

## Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulan Ratlarda Tarçın Ekstraktının Mikronükleus Sıklığı Üzerine Etkisi

Pınar AKSU KILIÇLE<sup>1\*</sup>, Abdullah DOĞAN<sup>2</sup>, Yağmur YILDIZ<sup>1</sup>,  
Şükran YEDİEL ARAS<sup>3</sup>, Hasan ASKER<sup>3</sup>, Ebru KARADAĞ SARI<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kars

<sup>2</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars

<sup>3</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars

Yayın Kodu (Article Code): 9-2A-12

### Özet

Bu çalışmada, dünya genelinde baharat olarak kullanılan ve halk arasında yaygın tüketime sahip olan *Cinnamomum zeylanicum* (seylan tarçını) ekstraktının diabetik ratların femur kemik iliği hücrelerinde in-vivo mikronükleus oluşumuna etkisinin saptanması amaçlanmıştır. Çalışmada 40 adet erkek *Spraguey Dawley* cinsi rat kullanıldı. Deney grupları kontrol, tarçın, diyabet ve diyabet+tarçın olarak belirlendi. Diyabet ve diyabet+tarçın gruplarına (i.p) STZ (Streptozotosin) enjeksiyonu yapılarak diyabet oluşturuldu. Daha sonra tarçın ve diyabet+tarçın gruplarına tarçın ekstraktı 14 gün boyunca 200mg/kg olacak şekilde oral gavaj yolu ile verildi. Çalışma sonunda ratlara servikal dislokasyon uygulandıktan sonra femur kemikleri alınarak mikronükleus testi uygulandı. İstatistiksel analizler neticesinde; kontrol ve tarçın ekstraktı verilen gruplara göre, diyabete bağlı olarak mikronükleuslu polikromatik eritrosit (MNPCE), polikromatik eritrosit (PCE) ve normokromatik eritrosit (NCE) sayılarının artış gösterdiği, diyabetle birlikte tarçın ekstraktı verilen gruplarda sadece diyabet grubuna göre bu sayıların düşüş gösterdiği tespit edildi (P<0.001). Aynı zamanda PCE/NCE oranları bakımından değerlendirme yapıldığında da en düşük oranın diyabet grubunda olduğu, diyabetik hayvanlara tarçın ekstraktı uygulanmasına bağlı olarak da bu oranın artış gösterdiği belirlendi. Sonuç olarak STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda mikronükleus sayısı artarken, diyabet+tarçın grubunda tarçının koruyucu etkisinin belirgin olduğu ve mikronükleus sayısını azalttığı gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Streptozotosin, Diyabet, *Cinnamomum zeylanicum*, Mikronükleus

### The Effects of Cinnamon Extract on Micronucleus Frequency in Streptozotocin – Induced Diabetes Rats

#### Abstract

In this study, it was aimed to determine the effect of *Cinnamomum zeylanicum* (ceylon cinnamon) extract, which is used as a spice all over the world and has widespread consumption among the population, on in vivo micronucleus formation of femur bone marrow cells of diabetic rats. Forty male Sprague Dawley rats were used in the study. The experimental groups were identified as control, cinnamon, diabetes and diabetes + cinnamon. Diabetes was formed by injecting STZ (Streptozotocin) into diabetes and diabetes + cinnamon groups (i.p.). After then cinnamon extracts were given to cinnamon and diabetes + cinnamon groups by oral gavage as 200 mg / kg for 14 days. At the end of the study, rats were sacrificed by cervical dislocation, then micronucleus test was performed by removing the femur bones. As a result of statistical analyzes, as compared to control and cinnamon extract supplemented groups, it was found that MNPCE, PCE and NCE numbers increased depending on the diabetes; and these numbers were decreased only in the groups which were given cinnamon extract with diabetes as compared to the diabetes group (P<0.001). At the same time, when the PCE / NCE ratios were evaluated, it was determined that the lowest ratio was in the diabetes group, and that this ratio increased due to the application of cinnamon extract to diabetic animals. As a result, it was observed that the protective effect of cinnamon in diabetes + cinnamon group was prominent while the number of micronuclei increased in STZ-induced diabetic rats, and decreased micronucleus number.

**Keywords:** Streptozotocin, Diabetes, *Cinnamomum zeylanicum*, Micronucleus

**e-mail:** pinaraksu@kafkas.edu.tr

**Giriş**

Diyabet, dünya çapında yaklaşık 285 milyon insanı etkileyen ölümcül bir hastalıktır ve önümüzdeki 20 yıl içinde kırsal ve yoksul nüfusun artmasıyla beraber hastalığın ciddi boyutlara ulaşacağı öngörülmektedir (Shaw et al., 2010). Diyabet özellikle ABD, Çin, Hindistan gibi gelişmiş (Nain et al., 2012) ve Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde artış göstermektedir. Diyabetin birçok komplikasyonu bulunmaktadır. Bu komplikasyonlar arasında kalp, böbrek, gözler ve sinir sistemi vardır. Uzun süreli hiperglisemik durum organların zarar görmesine ve ölümüne yol açabilir. Bu sebepten dolayı erken teşhis önemlidir ve hastaların uygun ve etkili tedaviyle tedavi edilmesi gerekmektedir (ADA, 2011; Walker et al., 1990). Tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki diyabet çeşidi vardır. Tip 1 diyabet (insüline bağlı) otonom hastalıktır ve büyüme çağına aniden ortaya çıkmaktadır.  $\beta$  hücrelerindeki otoimmün harabiyet ile karakterizedir, ancak bazı hastalarda  $\beta$  hücresi kaybına neden olan bilinmeyen bir durum söz konusudur (Lebovitz, 2004). Tip 2 diyabet ise (insüline bağlı olmayan diyabet) insülin direnci ve  $\beta$  hücrelerinin fonksiyon bozukluğunda ortaya çıkmaktadır (Viana et al., 2014). Hem çocuklarda ve hem de yetişkinlerde görülür ve daha fazla obeziteyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Lebovitz, 2004).

