

Acı Badem Yağının Streptozotosin Kaynaklı Diyabetik Sıçanların Serum ve Eritrositlerindeki Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerindeki Etkileri

Effects of Bitter Almond Oil on Some Biochemical Parameters in the Serum and Erythrocytes of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Ersin Demir¹, Serhat Keser^{2*}, Ökkeş Yılmaz³

¹Düzce Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Düzce, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ, Türkiye

³Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, Türkiye

Öz

Diyabet çağımızın en önemli hastalıklarından biri olarak kabul edilmekte ve dünya genelinde milyonlarca insanı etkilemektedir. Bitkisel kaynaklı ilaçlarla diyabeti tedavi etme çalışmaları yıllardır sürmektedir. Bu çalışmada acı badem yağının deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanların canlı ağırlık ve açlık kan glukoz seviyeleri ile serum ve eritrositlerinde yağda çözünen vitaminler, kolesterol, steroller, GSH, total protein ve MDA düzeyleri üzerinde etkilerinin incelenmesi amaçlandı. 30 adet 8-10 haftalık Wistar erkek sıçan rasgele 3 gruba ayrıldı: 1. Kontrol (K) (1mL/kg DMSO haftada iki kez), 2. Diyabet (D) (45 mg/kg streptozotosin tek doz + 1mL/kg DMSO haftada iki kez), 3. Diyabet + Acı Badem (D+AB) (45 mg/kg streptozotosin tek doz + 1mL/kg acı badem yağı her gün). Sonuçlarımıza göre, D grubu ile karşılaştırıldığında, D+AB grubunda açlık kan glukoz düzeyinin anlamlı derecede azalarak K grubu değerlerine yaklaştığı belirlendi. Ayrıca D grubu ile karşılaştırıldığında D+AB grubunun serumunda MDA düzeyinin azaldığı, eritrositlerde ise MDA düzeyinin anlamlı düzeyde arttığı, GSH düzeyinin ise önemli düzeyde artarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı gözlemlendi. Kolesterol miktarının serum ve eritrositlerde acı badem yağı verilen grupta D grubuna göre azaldığı saptandı. Sonuç olarak acı badem yağı verilen grupta açlık kan şekeri seviyesinin azaldığı gözlenmiştir. Özellikle diyabetik sıçanların serum ve eritrositlerinde kolesterol seviyesinin acı badem yağı uygulaması sonucunda azaldığı gözlenmiştir. Fakat bu durumun sebeplerinin daha iyi anlaşılabilmesi için ileri seviyelerde çalışmalar yapılması önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Acı badem, Diyabet, Yağda çözünen vitaminler, Açlık kan şekeri

Abstract

Diabetes is recognized as one of the most important diseases of our time, and it affects millions of people across the globe. The works of treat diabetes with plant-derived drugs continue for many years. In this study, we aimed to examine effects of the bitter almond oil on the live weight, fasting blood glucose levels and lipid-soluble vitamins, cholesterol, sterols, GSH, total protein and MDA levels in the serum and erythrocytes of Wistar rats, which forming experimental diabetes. 30 Wistar rats, 8-10 weekly aged, were randomly divided into three groups: 1. Control (K) (1mL/kg DMSO twice a week), 2. Diabetes (D) (45 mg/kg streptozotocin single dose + 1mL/kg DMSO twice a week), 3. Diabetes + Bitter Almond (D+AB) (45 mg/kg streptozotocin single dose + 1mL/kg bitter almond oil every day). According to our results, the fasting blood glucose level was significantly decreased and it was closed to the control group values in the D+AB group when compared to the D group. Also, when compared to the D group, the MDA level was significantly decreased in the serum of the D+AB group, its level was significantly increased in the erythrocytes of the same group, and the GSH level was significantly increased and it was closed to the control group values in the same group. The cholesterol level was decreased in the bitter almond given group when compared to the D group. In conclusion, it was observed that the fasting blood glucose level was decreased in the bitter almond oil given group. Particularly the cholesterol level was decreased in the serum and erythrocytes of the diabetic rats as a result of administration of the bitter almond oil. However, it can be suggested that the new advanced level studies may be do for better understanding of the reasons of this situation.

