı fark, d; $p < 0.05$ STZ+PH 500 grubuna kıyasla anlamlı fark.

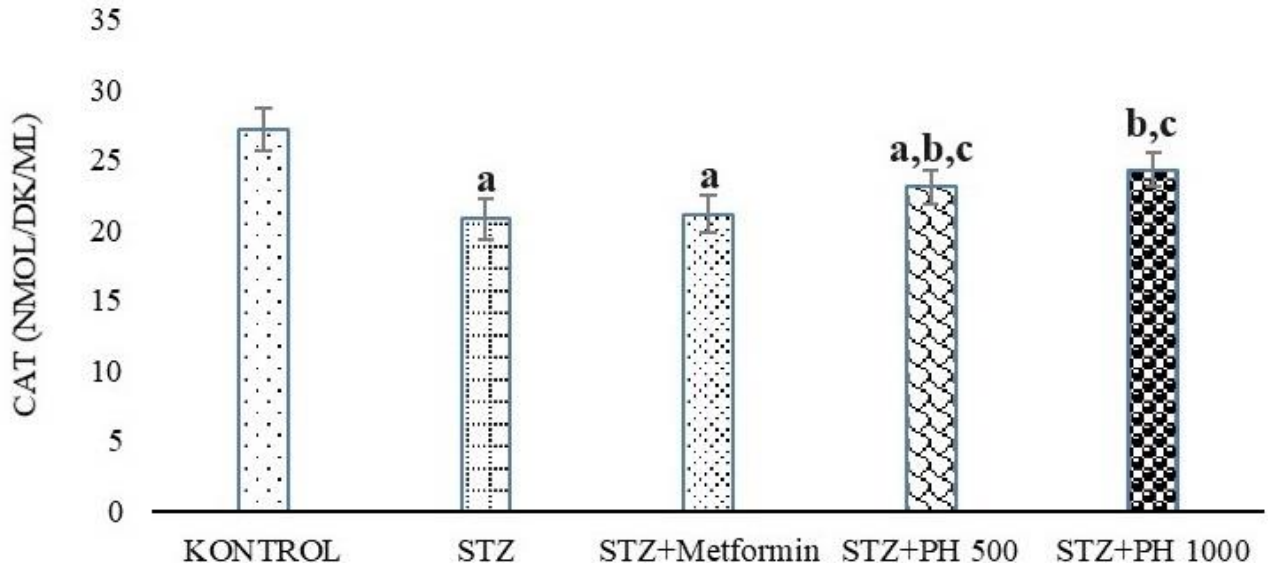
STZ ile indüklenen diyabetik model, artan ROS oluşumu oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (27). STZ enjeksiyonu, serumda ROS üretimini artırarak antioksidan enzimler üzerinde önemli bir etkiye neden olmaktadır (28, 29); bu durum çalışmamızda STZ uygulanan deney gruplarında SOD, CAT ve GSH aktivitelerindeki azalma ile açıkça görülmektedir. Bu sonuçlar, kontrol sıçanlarına kıyasla STZ sıçanlarında serum SOD, CAT ve GSH aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığı ve MDA seviyelerinin arttığı önceki çalışmalarla tutarlıdır. SOD, CAT ve GSH seviyeleri STZ grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli seviyede azalırken, PH verilen tedavi gruplarında STZ grubuna kıyasla önemli artış belirlendi ($p < 0.05$). PH bileşiminin MET grubuna göre de artış eğilimi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA, STZ ve MET gruplarında kontrol grubuna göre önemli artış gösterdi ($p < 0.05$). STZ grubu ile MET grubu arasında MDA değerleri bakımından fark görülmedi (Şekil 2-5).