Oksidatif stres; kanser oluşumu, şeker hastalığı, kardiyovasküler hastalık, katarakt enfeksiyonu ve diğer hastalıkların inflamasyonuna yol açmaktadır. Bu yüzden diyabet ve komplikasyonlarının ortaya çıkmasında önemli bir rol oynar. Antioksidanlardan elde edilmiş kimyasal koruyucular genotoksisite ve karsinogenezi önlemede maliyetli bir yaklaşım olarak düşünülmektedir. Bu yüzden diyabet tedavisi için bitkisel kaynaklardan yeni antidiyabetik ilaçlar için sürekli araştırmalar yapılmaktadır (Srinivasan, 2005). DNA'da oksidatif hasara sebep olabilecek etkenlerden bazıları; İyonize radyasyon, yüksek oksijen konsantrasyonu, oto-oksidasyona uğrayan yapılar (Dopamin, LDOPA, adrenalin, noradrenalin gibi), ksantin oksidaz ve TNF- $\alpha$ 'dır. Bu etkenler ile serbest radikal oluşumunda artış meydana gelerek DNA'da doğrudan hasar oluşabildiği gibi onarım mekanizmasında görevli enzimlerin aktif olması engellenerek hücrede yıkıma neden olmaktadır (Lunec et al. 1994). Oksidatif hasar sonucu DNA'da zincir kırıkları, baz çifti mutasyonları, delesyon gibi yapısal anomaliler oluşmaktadır (Andican, 2000).

Yaklaşık olarak 350 000 den fazla bitki türü olduğu tahmin edilmektedir (Heywood, 2011). Bu bitkilerden 400'den fazlası diyabet hastaları tarafından kullanılmaktadır. Yine bunlara ek olarak birçok vitamin ve mineral diyabet tedavisine destek amacıyla kullanılmaktadır. Son zamanlarda birçok araştırmacı bitkilerde yaygın olarak flavonoidlerin var olduğuna ve yüksek oranda antioksidan aktivite içerdiğine vurgu yapmaktadır (Wang et al., 2012; Lou et al., 2014; Li et al., 2015).

Tarçın; tarihi 4000 yıl öncesine dayanan *Cinnamomum* familyasından olup Seylan tarçını ve Çin tarçını olarak iki türü bulunmaktadır. Çin, Hindistan, Vietnam gibi ülkelerde kendiliğinden yetişen tarihteki en eski bitkisel ilaçlardan birisidir (Leung ve Foster, 1996). Tarçın antimikrobiyal aktivite, kanser hücrelerinin oluşumunun inhibe edilmesi, soğuk algınlıklarına karşı korunmada ve diyabette glikoz kontrolünde etkilidir (Anderson et al., 2004). İçerisinde bulunan fenolik bileşiklerden dolayı tarçın doğal bir antioksidan kapasiteye sahiptir. Polifenoller vücuttaki oksidasyon sürecini inhibe etme ve çeşitli nedenlerle oluşmuş serbest radikalleri yok etme açısından önemlidir (Desai & Park 2005; Jafari et al., 2008). Tarçının suda çözünen bileşenlerinden olan prosiyadin tip A polimerlerinin diyabet ve glikoz intoleransının kontrolünde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Anderson et al., 2004). Tarçın bitkisinin etken maddeleri; sinmaldehit (%65-75), linalool, furfural, metilamilketon, nonilaldehit, benzaldehit, hidrosinamaldehit, küminaldehit, öjenol, karyofilen, felandren, p-simen ve pinen' dir. Uçucu yağının %80'i sinmaldehit, %4-12'si öjenoldür (Keskin, 1982; Aggarwal et al., 2002). Genotoksisite testleri temel olarak kanserden korunmada, çevresel etkenlerin ve endüstriyel kimyasalların etkisini araştırmada, ilaçların kullanım aşamasına gelmeden önce toksik etkilerini ve güvenilirliğini araştırmada kullanılmaktadır. Genotoksisite testleri 1970'lerden beri kullanılmaktadır ve o tarihten günümüze kadar birçok in-vivo ve in-vitro genotoksisite testleri geliştirilmiştir (Kramer, 1998; Jena et al., 2002).

Mikronükleus (MN); hücrenin mitoz bölünmenin telofaz safhasından kalan kromozom veya asentrik kromozom fragmentlerinden köken alan, ana çekirdeğe dahil olmayan oluşumlar olarak tanımlanmaktadır (Stopper ve Müller, 1997; Choy, 2001). MN oluşumuna; hücre döngüsünü kontrol eden genlerden bazılarının eksikliği yada mitotik iç

iplikçiğindeki fonksiyon bozuklukları sebep olabildiği gibi kromozomda meydana gelen hasarlarda sebep olabilmektedir (Zijno et al., 1994). Hücrenin çeşitli ajanlara maruz kalmasıyla ortaya çıkan sayısal ve yapısal kromozom düzensizlikleri neticesinde MN sayısında artış meydana gelmektedir (Lohani et al., 2000). In vivo fare kemik iliği mikronükleus testi ilk olarak Boller ve Schmid tarafından 1970’de gerçekleştirilmiştir (Heddle et al., 1983). Bu test ile kimyasal maddeler sonucu kromozomlarda hasar gören kısımlarda oluşan küçük nukleuslar (MN) belirlenebilmektedir. Oluşan MN sitoplazmada ana çekirdeğin yanında bulunmaktadır. Bu test ile kimyasal maddelerin etkilerine bağlı olarak, hasar görmüş kromozomlarda ortaya çıkan küçük nukleusların (MN) belirlenmesine dayanmaktadır. Oluşan MN çekirdeğin yanında sitoplazmada kalmaktadır. Fare kemik iliği ile çalışılan mikronükleus testinde eritrositler kullanılmaktadır. Eritroblastlar, polikromatik eritrositlere (PCE) dönüştükten sonra mitoz bölünmenin ardından yaklaşık 6 saat sonra nukleuslarını kaybederler. Bu sayede de MN oluşumunu belirlemek daha kolay olmaktadır (Mavournin et al., 1990). Polikromatik (PCE) ve normokromatik eritrositler (NCE), mikronükleus yüzdesini belirlemek için kullanılmaktadır (Vijayalaxmi & Venu, 1999). Eritropoez esnasında nükleusta meydana gelen hasarı belirlemek amacıyla boyanma özelliklerinden faydalanılmaktadır (Rabbani et al., 2005). PCE’ler, May Grünwald-Giemsa ile mavi renge dönüşürken NCE’ler kırmızı renge boyanmaktadır. (Heddle et al., 1983)’ne göre;