Keywords: Bitter almond, Diabetes, Lipid-soluble vitamins, Fasting blood glucose

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: serhatkeser@gmail.com

1. Giriş

Diyabet, hedef dokularda insülin aktivitesi ile insülinin mutlak ya da rölatif azlığı sonucunda ortaya çıkan ve hiperglisemi ile karakterize edilen, insanoğlunun en önemli endokrin sistem hastalıklarından biridir (Ahmed vd., 2004). Hiperglisemi oksidatif stresi teşvik etmekte ve bu durum reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu destekleyerek diyabete ait komplikasyonların oluşumunu hazırlamaktadır. Hem klinik hem de deneysel diyabette oksidatif stresin arttığı ayrıntılı çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (Baynes 1991). Oksidatif stresin artması hücre membran hasarına, membrana bağlı bulunan enzimlerin aktivitesinin değişmesine, apoptozise ve endojen antioksidan enzimlerin gen ifadelerinin değişmesine neden olmaktadır (Alhaider vd. 2011). Antioksidan potansiyeli olan besin maddeleri ile bu besin maddelerinde bulunan çeşitli antioksidan bileşiklerin reaktif oksijen türevlerini temizleme, bu bileşiklerin oluşturduğu hasarı onarma ya da önleme kabiliyeti bulunmaktadır (Irudayaraj vd. 2012).

Son zamanlarda diyabet ve diyabet komplikasyonlarının tedavisinde bitkisel ürünlerin kullanımına yönelik yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Craig 1999). Bitkiler her zaman için önemli bir ilaç kaynağı olmuştur ve günümüzde kullanılan ilaçların büyük bir kısmı doğrudan veya dolaylı olarak bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir. Diyabet tedavisinde insülin ve çeşitli sentetik anti-diyabet ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak bunların hiçbirinin herhangi bir olumsuz yan etki göstermeden uzun süreli glisemik kontrol sağlayamadıkları ifade edilmiştir (Irudayaraj vd. 2012). Bu gibi sebepler gerek hastaları gerekse araştırmacıları glisemik kontrol sağlama da farklı alternatifler aramaya itmiştir. Bu alternatiflerin en önemli kaynağını bitkiler oluşturmaktadır. Bitkilerin içerdikleri flavonoid, alkaloid, glukozit, polisakkarit ve peptidoglikan gibi aktif bileşiklerinin hipoglisemik özelliklerinin araştırılması günümüzde önemli bir araştırma konusudur (Babujanarthanam vd. 2011).

Gülgiller (Rosaceae) familyasından olan badem dünyanın birçok yerinde yetiştirildiği gibi ülkemizin de pek çok bölgesinde yetiştirilmektedir. Badem genellikle çerez olarak kullanılmasının yanında pasta ve kurabiyelere katılan önemli bir besin maddesidir. Badem yağı uzun yıllarda beri kozmetik ve tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (Özcan vd. 2011). Bitkisel yağlardan biri olan badem yağı, tekli ve çoklu doymamış yağ asitlerinden olan oleik ve linoleik asit bakımından zengin olmasının yanında tokoferol ve fenolik bileşikler bakımından da önemli bir kaynaktır. Badem tüketimi ile kronik hastalık riskinin azaltılması birbiri ile

ilişkilendirilmiştir (Jia vd. 2011). Bütün bunlara ek olarak acı bademin halk arasında diyabet de dahil olmak üzere çeşitli sağlık problemlerinin tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (Tuzlacı ve Şenkardeş 2011, Baydar 2006).

Bu çalışmada acı badem yağının streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş Wistar sıçanlarda canlı ağırlık ve açlık kan glukoz seviyeleri ile serum ve eritrositlerindeki MDA, GSH, total protein, yağda çözünen vitaminler ve kolesterol düzeyleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. Gereç ve Yöntem

2.1. Kimyasal ve Standartlar

Bütün kimyasal bileşik ve standartlar Sigma-Aldrich'den sağlanmıştır.

2.2. Deneysel Hayvanları

Çalışmada Wistar albino ırkı 30 adet, 8-10 haftalık erkek sıçanlar kullanıldı. Bu sıçanlar kontrol (K), Diyabet (D) ve Diyabet + Acı Badem yağı (D+AB) olmak üzere üç gruba ayrıldı. D ve D+AB gruplarındaki sıçanlara 45 mg/kg dozunda streptozotosin (STZ) fosfat-sitrat tamponunda (0.1 M, pH=4.5) çözülerek tek doz olarak intraperitoneal enjeksiyonla verildi (Ramesh ve Pugalendi 2006). STZ enjeksiyonundan üç gün sonra bir gece önceden aç bırakılan sıçanların kuyruk veninden alınan kan örneğinin glikometre (smart check) cihazında okunması suretiyle hayvanların açlık kan glukoz düzeyleri belirlendi. Kan glukoz değerleri 140-200 mg/dL arasında olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edilip çalışma başlatıldı (Masiello vd. 1998; Dewanjee vd. 2009).

