



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA *FERULA*
RİGİDULA BİTKİ EKSTRAKTININ HİPERGLİSEMİ,
HİPERLİPİDEMİ VE PANKREAS DOKUSU OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Hemşire Ayhan BEYAZPOLAT
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Uğur ÖZDEK

2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Yeter DEĞER

VAN-2021

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA *FERULA*
RİGİDULA BİTKİ EKSTRAKTININ HİPERGLİSEMİ,
HİPERLİPİDEMİ VE PANKREAS DOKUSU OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Hemşire Ayhan BEYAZPOLAT
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Uğur ÖZDEK

2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Yeter DEĞER

VAN-2021

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2020-8827 no'lu proje ile desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Ayhan BEYAZPOLAT tarafından hazırlanan “Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda *Ferula Rigidula* Bitki Ekstraktının Hiperglisemi, Hiperlipidemi ve Pankreas Dokusu Oksidatif Stres Üzerine Etkileri” isimli tez çalışması aşağıda belirtilen jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 01/03/2021

Prof. Dr. Nihat MERT
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN
Bitlis Eren Üniversitesi
Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Uğur ÖZDEK
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Semiha DEDE
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Deneyisel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Ferula Rigidula Bitki Ekstraktının Hiperглиsemi, Hiperlipidemi ve Pankreas Dokusu Oksidatif Stres Üzerine Etkileri*” başlıklı tezimin; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ayhan BEYAZPOLAT

Tarih:

İmza:

TEŞEKKÜR

Çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde yol gösteren, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Uğur ÖZDEK 'e ve Prof. Dr. Yeter DEĞER'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Yüksek Lisans eğitimim sırasındaki değerli katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nihat MERT'e, diğer öğretim üyesi hocalarıma ve bitkinin analizi noktasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Süleyman Mesut PINAR'a, histopatolojik çalışmalarda beni destekleyen Dr. Öğr. Üyesi Fikret ALTINDAĞ'a teşekkür ederim. Ayrıca bu araştırmanın gerçekleşmesi için maddi destek sağlayan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, her zaman yanımda olan eşime ve beni bu günlere getiren aileme teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

ÖZET

Beyazpolat A, Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda *Ferula Rigidula* Bitki Ekstraktının Hiperglisemi, Hiperlipidemi ve Pankreas Dokusu Oksidatif Sters Üzerine Etkiler, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2021. Bu çalışmada *Ferula rigidula*'nın total fenolik ve flavonoid içeriği, antioksidan aktivitesi ve letal doz belirlemesi yapıldı. Diyabetik ratlarda, *Ferula rigidula* 'nın serum lipit profili, pankreas dokusunun lipit peroksidasyonu, antioksidanlar ve histopatolojisi üzerine etkisi araştırıldı. Bitkinin fenolik ve flavonoid madde miktarı sırasıyla 22.37 ± 0.60 $\mu\text{gGA/mg}$ ve 16.87 ± 2.60 $\mu\text{gKE/mg}$ olarak belirlendi. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, standart olarak kullanılan BHT ve α -TOC'dan yüksek, BHA'ya yakın olduğu tespit edildi. CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite, α -TOC'dan yüksek, BHT ve BHA'dan düşük olduğu belirlendi. *Ferula rigidula* ekstraktının LD₅₀ değerinin 2000 mg/kg'dan yüksek olduğu bulundu. Diyabet çalışması için 49 adet erkek Wistar albino rat, kontrol, diyabet, diyabet+*Ferula rigidula* (250 ve 500 mg/kg), diyabet+glibenklamid (5 mg/kg), *Ferula rigidula* (250 ve 500 mg/kg) grubu olmak üzere yedi gruba (n=7) ayrıldı. Diyabet gruplarına STZ 45 mg/kg tek doz intraperitoneal ve *Ferula rigidula* ekstraktı ile glibenklamid 28 gün gastrik gavaj ile uygulandı. Kontrol grubuna göre, diyabet grubunda, serum açlık kan şekeri, kolesterol, trigliserid, HDL ve LDL seviyelerinin arttığı, insülin seviyesinin azaldığı tespit edildi ($p < 0.05$). Diyabet grubuna göre, açlık kan şekeri seviyesinin diyabet+*Ferula rigidula* 500 mg/kg grubunda, kolesterol ve HDL seviyelerinin diyabet+*Ferula rigidula* 250-500 mg/kg ve diyabet+glibenklamid gruplarında azaldığı, insülin seviyesinin ise diyabet+*Ferula rigidula* 500 mg/kg ve diyabet+glibenklamid gruplarında arttığı saptandı ($p < 0.05$). Kontrol grubuna göre, diyabet grubunda, pankreas dokusu MDA seviyesinin arttığı, GSH seviyesinin ve CAT, GSH-Px, SOD enzim aktivitelerinin azaldığı belirlendi ($p < 0.05$). Diyabet grubuna göre, diyabet+*Ferula rigidula* 250-500 mg/kg (500 mg/kg için GSH-Px hariç) ve diyabet+glibenklamid gruplarında MDA seviyesinin azaldığı, GSH seviyesi ve CAT, GSH-Px, SOD enzim aktivitelerinin arttığı belirlendi ($p < 0.05$). Histopatolojik analizde, diyabet grubunda pankreas Langerhans adacıklarında atrofik görünüm ve nekrotik hücreler olduğu belirlendi. Diyabet+*Ferula rigidula* 500 mg/kg grubunda diyabetin pankreasın Langerhans adacıkları üzerindeki histopatolojik etkiyi azaltmada etkili olduğu görüldü. Bu bulgular ışığında, *Ferula rigidula* ekstraktının klinik olarak kullanım olanaklarının araştırılmasının yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, Diyabetes mellitus, *Ferula rigidula*, Oksidatif stres, Rat