toplam eritrositde MN’un %6’dan fazla olması kullanılan kimyasal maddenin genotoksik olduğuna (Heddle et al., 1983; Rabbani et al., 2005), PCE/NCE oranında meydana gelen azalma ise kimyasal maddenin sitotoksitesine işaret etmektedir (Schmid, 1975; Celik et al., 2003). Yapılan bu çalışmada tarçın ekstraktı uygulamasının diyabetik ratlarda MN sıklığı üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Pek çok ülkede bitkiler alternatif tıpta kullanılmaktadır. Ülkemizde bitkiler ile yapılan çalışmalar genellikle antimikrobial etkiler üzerinedir. Oysa bitki özütlerinin kansorejenik, teratojenik ve mutajenik etkileri de bildirilmiştir. Bitki özütleri oldukça etkili hücre bölünme düzenleyicisi olabilirler. Çalışılan bitki toplumunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Tarçının diyabet üzerine etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur ancak MN oluşumu üzerine herhangi bir etkisi olup olmadığı hakkında yeterli literatür bilgisine rastlanmamıştır.

## Materyal ve Metot

### 1.Hayvan Materyali

Çalışmada kullanılan deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi’nden temin edildi. Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 25.05.2015/054 sayılı izni ile çalışma onayı alındı. Çalışmada 48 adet ( 24 erkek + 24 dişi) *Sprague Dawley* cinsi rat kullanıldı. Hayvanlar  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta, %60-65 düzeyinde nemin ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsünün sağlandığı koşullarda, her gün altları temizlenen kafeslerde ve her kafeste 6 hayvan olacak şekilde *ad-libitum* olarak beslendi.

**Tablo 1.** Gruplara göre deneysel uygulamalar

Deney Grupları	Gruptaki Denek Sayısı	Deneysel Uygulamalar
<b>Grup I (Kontrol)</b>	10	Herhangi bir uygulama yapılmadı
<b>Grup II (Tarçın ekstraktı)</b>	10	Tarçın ekstraktı 14 gün boyunca 200 mg/kg olarak oral gavaj yolu ile uygulandı.
<b>Grup III (Diyabet)</b>	10	Streptozotosin (STZ) (50 ml sitrik asit + 40 ml disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisinde çözdürüldü ve pH: 4.5 olarak ayarlandı) 50 mg/kg i.p. olarak uygulandı.
<b>Grup IV (Diyabet + tarçın ekstraktı)</b>	10	Streptozotosin (STZ) (50 ml sitrik asit + 40 ml disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisinde çözdürüldü ve pH: 4.5 olarak ayarlandı) 50 mg/kg i.p. olarak uygulandı ve oral gavaj yolu ile 14 gün boyunca 200 mg/kg tarçın ekstraktı verildi.

## 2. Kan Şekeri Düzeylerinin Belirlenmesi

Ratlara herhangi bir madde uygulanmadan önce 8 saat açlık sonrası kuyruk veninden kan alınarak glikometre ile ölçülüp kan glikoz seviyeleri belirlendi. Aynı gün STZ uygulaması yapıldı. Üç gün sonra tekrar 8 saat süresince aç bırakılan ratlardan kan alınıp açlık kan şekerleri ölçüldü. Açlık kan şekeri 250 mg/dL düzeyinde olan ratlar diabetli olarak kabul edildi. Aynı şekilde çalışmanın bitiminde de 8 saat süresince aç bırakılan ratların kuyruk veninden alınan kan ile açlık kan şekerleri ölçüldü ve kan glikoz düzeyleri belirlendi.

## 3. Tarçın Ekstraktının Hazırlanışı

Toz haldeki tarçından 10 gr alınıp 100 ml etanolde çözdürüldü. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 24 saat boyunca çalkalayıcıda çalkalanmaya bırakıldı. Süre dolduktan sonra karışım filtre kağıdı yardımı ile süzülür. Çözücü içeriği Rotary evaporatorde düşük basınç ve düşük sıcaklıkta uzaklaştırıldı. Ekstraktlar deney yapılıncaya kadar -20 °C de muhafaza edildi (Sharafeldin ve Rizvi, 2015).

Oral gavaj uygulanmasının tamamlanmasının ardından ratların tamamı bir gece önceden aç bırakılarak kan şekeri ölçümleri yapıldı. Genel anestezi altında servikal dislokasyon yoluyla femur kemikleri çıkarıldı. Çalışmada mikronükleus testi için kemik iliği kullanıldı. Femur kemiği iki ucundan kesilerek, kemik iliği enjektör yardımı ile içerisinde 3 ml dana serumu bulunan santrifüj tüpüne aktarıldı. İçerisinde kemik iliği numunesi

bulunan tüpler 2000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatantları atıldı. Tüpte kalan kısmın üzerine bir damla dana serumu konularak süspanse edildi. Bundan alınan bir damla örnek temiz lamlar üzerine yayıldı. Yayma işlemi tamamlanan lamlar havada kurutuldu ve metil alkolde 10 dakika fikse edildi. Kemik iliği preparatları ilk kez Schmid (1975) tarafından geliştirilip, laboratuvar ve çalışma koşullarımıza göre uyarlanan bir yöntem ile hazırlanmıştır. Fikse edilmiş preparatlar ilk önce % 0,25'lik May Grünwald boyası ile 5 dakika boyanarak saf su ile yıkandı. Daha sonra % 0,125'lik May Grünwald boyası ile 5 dakika tekrar boyanarak saf suda yıkandı. En son % 20'lik Giemsa boyası ile 30 dakika boyanıp, yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Preparatlar Olympus CX21 marka ışık mikroskopunda 1000 büyütmede, her preparattan rastgele 1000 adet PCE sayıldı. Bunların içerisinde MNPCE'lerin sayıları belirlenerek, yüzdeleri çıkartıldı.