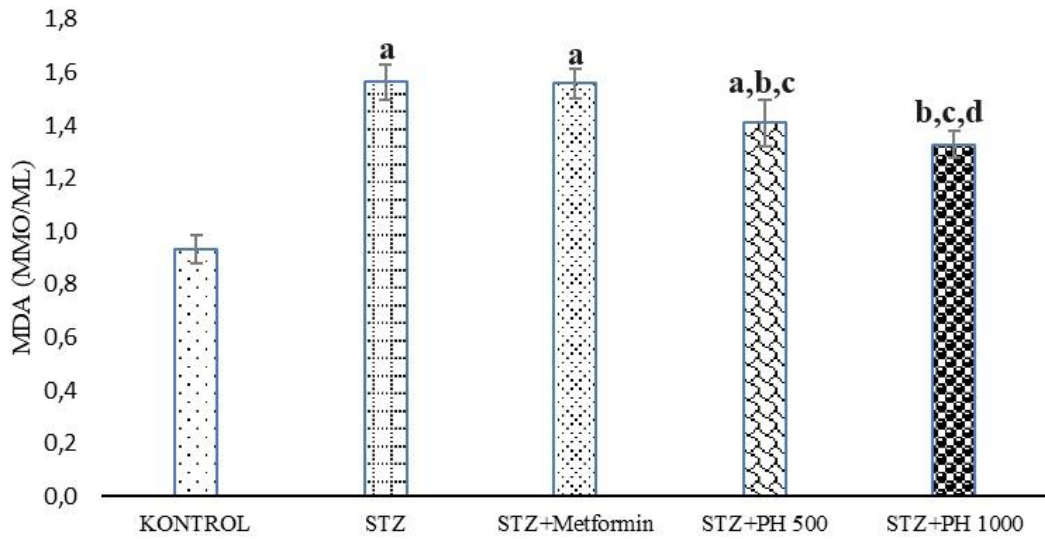
Şekil 2. Deney grupları ile GSH düzeyleri arasındaki dağılım grafiği. a; $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla anlamlı fark, b; $p < 0.05$ STZ grubuna kıyasla anlamlı fark, c; $p < 0.05$ STZ+MET grubuna kıyasla anlamlı fark var.



Şekil 3. Deney grupları arasında SOD aktiviteleri grafiği. a; $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla anlamlı fark, b; $p < 0.05$ STZ grubuna kıyasla anlamlı fark, c; $p < 0.05$ STZ+MET grubuna kıyasla anlamlı fark, d; $p < 0.05$ STZ+PH 500 grubuna kıyasla anlamlı fark.



Şekil 4. Deney grupları ile CAT aktiviteleri arası grafiği. a; $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla anlamlı fark, b; $p < 0.05$ STZ grubuna kıyasla anlamlı fark, c; $p < 0.05$ STZ+MET grubuna kıyasla anlamlı fark var.



Şekil 5. Deney grupları ile MDA düzeyleri. a; $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla anlamlı fark, b; $p < 0.05$ STZ grubuna kıyasla anlamlı fark, c; $p < 0.05$ STZ+MET grubuna kıyasla anlamlı fark, d; $p < 0.05$ STZ+PH 500 grubuna kıyasla anlamlı fark.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çoklu bitkisel karışım ekstresi ile tedavi, diyabetik sıçan modelinde antioksidan statü, hematolojik ve kemik iliği değişikliklerinin iyileştirilmesinde standart ilaçlardan (metformin) daha etkili olmuştur. Bu bulgular, bu karışımın gelecekte gıda ve/veya ilaç endüstrisinde olası kullanımı için değerli bir aday olabileceğini düşündürmekle birlikte, bununla ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Andrew JK, Diabetes. Churchill Living Stone, New York. 2000.
2. Imaeda A, Kaneko T, Aoki T, Kondo Y, Nagase H. DNA damage and the effect of antioxidants in streptozotocin-treated mice. *Food Chem Tox.* 2002;40(7):979-987.
3. Kirpichnikov D, McFarlane S., Sowers J R. Metformin: an update. *Ann. Intern. Med.* 2002; 137(1), 25-33.
4. Chien SHU. Influence of reduced red cell deformability on regional blood flow. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2019;60(2), 3-7.
5. Varashree BS, Bhat GP. Correlation of lipid peroxidation with glycated haemoglobin levels in diabetes mellitus. *Online J. Health Allied Sci.* 2011; 10(2).
6. Pandey KB, Rizvi SI. Biomarkers of oxidative stress in red blood cells. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc.* 2011; 155(2).
7. Shola O, Olugbenga F. Hyperglycaemic environment: contribution to the anaemia associated with diabetes mellitus in rats experimentally induced with alloxan. *Anemia*, 2015; (1), 848921.
8. Vercaemst L. Hemolysis in cardiac surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass: a review in search of a treatment algorithm. *JECT.* 2008; 40(4), 257-267.
9. De Jong K, Emerson RK, Butler J, Bastacky J, Mohandas N, Kuypers FA. Short survival of phosphatidylserine-exposing red blood cells in murine sickle cell anemia. *Blood. Am. J. Hematol.* 2001; 98(5), 1577-1584.
10. Vercaemst L. Hemolysis in cardiac surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass: a review in search of a treatment algorithm. *JECT.* 2008; 40(4), 257-267.
11. Russell-Jones D, Khan R. Insulin-associated weight gain in diabetes—causes, effects and coping strategies. *Diabetes Obes Metab.* 2007; 9(6), 799-812.
- 12 Madić V, Popović AŽ, Vukelić-Nikolić M, Đorđević L, Vasiljević P. Ethnopharmacological therapies in the treatment of diabetes in Serbia. *Glas. Antropol. druš. Srb.* 2018; 53(1-2).
13. De Santana Aquino DF, Monteiro TA, Cardoso, CAL, Vieira SCH, do Carmo Vieira M, de Picoli Souza K, Morato PN. Investigation of the antioxidant and hypoglycemic properties of *Alibertia edulis* (LC Rich.) AC Rich. leaves. *J. Ethnopharmacol.* 2020; 253, 112648.
14. Mahajan NM, Lokhande BB, Thenge RR, Gangane PS, Dumore NG. Polyherbal formulation containing antioxidants may serve as a prophylactic measure to diabetic cataract: Preclinical investigations in rat model. *Pharmacogn. Mag.* 2018; 14(58).
15. Han X, Yang Y, Metwaly AM, Xue Y, Shi Y, Dou D. The Chinese herbal formulae (Yitangkang) exerts an antidiabetic effect through the regulation of substance metabolism and energy metabolism in type 2 diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2019; 239, 111942.
16. Madić V, Stojanović-Radić Z, Jušković M, Jugović D, Popović AŽ, Vasiljević P. Genotoxic and antigenotoxic potential of herbal mixture and five medicinal plants used in ethnopharmacology. *S AFR J BOT.* 2019; 125, 290-297.
17. Trifonova D, Gavrilova A, Dyakova G, Gavrilov G, Yotova M, Nikolov S. Preliminary in vitro study of antioxidant activity and anti-diabetic potential of plant extracts from 4 herbal substances not traditionally used for treatment of diabetes mellitus. *Pharmacia.* 2021; 68, 755-762.
18. Ghorbani A, Shafiee-Nick R, Rakhshandeh H, Borji A. Antihyperlipidemic Effect of a Polyherbal Mixture in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of lipids*, 2013(1), 675759.