2.3. Acı Badem Yağının Hazırlanması

Acı badem yağı dimetil sülfoksit (DMSO)'de çözüldü. Bu karışım D+AB grubu sıçanlarına haftada iki gün 1 mL/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla uygulanırken, 0.5 mL acı badem yağı da 500 mL içme suyuna eklenerek sıçanlara bu su verildi. Bu süre zarfında K ve D grubu sıçanlarına haftada iki gün 1 mL/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla DMSO verildi. Deneysel uygulamalar, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alınarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi (Etik karar no: 05.05.2011/81).

2.4. Deneysel İşlemler

Bu çalışma 60 gün sürdü ve çalışmanın sonunda tüm sıçanlar servikal dekapitasyon yolu ile dekapite edildi. Tüm grupların kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı ve tüpler 2790×g'de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant ve

pellet birbirinden ayrıldı. Supernatan ayrı bir deney tüpüne alındı ve analizler yapılincaya kadar tüm örnekler -86 °C'de saklandı. Pellet kısım %0.9'luk NaCl ile üç kez yıkandıktan sonra buz soğukluğunda Tris-HCl, Trisbase ve EDTA (pH=7.4) tamponu ile homojenize edildikten sonra +4°C'de 9000×g'de 20 dakika santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Elde edilen supernatan kısımda MDA, GSH ve total protein analizleri, pellet kısımda yağda çözünen vitaminler ve kolesterol analizleri yapıldı.

2.5. GSH Analizi

GSH düzeyi Ellman (1959) tarafından tanımlanan metoda göre yapıldı. 2 mL eritrosit örneği üzerine 1 mL %10'luk trikloroasetik asit reaktifi ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Daha sonra 10 dakika 2790×g'de santrifüj edilerek pellet çöktürüldü ve supernatan kısmı başka bir tüp içine alındı. Supernatan kısım üzerine 1 mL 5,5' ditiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) çözeltisi (%1'lik sodyum sitrat içinde 30 mg DTNB çözülerek hazırlandı) eklendi ve sonra 0.3 M Na₂HPO₄ çözeltisinden 2 mL ilave edildi. Oluşan sarı rengin absorbansı 412 nm'de UV'de okundu. Redükte GSH standart olarak (Akerboom ve Sies, 1981).

2.6. Protein Analizi

Protein tayini Lowry vd. (1955) tarafından tanımlanan metoda göre yapıldı. Alınan 10 µL serum ve eritrosit örneği üzerine Lowry çözeltisi ilave edildi. 10 dakika sonra saf suyla 1/1 oranında seyreltilmiş Folin reaktifi eklenip 30 dakika sonra oluşan mavi-lacivert renk 760 nm'de UV spektrofotometrede okundu. Bovin serum albümin (BSA) standart olarak kullanıldı.

2.7. MDA Tayini

MDA düzeyi Ohkawa vd (1979) tarafından tanımlanan metotta bazı değişiklikler yapılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. 1 mL alınan serum ve eritrosit örneği üzerine 0.5 mL %8.1'lik sodyum dodesil sülfat (SDS), 0.5 mL %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA), 1 mL %10'luk trikloroasetik asit (TCA), 1 mL %20'lik glasiyel asetik asit ve 50 µL % 2' lik butil hidroksi toluen (BHT) eklendi ve bu karışım vortekste karıştırıldı. Daha sonra tüpler 60 dakika kaynar su banyo-

sunda bekletildi. Tüpler oda sıcaklığına soğutulunca 5 mL bütanol/piridin (1:15 oranında) ilave edildi ve 1780×g'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üsteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda UV'de absorbansları okundu. Tetraetoksipropen standart olarak kullanıldı.

2.8. Yağda Çözünen Vitaminler ve Kolesterol Analizi

Örneklerde yağda çözünen vitaminler, kolesterol ve sterol analizi için dokuların ekstraksiyonu Hara ve Radin (1978) tarafından tanımlanan metoda göre yapıldı. Bunun için doku örnekleri 3:2 (v/v) oranında hekzan-isopropanol karışımı ile homojenize edildi. Daha sonra bu homojenat santrifüj edilerek elde edilen supernatan kısmın üzerine 5 mL %5'lik KOH çözeltisi ilave edildi. Vortekslendikten sonra 85 °C'de 15 dakika bekletildi. Tüpler çıkartılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve üzerine 5 mL saf su ilave edildi ve karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2x5 mL hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı azot gazı akımı ile uçuruldu. Tüplerin altında kalan ekstrakt 1 mL asetonitril/metanol (3:2, v/v) karışımında çözülerek otosampler viallerine alındı ve HPLCde analiz edildi. Mobil faz olarak asetonitril/metanol 3:2, v/v) karışımı kullanıldı. Mobil faz akış hızı 1 mL/dakika olarak belirlendi. Analiz için UV dedektör ve kolon olarak da Süpelcosil LC™ 18 (15x4.6 mm, 5 µm; Sigma, USA) kullanıldı (Katsanidis ve Addis 1999, Bragagnolo ve Rodriguez-Amaya 2003).