## Sonuç

İstatistiksel analizler neticesinde; kontrol ve tarçın ekstraktı verilen gruplara göre, diyabete bağlı olarak MNPCE, PCE ve NCE sayılarının artış gösterdiği, diyabetle birlikte tarçın ekstraktı verilen gruplarda sadece diyabet grubuna göre bu sayıların düşüş gösterdiği tespit edildi (P<0.001) (Tablo 1, Grafik 1-2). Aynı zamanda PCE/NCE oranları bakımından değerlendirme yapıldığında da en düşük oranın diyabet grubunda olduğu, diyabetik hayvanlara tarçın ekstraktı uygulanmasına bağlı olarak da bu oranın artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 2).

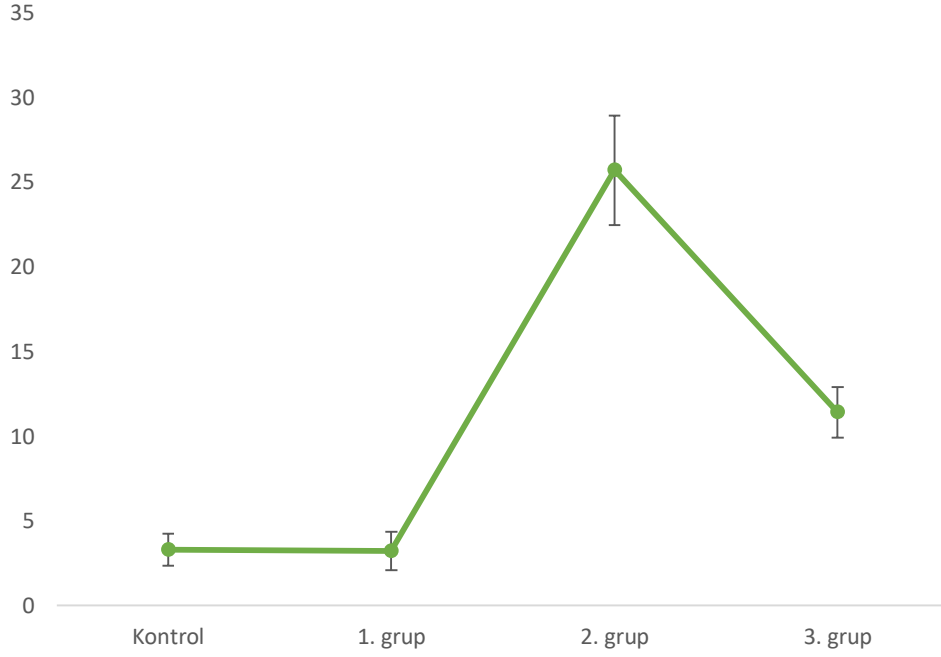
**Tablo 2.** kontrol ve deney grubuna ait MNPCE, PCE ve NCE sayıları ve PCE/NCE oranı.

Kontrol	1. Grup	2. Grup	3. Grup	P Değeri	Kontrol
MNPCE	3.3 ± 0.95 <sup>c</sup>	3.2 ± 1.14 <sup>c</sup>	25.7 ± 3.23 <sup>a</sup>	11.4 ± 1.51 <sup>b</sup>	0.001
PCE	645.5 ± 26.82 <sup>a</sup>	648.6 ± 25.73 <sup>a</sup>	436.9 ± 42.38 <sup>c</sup>	525.5 ± 28.19 <sup>b</sup>	0.001
NCE	354.5 ± 26.82 <sup>c</sup>	351.4 ± 2573 <sup>c</sup>	563.1 ± 42.38 <sup>a</sup>	474.5 ± 28.19 <sup>b</sup>	0.001
PCE/NCE	1.83 ± 0.20 <sup>a</sup>	1.86 ± 0.20 <sup>a</sup>	0.78 ± 0.13 <sup>c</sup>	1.11 ± 0.13 <sup>b</sup>	0.001

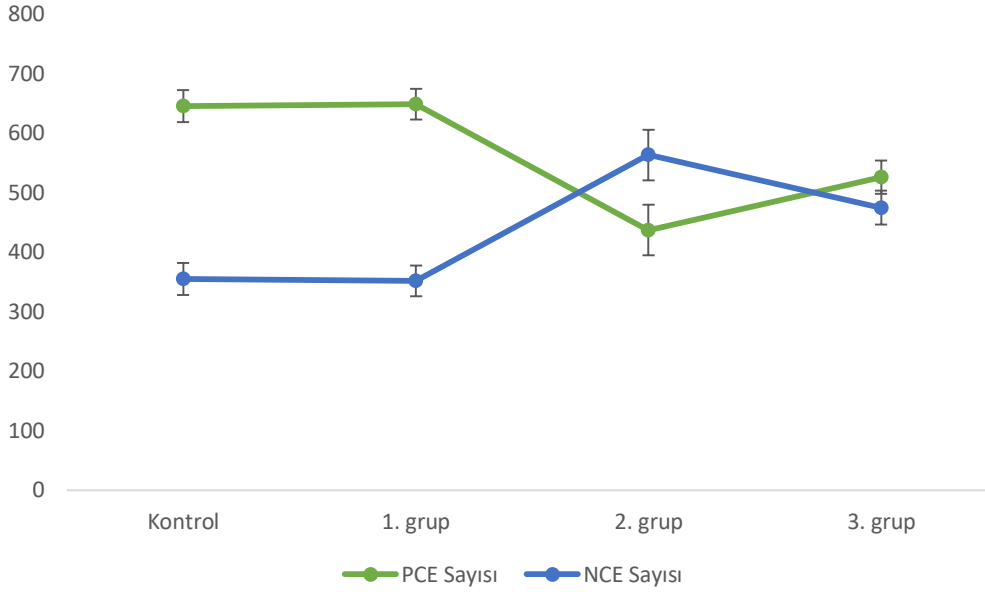
\* Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.