19. Şendoğdu N, Aslan M, Orhan DD, Ergun F, Yeşilada E. Antidiabetic and antioxidant effects of *Vitis vinifera* L. leaves in streptozotocin-diabetic rats. *Turkish J Pharm Sci.* 2006; 3(1), 7-18.
20. Mustafa SB, Akram M, Muhammad Asif H, Qayyum I, Hashmi AM, Munir N, Ahmad S. Antihyperglycemic activity of hydroalcoholic extracts of selective medicinal plants *Curcuma longa*, *Lavandula stoechas*, *Aegle marmelos*, and *Glycyrrhiza glabra* and their polyherbal preparation in alloxan-induced diabetic mice. *Dose-Response.* 2019; 17(2), 1559325819852503.
21. Aslan M, Orhan N. Diyabet Tedavisinde Kullanılan Bitkisel Ürünler ve Gıda Destekleri. 2010;23-24: 27-38 http://www.eczaakademi.org/images/upld2/ecza_akademi/makale/20110325013735diyabet_tedav_kul_bitk_urunler.pdf Erişim tarihi: 05.04.2023.
22. Karganov MY, Alchinova IB, Tinkov AA, Medvedeva YS, Lebedeva MA, Ajsuvakova OP, Skalny AV. Streptozotocin (STZ)-induced diabetes affects tissue trace element content in rats in a dose-dependent manner. *Biol. Trace Elem. Res.* 2020; 198, 567-574.
23. Gamede M, Mabuza L, Ngubane P, Khathi A. The effects of plant-derived oleanolic acid on selected parameters of glucose homeostasis in a diet-induced pre-diabetic rat model. *Mol.* 2018; 23(4), 794.
24. Khader M, Eckl PM. Thymoquinone: An emerging natural drug with a wide range of medical applications. *Iran. J. Basic Med Sci.* 2014;17,950–957. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4387230/>
25. Lippi G, Targher G, Salvagno GL, Guidi GC. Increased red blood cell distribution width (RDW) is associated with higher glycosylated hemoglobin (HbA1c) in the elderly. *Clin Lab.* 2014;60(12):2095-8.
26. Vinothiya K, Ashokkumar N. Modulatory effect of vanillic acid on antioxidant status in high fat diet-induced changes in diabetic hypertensive rats. *Biomed Pharmacother.* 2017; 1;87:640-52.
27. Badr G. Camel whey protein enhances diabetic wound healing in a streptozotocin-induced diabetic mouse model: the critical role of β -Defensin-1,-2 and-3. *Lipids Health Dis.* 2013;12:1-1.
28. Ibuki FK, Bergamaschi CT, da Silva Pedrosa M, Nogueira FN. Effect of vitamin C and E on oxidative stress and antioxidant system in the salivary glands of STZ-induced diabetic rats. *Arch. Oral Biol.* 2020; 1;116:104765.