2.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için, SPSS 15.0 paket programı kullanıldı. Kontrol grubu ile diğer grupları arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi (DMRT) kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi.

3. Bulgular

Deneyel olarak oluşturulmuş diyabette acı badem yağının açlık kan glukoz düzeyi üzerindeki etkisi Çizelge 1'de gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre, D grubunda açlık kan glukoz düzeyinin anlamlı bir şekilde arttığı (p<0.001), D grubu ile karşılaştırıldığında D+AB grubunda açlık kan glukoz düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı saptandı (p<0.001).

Çizelge 1. Açlık kan şekeri değerleri (mg/dL)

Glukoz Seviyesi	Kontrol	Diyabet	Diyabet + Acı Badem
STZ'den Sonra Ölçüm	96.33±0.71 ^c	148.75±2.39 ^b	217.70±13.33 ^a
Çalışmanın Sonu	99.33±0.67 ^c	152.33±2.02 ^a	137.90±5.95 ^b

Sonuçlar, Ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir (P<0.001) (n=10) (DMRT)].

Acı badem yağının deney süresince sıçanların canlı ağırlığı üzerine etkisi Çizelge 2'de gösterilmiştir. Hem kontrol hem de D gruplarındaki sıçanların canlı ağırlıklarında artış olduğu saptanırken, en az ağırlık artışının acı badem yağı verilen D+AB grubunda olduğu belirlendi.

Deneyel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanların serumunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman retinol, vitamin D₂, vitamin D₃, kolesterol, β-sitosterol, toplam protein ve MDA seviyelerinin D ve D+AB gruplarında arttığı saptandı (P<0.001). α-tokoferol, vitamin K₂ ve stigmasterol seviyelerinin ise D grubunda arttığı belirlendi (P<0.001) (Çizelge 3).

Deneyel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanların eritrositlerinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman retinol, vitamin D₂, GSH ve toplam protein seviyelerinin D ve D+AB gruplarında azaldığı gözlenirken (P<0.001), α-tokoferol, vitamin D₃, vitamin K₁, vitamin K₂, kolesterol, β-sitosterol, stigmasterol ve MDA seviyelerinin ise aynı gruplarda arttığı belirlendi (P<0.001) (Çizelge 4).

4. Tartışma ve Sonuç

Streptozotosin *Streptomyces achromogenes* tarafından üretilen

bir antibiyotiktir ve pankreastaki insülin üreten beta hücrelerine glukoz taşıyıcı protein (GLUT-2) vasıtasıyla girerek hücre DNA'sının alkilasyonuna sebep olur. Bu alkilasyona bağlı olarak sinerjik bir şekilde nitrik oksit ile reaktif oksijen türlerinin oluşumunda artış meydana gelmektedir. Miktarları artan bu reaktif bileşikler DNA'nın parçalanmasına sebep olur. Bu parçalanma sonucunda beta hücreleri nekrozis yoluyla yok olur ve böylece metabolizmada insülin salınması azalır (Kumar vd. 2012). Sunulan çalışmada acı badem yağı verilen gruptaki diyabetik sıçanlarda açlık kan glukoz düzeyi diyabet grubuna göre önemli düzeyde azalarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı saptanmıştır (Tablo 1). Choudhary vd. (2009), yaptıkları bir çalışmada Tip-2 diyabetik kadınlara verdikleri bademin hem postprandial hem de açlık kan glukoz düzeyini önemli derecede azalttığını göstermişlerdir. Mori vd. (2011) ise bademin kan glukoz düzeyini azaltma kabiliyetine sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Hiperglisemi, reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesine neden olarak diyabete özgü komplikasyonların oluşumunu hızlandırmaktadır. Tükettiğimiz besin maddelerinde bulunan antioksidan bileşikler, serbest radikal temizleyicisi gibi

Çizelge 2. Deney hayvanlarının canlı ağırlık (CA) değişimleri (gram)

Ağırlıklar	Kontrol	Diyabet	Diyabet + Acı Badem
Çalışma Başlangıcı	192.17±0.83	200.67±3.06	193.60±1.11
Çalışma Sonu	247.33±1.30	244.50±2.02	240.60±2.99

Çizelge 3. Wistar sıçan serumundaki biyokimyasal parametreler.