**Tablo 3.** Kontrol ve deney grupları arasında MN ve PCE/NCE testlerinden elde edilen verilerin karşılaştırılması (PCE: Polikromatik Eritrosit, MNPCE: Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit, NCE: Normokromatik Eritrosit)

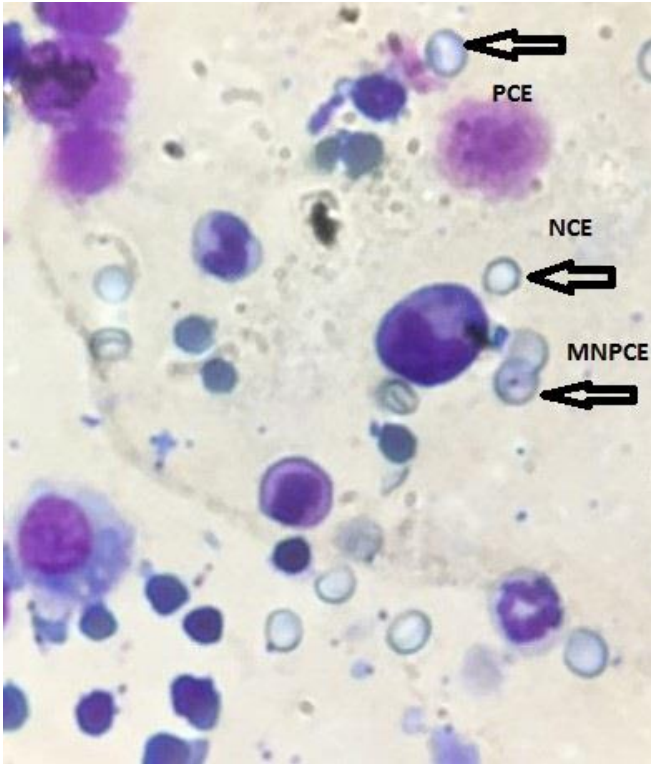
Gruplar	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı(%)	Grup Ortalaması	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
Grup I (Kontrol)	10 000	33	0.33	3.3	10 000	6455	3545	1.82
Grup II (Tarçın ekstraktı)	10 000	32	0.32	3.2	10 000	6486	3514	1.85
Grup III (Diyabet)	10 000	257	2.57	25.7	10 000	4369	5631	0.77
Grup IV (Diyabet + tarçın ekstraktı)	10 000	114	1.14	11.4	10 000	5255	4745	1.11



**Şekil 1.** Kontrol ve deney gruplarına ait MNPCE Sayıları.



Şekil 2. Kontrol ve deney gruplarına ait PCE ve NCE Sayıları.



Şekil 3. Deney grubu ratların kemik iliğinde MNPCE ve normal PCE ve NCE'ler.

### Tartışma ve Sonuç

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de bitkiler eski tarihlerden bu yana halk hekimliğinde hastalıkların tedavi edilmesinde büyük öneme sahiptir. Bitkilerin bu şekilde uzun yıllardan beri

kullanılmasıyla yeterli endüstriyel olanakları olmayan ülkelere ucuz ve kolay tedavi olanağı sağlanmaktadır. Sentetik ilaçların üretimi maliyetlidir ve etki mekanizmaları da bitkisel kökenli ilaçlara oranla kısıtlıdır. Aynı zamanda hastalıkların tedavisi sırasında kullanılan sentetik ilaçların birçok yan etkisi de bulunmaktadır (Baytop, 1999).

Yapılan bir çalışmada flavanoidlerce zengin *Maydis stigma* (FMS) ekstraktının farelerdeki subkronik toksisitesi ve genotoksisitesi değerlendirilip, FMS'nin genotoksik olup olmadığı mikronükleus ve sperm malformasyonu ile belirlenmiştir. Mikronükleus ve sperm malformasyon testinin sonuçlarına göre, somatik hücrelerde ve germ hücrelerinde en üst dozda dahi herhangi bir genotoksisitenin olmadığı saptanmıştır (Peng et al., 2016).

Yapılan bir diğer çalışmada ise *Dichrostachys glomerata* ekstraktının ratlar üzerinde genotoksik olup olmadığı in vitro ve in vivo kromozomal anomali testleri, in vivo MN testi ve AMES testi ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *D. glomerata* ekstraktı en yüksek dozda dahi herhangi bir genotoksik etkiye sebep olmadığı tespit edilmiştir (Kothari et al., 2014).



Sıçanlarda doksorubisin (DXR) ile indüklenen DNA hasarına karşı *Solanum sessiliflorum* Dunal ekstraktının genotoksik ve antijenotoksik potansiyelini mikronükleus testi ve comet analizi kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca hayvanların kalp ve karaciğer dokularında oksidatif stres parametreleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, *S. sessiliflorum* ekstraktının sıçanlarda sitotoksik veya genotoksik olmadığı, insan sağlığı açısından güvenilir şekilde tüketilebilecek bir meyve olduğu saptanmıştır (Hernandes et al., 2014).

Gelişmiş ülkelerde reçeteli ilaçların yaklaşık olarak %25'i bitkisel kökenli etken maddeler (atropin, kolşisin, digoksin, taksol, vinkristin, morfin, vimbilastin, rezerpin, kinin, aspirin, pilokarpin, ergometrin vb.) içerir (Kahraman et al., 2002; Farnsworth et al., 1985).

Fenolik bileşikler bitkilerin metabolizmasında bulunup ancak matabolizmadaki rolleri tam olarak bilinmeyen sekonder metabolitlerdir (Saldamlı 2007). Fenolik bileşikler temel olarak fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Flavonoidler, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan, lezzetlerinin ve bazı tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlayan polifenolik antioksidanlardır (Cemeroğlu 2004, Anonim 2006). Bitkilerde antioksidanlardan biri olan flavonoidlerin sayısı yaklaşık olarak 4000'in üzerindedir (Kahraman et al., 2002).

Oligonol, meyve özünden ve yeşil çay özünden elde edilen fenolik bir üründür. Aynı zamanda kateşin monomerleri ve proantosiyanidin oligomerleri içerir. Yapılan bu çalışmada ratlar üzerinde oligonol; akut, subkronik araştırmalar ve genotoksisite analizleri ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda; oligonol ile *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 ve *Escherichia coli* WP2uvrA suşlarını kullanan ters mutasyon testlerinde gen mutasyonlarını indüklemeye potansiyeli göstermediği, kültürlenmiş çin hamsteri akciğer hücrelerinde kromozomal aberasyona neden olmadığı, ancak artmış poliploidi gösterdiği saptanmıştır. Aynı zamanda rat kemik iliği MN testinde, oligonol'ün MN oluşumuna ve kromozomal aberasyona neden olmadığı saptanmıştır (Fujii et al., 2008).

Yapılan bir diğer çalışmada antioksidan ve antibakteriyel özelliği ile bilinen, bitkilerin yapısında da bulunan karvakrolün ratlarda in vivo genotoksik etkisini MN ve comet test

yöntemleriyle değerlendirilmiştir. MN-comet testi sonucunda, araştırılan dokulardan herhangi birinde karvakrolün in vivo genotoksisite veya oksidatif DNA hasarına neden olmadığı saptanmıştır (Llana Ruiz Cabello et al., 2016).

Saponinler bazı bitkilerde doğal olarak bulunan stereoid yada triterpenoid yapıda kimyasal bir bileşiktir (Kocaoğlu Güçlü ve Uyanık, 2004).

Liu ve arkadaşları; *Nauclea latifolia*, *Nauclea diderrichii*, *Nauclea pobeguini* ve *Nauclea vandergetchii* ekstraktlarının aynı zamanda saponinlerin toksisite ve genotoksisitesini araştırmışlardır. Bitki ekstraktları ve saponinler; MN ve comet test sistemiyle değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda *Nauclea*'nın hidrometanolik ekstraktlarında bulunan saponinler, memeli hücrelerinde sinerjik etki oluşturarak in vitro DNA hasarına ve kromozom mutasyonlarına yol açmıştır. Bu genotoksik aktiviteyi *Nauclea* ekstraktında bulunan saponinlerin glutatyon-S-transferaz aktivitesini inhibe ederek oksidatif strese karşı hücre savunmasını azaltma kapasitesinden kaynaklanmış olabileceğini tespit etmişlerdir (Liu et al., 2011).

Diyabet, ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan mikro ve makrovasküler komplikasyonlara sahip ciddi bir metabolik bozukluktur (Nyenwe et al. 2011). Diyabetik komplikasyonların gelişmesinde oksidatif stres önemli bir rol üstlenir (Kowluru et al. 2001). Oksidatif stres, glikometabolik yol ile tip 1 ve tip 2 diyabeti etkilemektedir (Ceriello et al. 1991, Aydın et al. 2001). Hiperglisemi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve yıkımı arasındaki dengeyi bozarak ROS üretiminde aşırı artışa sebep olur. Bu artış nedeniyle hücre organellerinde ve membranlarında biyomoleküler düzeyde hasar oluşabilmektedir (Nakhjavani et al. 2010). Antioksidanlar olarak adlandırılan oksidan süpürücüler ile oksidatif stresin oluşumu engellenebilmektedir. Antioksidanlarla ROS'lar tarafından hücrelerde hasara neden olan oluşumlar engellenerek hücre, doku ve organlardaki savunma sistemi desteklenmektedir (Gutteridge, 1995).

El-sayyed ve arkadaşları, *Morus alba* ekstraktının diyabet ve/veya aliminyum zehirlenmesi ile retinada hasar oluşturulmuş sıçan yavrularında iyileştirici etkisinin comet assay testi ve DNA fragmentasyonu ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *M. alba* ekstraktının deneysel olarak diyabet ve Al ile indüklenmiş retina hasarına karşı

iyileştirici etkiye sahip olduğunu saptamışlardır (El-Sayyed et al., 2015).

Pyranocoumarinler, antioksidan, sitotoksik, antiviral, antibakteriyel ve hipoglisemik etkiler gibi farmakolojik profile sahip önemli bir bileşiklerdir. Bu moleküllerin Diabetes Mellitus (DM) tedavisinde kullanılan tıbbi bitkilerde sekonder metabolitler olarak yaygın bir varlığı vardır. Yapılan bir çalışmada, STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda antidiyabetik aktiviteyi 3'4'-Di-O-acetyl-cis-khellactone (DOAcK)'un antioksidan etkisini değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda DOAcK'nin önemli bir antidiyabetik etki gösterdiği aynı zamanda yapılan MN testiyle de herhangi bir toksik etkiye sahip olmadığı saptanmıştır (Domínguez Mendoza et al., 2016).

Baeshen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *Rhazya stricta* ekstraktının farklı dozlarda diyabetli ratlar üzerine adiponektin protein, insülin direnci ve adiponektin geninin ekson 3 üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonunda *Rhazya stricta* ile tedavi sonrasında adiponektin düzeyleri ve insülin direnci arasında ters korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Baeshen et al., 2010).

Zencefil, sayısız biyoaktif bileşenleri bulunan ve diyabet de dahil olmak üzere hastalıkların tedavisinde, kontrolünde ve / veya tedavisinde kullanılan önemli bir şifalı bitkidir. Bu çalışmada zencefilin doz-yanıt etkisini görmek ve zencefilin STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanlardaki oksidatif stres ve genotoksisite üzerindeki koruyucu etkilerini değerlendirmek için yapılmıştır. Çalışma sonucunda antioksidan statüsünde olan zencefilin, antioksidan enzimleri ve glutasyonu modüle ederek lipit ve protein oksidasyonunu düzenlediği ve genotoksisiteyi engellediği STZ'ye bağlı şeker hastalığına karşı koruyucu bir etki oluşturduğu saptanmıştır (Kota et al., 2012).