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	Diyabet	Diyabet + Acı Badem
Retinol (µg/g)	0.30±0.03 ^c	0.42±0.02 ^b	0.51±0.03 ^a
α-tokoferol (µg/g)	26.86±0.21 ^b	64.43±0.84 ^a	25.72±0.33 ^b
Vitamin D ₂ (µg/g)	0.20±0.03 ^c	0.29±0.02 ^b	0.32±0.01 ^a
Vitamin D ₃ (µg/g)	0.10±0.00 ^c	0.16±0.02 ^a	0.18±0.01 ^a
Vitamin K ₁ (µg/g)	0.54±0.02 ^b	0.53±0.02 ^a	0.32±0.02 ^c
Vitamin K ₂ (µg/g)	0.62±0.06 ^b	2.97±0.13 ^a	0.65±0.02 ^b
Kolesterol (µmol/g)	0.63±0.02 ^c	0.96±0.01 ^a	0.69±0.03 ^b
β-Sitosterol (µg/g)	3.72±0.12 ^c	11.54±0.20 ^a	5.69±0.18 ^b
Stigmasterol (µg/g)	2.50±0.21 ^b	3.60±0.09 ^a	2.54±0.16 ^b
Total Protein (µg/g)	83.55±0.76 ^b	108.14±1.28 ^a	107.42±1.48 ^a
MDA (nmol/g)	4.63±0.06 ^b	6.79±0.01 ^a	6.65±0.20 ^a

Sonuçlar, Ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir (P<0.001) (n=10) (DMRT)].

Çizelge 4. Wistar sıçan eritrositlerindeki biyokimyasal parametreler.

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	Diyabet	Diyabet + Acı Badem
Retinol (µg/g)	0.14±0.01 ^a	0.13±0.01 ^b	0.11±0.01 ^c
α-tokoferol (µg/g)	30.84±1.49 ^c	65.28±2.94 ^a	53.47±3.33 ^b
Vitamin D ₂ (µg/g)	0.43±0.04 ^a	0.38±0.01 ^b	0.34±0.02 ^c
Vitamin D ₃ (µg/g)	0.12±0.01 ^b	0.18±0.01 ^a	0.17±0.01 ^a
Vitamin K ₁ (µg/g)	0.33±0.05 ^c	1.02±0.04 ^b	1.20±0.05 ^a
Vitamin K ₂ (µg/g)	0.13±0.01 ^c	0.59±0.02 ^b	0.63±0.02 ^a
Kolesterol (µmol/g)	0.76±0.03 ^c	1.76±0.03 ^a	1.21±0.06 ^b
β-Sitosterol (µg/g)	3.40±0.15 ^c	8.71±0.37 ^b	11.15±0.70 ^a
Stigmasterol (µg/g)	6.27±0.19 ^b	13.91±0.65 ^a	13.82±0.61 ^a
GSH (µg/g)	61.71±0.57 ^a	39.99±0.77 ^c	55.38±0.29 ^b
Total Protein (µg/g)	44.27±0.62 ^a	38.20±0.66 ^b	23.62±0.24 ^c
MDA (nmol/g)	0.98±0.02 ^c	1.20±0.02 ^b	1.42±0.02 ^a

Sonuçlar, Ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir (P<0.001) (n=10) (DMRT)].

hareket ederek reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin neden olduğu hasarı önleme ya da onarma aktivitesi gösterirler ve böylece diyabete ait komplikasyonların ortaya çıkma riskinin azaltılmasında çok önemli rol oynayabilirler (Irudayaraj vd. 2012). Acı badem yağı verilen diyabetik sıçanların serumunda MDA seviyesi azalırken, eritrositlerde ise artmıştır. Ortaya çıkan bu ters sonucun acı bademde yağında bulunan amigdalin molekülünün varlığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çünkü bu molekül alkali ortamda hidrolize olduğunda hidrosiyanik aside (hidrojen siyanür) dönüşebilmektedir. Hidrojen siyanür, elektron taşıma zincirinde sitokrom a'nın sitokrom a₃'e dönüşme basamağını bloke ederek hücrel oksijen metabolizmasının bozulmasına sebep olur (hipoksia) ve sonuçta hücre ölümüne yol açmaktadır (Shragg vd. 1982). Oksijen yaşam için gerekli olmakla birlikte oksijen düzeyinin çok düşük ya da çok fazla olması oksidatif hasara yol açabilmektedir (Zhao ve Haddad 2011). Diyabetik sıçanların eritrositlerinde MDA düzeyinde görülen artışın hücrel oksijen düzeyinin azalmasından kaynaklanmış olabileceğini öngörmekteyiz. Ayrıca amigdalinin bu özelliği bilinmesine rağmen geleneksel Çin tıbbında tümör tedavisinde yaygın bir şekilde kullanıldığı ifade edilmiştir (Zhao 2012, Fukuda vd. 2003).