Bharti ve arkadaşları; poloksamer-407 ile indüklenen tip 2 diyabetli sıçanlarda *Cymbopogon citratus* yaprak uçucu yağının anti diyabetik etkilerini değerlendirmiştir. Diyabetik sıçanlar ile *C. citratus* uçucu yağı ile tedavi edilen diyabetik sıçanlar kıyaslandığında oksidatif strese sebep olan belirteçlerde önemli derecede azalma meydana geldiği saptanmıştır. Sonuç olarak *C. citratus* uçucu yağı diyabette çalışan çoklu hedeflere karşı çeşitli fito-bileşenlerin etkileşimiyle potansiyel bir

anti-diyabetik madde olarak işlev gördüğü tespit edilmiştir (Bharti et al., 2013).

Çelikler ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, STZ ile indüklenmiş diyabetik ratlar üzerinde *Ulva rigida* ethanol ekstraktının MN frekansı üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma gruplarında iki farklı uygulama periyodu boyunca günlük sıvı ve gıda tüketimleri, haftalık vücut ağırlığı, kan glikozu konsantrasyonu ve serum insülin seviyeleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda; diyabetik sıçanlarda normal sıçanlara kıyasla kan glikoz konsantrasyonu ve MN frekansının önemli oranda arttığı saptanmıştır. Aynı zamanda *U. Rigida*'nın, ratlarda diyabet ile oluşan genotoksisite üzerinde güçlü antihyperglisemik ve antigenotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir (Celikler et al., 2009).

Sonuç olarak bitkiler, hem geleneksel halk hekimliğinde birçok hastalığın tedavisinde hem de endüstride ilaç yapımının başlıca hammaddelerindedir. Bu çalışma günümüzde herkes tarafından kullanılan bir baharat olan tarçının sitogenetik açıdan incelenmesine olanak sağlamıştır. Tarçının diyabet üzerine etkileri bilinmektedir ancak hücre bölünme mekanizması (mikronükleus) üzerine etkilerine dair veriler kısıtlıdır. Çalışmadan elde edilen veriler uzantısında tarçın ekstraktının STZ maruziyetiyle oluşan MN sayısını azalttığı ve *Rattus norvegicus*'un polikromatik eritrositlerinde STZ özelinde toksisitenin azaltılması yönünde etkili olduğu ortaya konmuştur.

## KAYNAKLAR

**ADA (American Diabetes Association) 2011.** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 34; 62-69.

**Anderson RA, Broadhurst CL, Polansky MM, Schmidt WF, Khan A, Flanagan VP, Andican ZG 2000.** Oksidatif DNA hasarının göstergesi olan 8-Hidroksi Deoksiguanozin'in analiz yöntemi ve STZ diyabetik sıçanlara uygulanması. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

**Anonim 2006.** Bitkilerde Doğal Renk Maddeleri ve Fenolik Bileşikler. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Ankara.

**Aydin A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, İşimer A 2001.** Oxidative stress and nitric oxide



related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clinical Biochemistry*, 34: 65–70.

**Baeshen NA, Lari SA, Al Doghaither HAR, Ramadan HAI 2010.** Effect of *Rhazya stricta* extract on rat adiponectin gene and insulin resistance, *Journal of American Science*, 6(12).

**Baytop T 1999.** Therapy with Medicinal Plants in Turkey Past and Present”, 2nd edition, ISBN: 975-420-021-1 Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.

**Bharti SK, Krishnan S, Kumar A, Rajak KK, Murari K, Bharti BK, Gupta AK 2013.** Antidiabetic activity and molecular docking of fructooligosaccharides produced by *Aureobasidium pullulans* in poloxamer-407-induced T2DM rats. *Food Chemistry*, 136: 813–821.

**Celik A, Mazmanci B, Camlica Y, Aşkin A, Cömelekoglu U 2003.** Cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on Wistar rat bone marrow. *Mutation Research*, 539: 91–97.

**Celikler S, Tas S, Vatan O, Ziyank Ayvalik S, Yıldız G, Bilaloglu R 2009.** Anti-hyperglycemic and antigenotoxic potential of *Ulva rigida* ethanolic extract in the experimental diabetes mellitus. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 47: 1837–1840.

**Cemeroğlu B 2004.** Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları* No: 35, Ankara, 77-88.

**Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Dello Russo P, Lefebvre PJ 1991.** Metabolic control may influence the increased superoxide generation in diabetic serum. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 8: 540–542.

**Choy WN 2001.** Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment. CRC Press.

**Desai KGH, Park HJ 2005.** Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 22: 179–192.

**Domínguez Mendoza EA, Cornejo Garrido J, Burgueño Tapia E, Ordaz Pichardo C 2016.** Antidiabetic effect, antioxidant activity, and toxicity of 3',4'-Di-O-acetyl-cis-khellactone in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 26: 4086–4091.

**El-Sayyed H, Badawy G, Elnabi SH, El-Elaimy I, Shehari EA 2015.** Ameliorative effect of *Morus alba* leaves extract against developmental retinopathy in pups of diabetic and aluminum intoxicated pregnant albino rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5: 300–309.

**Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z 1985.** Medicinal plants in therapy. *The Bulletin of WHO*, 63(6): 965-981.

**Fujii H, Nishioka H, Wakame K, Magnuson BA, Roberts A 2008.** Acute, subchronic and genotoxicity studies conducted with Oligonol, an oligomerized polyphenol formulated from lychee and green tea extracts. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 46: 3553–3562.

**Gutteridge JM 1995.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 41: 1819–1828.

**Heddle JA, Hite M, Kirkhart B, Mavournin K, MacGregor JT, Newell GW, Salamone MF 1983.** The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 123: 61–118.

**Hernandes LC, Aissa AF, Almeida MR de, Darin JDC, Rodrigues E, Batista BL, Barbosa Júnior F, Mercadante AZ, Bianchi MLP, Antunes LMG 2014.** In vivo assessment of the cytotoxic, genotoxic and antigenotoxic potential of maná-cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) fruit. *Food Research International*, 62: 121–127.

**Heywood VH 2011.** Ethnopharmacology, food production, nutrition and biodiversity conservation: towards a sustainable future for indigenous peoples. *Journal of Ethnopharmacology*, 137: 1–15.

**Jafari SM, Assadpoor E, He Y, Bhandari B 2008.** Encapsulation Efficiency of Food Flavours

and Oils during Spray Drying. *Drying Technology* 26: 816–835.