Glutasyon (GSH) tüm hücrelerde milimolar (mM) konsantrasyonda bulunur ve hücredeki en önemli antioksidan moleküllerden biridir. Diyabette GSH düzeyinde görülen azalma oksidatif stresin arttığına en önemli göstergesidir

(Singh vd. 2001). Sunulan çalışmada diyabetik sıçanlara uyguladığımız acı badem yağının eritrositlerde GSH düzeyini önemli derecede arttırdığını saptadık. Bu artışa acı badem yağında bulunan fenolik bileşikler, doymamış yağ asitleri ile tokoferollerin neden olabileceğini düşünmekteyiz. Çünkü bademin fenolik bileşikler, doymamış yağ asitleri ile tokoferoller bakımından önemli bir kaynak olduğu ve bu üç bileşik grubunun önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya çıkarılmıştır (Miraliakbari ve Shahidi 2008, Arranz vd. 2008).

Kontrol grubuna göre D grubunda lipofilik vitaminler, sterol ve kolesterol düzeyinde önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. Diyabetik sıçanlara verilen acı badem yağının eritrositlerde seruma göre daha etkili sonuçlar ortaya çıkardığını tespit ettik. Diyabette hiperglisemiye hiperlipidemide eşlik etmektedir ve bunun sonucunda trigliserit, total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyi artarken HDL kolesterol düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (Scoppola vd. 1995). Acı badem yağı uygulanan gruptaki sıçanların hem serum hem de eritrositlerinde diyabet grubuyla karşılaştırıldığı zaman total kolesterol düzeyinin önemli derecede azaldığını belirledik. Total kolesterol ile LDL kolesterol düzeyinin yüksekliği kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olduğu ifade edilmiştir (Jenkins vd. 2008). Diyabet hastalarında ateroskleroz ile koroner kalp hastalıklarının görülme sıklığının normal bireylere göre 3-4 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (Gupta vd. 2009). Badem gibi kuruyemişlerin,

kolesterol metabolizması üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu için koroner kalp hastalığı riskinin azaltılması ile badem tüketimi arasında önemli bir ilişkinin bulunduğu ifade edilmiştir (Wang vd. 2010).

Lipofilik vitaminler barsakta emildikten sonra özel taşıyıcı proteinler vasıtasıyla taşınırlar. Bu özel taşıyıcı proteinlerin aktivitesinin insüline bağlı olabileceği iddia edilmiştir. Torres vd. (1999) yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre diyabet grubunun plazmasında E vitamini düzeyinin arttığını rapor etmişler. Miyazaki vd. (2013) ise karaciğerde α -tokoferol taşıyıcı protein gen aktivitesinin arttığını bundan dolayı serumda α -tokoferol düzeyinin yükseldiğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda diyabetik sıçanların serum ve eritrositlerinde α -tokoferol düzeyinin arttığı, fakat acı badem yağı uyguladığımız gruptaki diyabetik sıçanlarda α -tokoferol düzeyinin azaldığı belirlenmiştir. Bu durumun diyabetik sıçanlara uyguladığımız acı badem yağının serum ve eritrositte E vitamini düzeyinde ortaya çıkan anormallikleri önlemesinden kaynaklandığını söyleyebiliriz.

STZ vererek diyabet oluşturulan sıçanlarda A vitamini düzeyinin araştırıldığı çalışma bulguları incelendiğinde karaciğerde A vitamin düzeyinin arttığı, plazmada ise azaldığı tespit edilmiştir (Tuitoek vd. 1996, Basu ve Basualdo 1997). Bizim çalışmamızda A vitamini ile ilgili bulgular yukarıdaki çalışma sonuçları ile uyumludur. Çünkü sunulan çalışmada serumda A vitamini düzeyi artmış, eritrositlerde ise azalmıştır. Diyabette insülin düzeyinde ortaya çıkan azalma retinol taşıyıcı proteinlerin aktivitesinin bozulmasına sebep olmaktadır. Ancak insülin tedavisiyle bu proteinlerin eski aktivitesini geri kazandığı gösterilmiştir (Basu ve Basualdo 1997).

Diyabetik sıçanların dokularında kolesterol, bitkisel sterol ve stanol birikiminin olduğu, bu birikime karaciğer ve barsakta bulunan ABCG 5 (ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı protein G5) ve ABCG 8 (ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı protein G8) adı verilen taşıyıcı protein aktivitelinde ortaya çıkan azalmanın sebep olduğu ifade edilmiştir (Yang vd. 2004, Scoggan vd. 2009). Elde ettiğimiz bulgularda kontrol grubuna kıyasla D grubunda sterol (stigmasterol ile β -sitosterol) düzeylerinde önemli artışların olduğu, bu artışların eritrositlerde daha belirgin olduğu belirlendi. Diyabetik sıçanlara uygulanan acı badem yağının serumda stigmasterol ve β -sitosterol düzeyinin azaltarak kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığı tespit edildi. Elde ettiğimiz bu sonuçların acı bademde bulunan aktif biyomoleküllerin yukarıda bahsedilen taşıyıcı proteinlerin aktivitesi üzerindeki olumlu etkilerine bağlı olarak ortaya çıktığını ifade edebiliriz. Bitkilerde bulunan çeşitli fitokimyasalların insan sağlığına olan yararlı etkileri

birçok çalışmada ortaya çıkmıştır (Rayalam vd. 2008, Coskun vd. 2005).

Bu çalışmada acı badem yağının streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş Wistar sıçanların canlı ağırlık, açlık kan glukoz düzeyleri ile serum ve eritrositlerinde GSH, MDA, total protein, yağda çözünen vitaminler, kolesterol ve diğer steroller üzerindeki etkileri incelendi. Sonuç olarak açlık kan şekeri, total kolesterol, bazı vitamin ve sterol düzeyleri üzerinde acı badem yağının olumlu sonuçlar gösterdiği, fakat elde edilen verilerin kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini öngörmekteyiz.

5. Teşekkür

Bu çalışmaya Fırat Üniversitesi, FF.11.39 nolu proje ile destek sağlamıştır.

6. Kaynaklar

- Ahmed, I., Adeghate, E., Cummings, E., Sharma, AK., Singh, J. 2004.** Beneficial effects and mechanism of action of *Momordica charantia* juice in the treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rat. *Mol. Cell Biochem.*, 261(1-2):63-70.
- Akerboom, TP., Sies, H. 1981.** Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol.*, 77:373-82.
- Alhaider, AA., Korashy, HM., Sayed-Ahmed, MM., Mobark, M., Kfoury, H., Mansour, M.A. 2011.** Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression. *Chem. Biol. Interact.*, 192:233-242.
- Arranz, S., Cert, R., Pérez-Jiménez, J., Cert, A., Saura-Calixto, F. 2008.** Comparison between free radical scavenging capacity and oxidative stability of nut oils. *Food Chem.*, 110:985-990.
- Babujanathanam, R., Kavitha, P., Mahadeva Rao, US., Pandian, MR. 2011.** Quercitrin a bioflavonoid improves the antioxidant status in streptozotocin: induced diabetic rat tissues. *Mol. Cell Biochem.*, 358:121-129.
- Basu, T.K., Basualdo, C. 1997.** Vitamin A homeostasis and diabetes mellitus. *Nutrition*, 13(9):804-806.
- Baydar, SN. 2006.** Şifalı bitkiler ansiklopedisi cilt 1. 1.Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Baynes, JW. 1991.** Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, 40:405-412.
- Bragagnolo, N., Rodriguez-Amaya, DB. 2003.** Comparison of the cholesterol content of Brazilian chicken and quail eggs. *J. Food Comp. Anal.*, 16:147-153.
- Choudhary, P., Kothari, S., Sharma, V. 2009.** Almond consumption decreases fasting and post prandial blood glucose level in female type 2 diabetes subject. *Am. J. Infect. Dis.*, 5(2):109-111.
- Coskun, O., Kanter, M., Korkmaz, A., Oter, S. 2005.** Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-

- induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol. Res.*, 51:117–123.
- Craig, W.J. 1999.** Health-promoting properties of common herbs. *Am. J. Clin. Nutr.*, 70:491–499.
- Dewanjee, S., Das, A.K., Sahu, R., Gangopadhyay, M. 2009.** Antidiabetic activity of *Diospyros peregrina* fruit: effect on hyperglycemia, hyperlipidemia and augmented oxidative stress in experimental type 2 diabetes. *Food Chem Toxicol.*, 47(10):2679–85.
- Ellman, G.L. 1959.** Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82:70–77.
- Fukuda, T., Ito, H., Mukainaka, T., Tokuda, H., Nishino, H., Yoshida, T. 2003.** Anti-tumor promoting effect of glycosides from *Prunus persica* seeds. *Biol. Pharm. Bull.*, 26(2):271–273.
- Gupta, S., Sharma, S.B., Bansal, S.K., Prabhu, K.M. 2009.** Antihyperglycemic and hypolipidemic activity of aqueous extract of *Cassia auriculata* L. leaves in experimental diabetes. *J. Ethnopharmacol.*, 123:499–503.
- Hara, A., Radin, N.S. 1978.** Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal. Biochem.*, 90:420–426.
- Irudayaraj, S.S., Sunil, C., Durairandiyar, V., Ignacimuthu, S. 2012.** Antidiabetic and antioxidant activities of *Toddalia asiatica* (L.) Lam. leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 143:515–523.
- Jenkins, D.J., Hu, F.B., Tapsell, L.C., Josse, A.R., Kendall, C.W. 2008.** Possible benefit of nuts in type 2 diabetes. *J. Nutr.*, 138(9):1752–1756.
- Jia, X.Y., Zhang, Q.A., Zhang, Z.Q., Wang, Y., Yuan, J.F., Wang, H.Y., Zhao, D. 2011.** Hepatoprotective effects of almond oil against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food Chem.*, 125:673–678.
- Katsanidis, E., Addis, P.B. 1999.** Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue. *Free Radical Biol. Med.*, 27:1137–1140.
- Kumar, R.B.S., Kar, B., Dolai, N., Bala, A., Haldar, P.K. 2012.** Evaluation of antihyperglycemic and antioxidant properties of *Strobilus asper* Lour against streptozotocin-induced diabetes in rats. *Asian Pac. J. Trop. Dis.*, 139–143.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951.** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193(1):265–275.
- Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., Novelli, M., Ribes, G. 1998.** Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2):224–229.
- Miraliakbari, H., Shahidi, F. 2008.** Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. *Food Chem.*, 111:421–427.
- Miyazaki, H., Takitani, K., Koh, M., Takaya, R., Yoden, A., Tamai, H. 2013.** α -tocopherol status and expression of α -tocopherol transfer protein in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, 59(1):64–68.
- Mori, A.M., Considine, R.V., Mattes, R.D. 2011.** Acute and second-meal effects of almond form in impaired glucose tolerant adults: a randomized crossover trial. *Nutr. Metabol.*, 8(6):1–8.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.*, 95(2):351–358.
- Özcan, M.M., Ünver, A., Erkan, E., Arslan, D. 2011.** Characteristics of some almond kernel and oils. *Sci. Hortic.*, 127:330–333.
- Ramesh, B., Pugalendi, K.V. 2006.** Antioxidant role of umbelliferone in STZ-diabetic rats. *Life Sci.*, 79:306–310.
- Rayalam, S., Della-Fera, M.A., Baile, C.A. 2008.** Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J. Nutr. Biochem.*, 19:717–726.
- Scoggan, K.A., Gruber, H., Chen, Q., Plouffe, L.J., Lefebvre, J.M., Wang, B., Bertinato, J., L'Abbé, M.R., Hayward, S., Ratnayake, W.M. 2009.** Increased incorporation of dietary plant sterols and cholesterol correlates with decreased expression of hepatic and intestinal Abcg5 and Abcg8 in diabetic BB rats. *J. Nutr. Biochem.*, 20:177–186.
- Scoppola, A., Testa, G., Frontoni, S., Maddaloni, E., Gambardella, S., Menzinger, G., Lala, A. 1995.** Effects of insulin on cholesterol synthesis in type II diabetes patients. *Diabetes Care*, 10:1362–1369.
- Shragg, T.A., Albertson, T.E., Fisher, C.Jr. 1982.** Cyanide poisoning after bitter almond ingestion. *West J. Med.*, 136(1):65–69.
- Singh, S.N., Vats, P., Suri, S., Shyam, R., Kumria, M.M., Ranganathan, S., Sridharan, K. 2001.** Effect of an antidiabetic extract of *Catharanthus roseus* on enzymic activities in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 76:269–277.
- Torres, M.D., Canal, J.R., Pérez, C. 1999.** Oxidative stress in normal and diabetic rats. *Physiol. Res.*, 48(3):203–208.
- Tuitoek, P.J., Ritter, S.J., Smith, J.E., Basu, T.K. 1996.** Streptozotocin-induced diabetes lowers retinol-binding protein and transthyretin concentrations in rats. *Brit. J. Nutr.*, 76(6):891–897.
- Tuzlacı, E., Şenkardeş, İ. 2011.** Turkish folk medicinal plants, X: Ürgüp (Nevşehir). *Marmara Pharmaceut. J.*, 15:58–68.
- Wang, L., Zhang, X.T., Zhang, H.Y., Yao, H.Y., Zhang, H. 2010.** Effect of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves extract on blood glucose and plasma lipid levels in streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Ethnopharmacol.*, 130:465–469.
- Yang, C., Yu, L., Li, W., Xu, F., Cohen, J.C., Hobbs, H.H. 2004.** Disruption of cholesterol homeostasis by plant sterols. *J. Clin. Invest.*, 114(6):813–822.
- Zhao, H.W., Haddad, G.G. 2011.** Review: Hypoxic and oxidative stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Placenta*, 32(Suppl 2):104–108.
- Zhao, Y. 2012.** Amygdalin content in four stone fruit species at different developmental stages. *Sci. Asia*, 38:218–222.