**Jena GB, Kaul CL, Ramarao P 2002.** Genotoxicity Testing, a Regulatory Requirement For drug Discovery and Development Impact of ICH Guidelines” *Indian J of Pharmacol*, 34: 86-99.

**Kahraman A, Serteser M, Koken T 2002.** Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3: 01-08.

**Keskin H 1982.** Besin Kimyası. Cilt: 2, Baskı: 4, Fatih Yayınevi ve Matbaası, İstanbul.

**Kramer PJ 1998.** Genetic Toxicology, *J Pharm Pharmacol*, 50: 395-405.

**Kocaoğlu Güçlü B, Uyanık F 2004.** Saponinler ve Biyolojik Önemi, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(2): 125-131.

**Kota N, Panpatil VV, Kaleb R, Varanasi B, Polasa K 2012.** Dose-dependent effect in the inhibition of oxidative stress and anticlastogenic potential of ginger in STZ induced diabetic rats. *Food Chemistry*, 135: 2954–2959.

**Kothari SC, Shivarudraiah P, Venkataramaiah SB, Gavara S, Arumugam SN, Soni MG 2014.** Toxicologic evaluation of *Dichrostachys glomerata* extract: subchronic study in rats and genotoxicity tests. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 69: 120–131.

**Kowluru RA, Tang J, Kern TS 2001.** Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experimental galactosemia. VII. Effect of long-term administration of antioxidants on the development of retinopathy. *Diabetes*, 50: 1938–1942.

**Lebovitz HE 2004.** Diabetes Mellitus ve ilgili sorunların tedavisi. 4. Baskı (ed. D Salman).

**Leung AY, Foster S 1996:** Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics. Second edition, Newyork: Wiley,168-170.

**Li H, Luo S, Su J, Ke H, Wang W, Yang B 2015.** Optimization of Extraction Conditions for Flavonoid Composition and Antioxidant Activity

of Radix Scutellariae. *Analytical Letters*, 48: 1234–1244.

**Liu W, Di Giorgio C, Lamidi M, Elias R, Ollivier E, De Méo MP 2011.** Genotoxic and clastogenic activity of saponins extracted from Nauclea bark as assessed by the micronucleus and the comet assays in Chinese Hamster Ovary cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 137: 176–183.

**Llana Ruiz Cabello M, Maisanaba S, Puerto M, Prieto AI, Pichardo S, Moyano R, González Pérez JA, Cameán AM 2016.** Genotoxicity evaluation of carvacrol in rats using a combined micronucleus and comet assay. *Food and Chemical Toxicology*, 98: 240–250.

**Lohani M, Dopp E, Weiss DG, Schiffmann D, Rahman Q 2000.** Kerosene soot genotoxicity: enhanced effect upon co-exposure with chrysotile asbestos in Syrian hamster embryo fibroblasts. *Toxicology Letters*, 114: 111–116.

**Lou SN, Hsu YS, Ho CT 2014.** Flavonoid compositions and antioxidant activity of calamondin extracts prepared using different solvents. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22: 290–295.

**Lunec J, Herbert K, Blount S, Griffiths HR, Emery P 1994.** 8-Hydroxydeoxyguanosine. A marker of oxidative DNA damage in systemic lupus erythematosus. *FEBS letters*, 348: 131–138.

**Mavournin KH, Blakey DH, Cimino MC, Salamone MF, Heddle JA 1990.** The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 239: 29–80.

**Nain P, Saini V, Sharma S, Nain J 2012.** Antidiabetic and antioxidant potential of *Embllica officinalis* Gaertn. leaves extract in streptozotocin-induced type-2 diabetes mellitus (T2DM) rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 142: 65–71.

**Nakhjavani M, Esteghamati A, Nowroozi S, Asgarani F, Rashidi A, Khalilzadeh O 2010.** Type 2 diabetes mellitus duration: an independent predictor of serum malondialdehyde levels. *Singapore Medical Journal*, 51: 582–585.

**Nyenwe EA, Jerkins TW, Umpierrez GE, Kitabchi AE 2011.** Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 60: 1–23.

**Peng KZ, Zhang SY, Zhou HL 2016.** Toxicological evaluation of the flavonoid-rich extract from *Maydis stigma*: Subchronic toxicity and genotoxicity studies in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 192: 161–169.

**Rabbani SI, Devi K, Zahra N 2005.** Anti-Clastogenic Effects of Citral. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 4: 28–31.

**Saldamlı İ 2007.** Gıda Kimyası. *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*. Ankara, 463-492.

**Schmid W 1975.** The micronucleus test. *Mutation Research*, 31: 9–15.

**Sharafeldin K, Rizvi MR 2015.** Effect of traditional plant medicines (*Cinnamomum zeylanicum* and *Syzygium cumini*) on oxidative stress and insulin resistance in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 72: 126–134.

**Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ 2010.** Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87: 4–14.

**Srinivasan K 2005.** Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56: 399–414.

**Stopper H, Müller SO 1997.** Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: A minireview. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA*, 11: 661–667.

**Viana LV, Gross JL, Azevedo MJ 2014.** Dietary intervention in patients with gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials on maternal and newborn outcomes. *Diabetes Care*, 37: 3345–3355.

**Vijayalaxmi KK, Venu R 1999.** In vivo anticlastogenic effects of L-ascorbic acid in mice. *Mutation Research*, 438: 47–51.

**Walker J, Chen TA, Sterner R, Berger M, Winston F, Allfrey VG 1990.** Affinity chromatography of mammalian and yeast nucleosomes. Two modes of binding of transcriptionally active mammalian nucleosomes to organomercurial-agarose columns, and contrasting behavior of the active nucleosomes of yeast. *The Journal of Biological Chemistry*, 265: 5736–5746.

**Wang SY, Chen H, Camp MJ, Ehlenfeldt MK 2012.** Flavonoid constituents and their contribution to antioxidant activity in cultivars and hybrids of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). *Food Chemistry*, 132: 855–864.

**Zijno A, Marcon F, Leopardi P, Salvatore G, Carere A, Crebelli R 1994.** An assessment of the in vivo clastogenicity of erythrosine. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 32: 159–163.