ABSTRACT

Beyazpolat A, Effects of *Ferula Rigidula* Plant Extract on Hyperglycemia, Hyperlipidemia and Pancreatic Tissue Oxidative Stress in Rats with Experimental Diabetes, Van Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Master's Thesis, Van, 2021. In this study, total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and lethal dose of *Ferula rigidula* were determined. The effects of *Ferula rigidula* on serum lipid profile, lipid peroxidation, antioxidants and histopathology of pancreatic tissue in diabetic rats were investigated. The phenolic and flavonoid content of the plant was determined as 22.37 ± 0.60 $\mu\text{gGA/mg}$ and 16.87 ± 2.60 $\mu\text{gKE/mg}$, respectively. It was determined that DPPH free radical scavenging activity was higher than standard BHT and α -TOC and close to BHA. According to the CUPRAC method, antioxidant activity was determined to be higher than α -TOC and lower than BHT and BHA. The LD₅₀ value of *Ferula rigidula* extract was found to be higher than 2000 mg/kg. In this study, 49 male Wistar albino rats were divided into seven groups (n=7). These groups are control, diabetes, diabetes+*Ferula rigidula* (250 and 500 mg/kg), diabetes+ glibenclamide (5 mg/kg), *Ferula rigidula* (250 and 500 mg/kg) groups. STZ 45 mg/kg was administered intraperitoneally to the diabetic groups. *Ferula rigidula* extract and glibenclamide were administered to diabetic groups by gastric gavage for 28 days. It was found that serum fasting blood glucose, cholesterol, triglyceride, HDL and LDL levels increased and insulin levels decreased in the diabetic group compared to the control group ($p < 0.05$). Compared to the diabetic group, it was determined that fasting blood glucose levels decreased in the diabetes+*Ferula rigidula* 500 mg/kg group, and cholesterol and HDL levels in the diabetes+*Ferula rigidula* 250-500 mg/kg and diabetes+glibenclamide groups. Insulin levels were found to be increased in diabetes+*Ferula rigidula* 500 mg/kg and diabetes+glibenclamide groups ($p < 0.05$). It was determined that pancreatic tissue MDA level increased, GSH level and CAT, GSH-Px, SOD enzyme activities decreased in the diabetic group compared to the control group ($p < 0.05$). Compared with the diabetes group, it was determined that MDA level decreased, GSH level and CAT, GSH-Px, SOD enzyme activities increased in diabetes+*Ferula rigidula* 250-500 mg/kg (excluding GSH-Px for 500 mg/kg) and diabetes+glibenclamide groups ($p < 0.05$). Histopathological analysis revealed atrophic appearance and necrotic cells in pancreatic Langerhans islets in the diabetes group. It was observed that the negative histopathological effects of diabetes on the Langerhans islets of the pancreas were reduced in the Diabetes+*Ferula rigidula* 500 mg/kg group. According to these findings, it was concluded that it may be beneficial to investigate the clinical usage possibilities of *Ferula rigidula* extract.

Keywords: Antioxidant activity, Diabetes mellitus, *Ferula rigidula*, Oxidative stress, Rat

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pankreasın Yapısı.....	3
2.2. İnsülin.....	4
2.3. Diyabetes Mellitus (DM)	5
2.3.1. Diyabetin tedavisi	6
2.4. Streptozotosin (STZ).....	7
2.4.1. STZ'nin etki mekanizması	8
2.5. Serbest Radikaller.....	8
2.5.1. Serbest radikallerin lipitlere etkisi	10
2.6. Antioksidanlar	10

2. 7. Oksidatif Stres.....	13
2.7.1. Diyabet ve oksidatif stres	14
2.8. Apiaceae Familyası	16
2.8.1. <i>Ferula rigidula</i>	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1. Gereç	18
3.1.1. Canlı materyal	18
3.1.2. <i>F. rigidula</i> bitkisinin temini	18
3.1.3. Kullanılan alet ve malzemeler	18
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Bitki ekstraktının analiz için hazırlanması	19
3.2.2. <i>F. rigidula</i> ekstraktının toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi	21
3.2.3 <i>F. rigidula</i> ekstraktının toplam flavonoit madde miktarının belirlenmesi	22
3.2.4. <i>F. rigidula</i> ekstraktının CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivitesinin belirlenmesi	23
3.2.5. <i>F. rigidula</i> ekstraktının DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi	24
3.2.6. Akut toksisite çalışması ve doz belirleme	24
3.2.7. Çalışma gruplarının oluşturulması	25
3.2.8. Diyabet oluşturma	25
3.2.9. <i>F. rigidula</i> ekstraktı ve ilaç uygulaması	25

3.2.10. Kan ve pankreas doku örneklerinin alınması	26
3.2.11. Kanda yapılan analizler	26
3.2.12. Pankreas dokusunda yapılan analizler	27
3.2.13. Pankreas dokusunun histopatolojik analizi	344
3.3. İstatistik Analiz	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. <i>F. Rigidula</i> Ekstraktının Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktar Sonuçları.....	35
4.2. <i>F. rigidula</i> Ekstraktının CUPRAC Yöntemi İle Antioksidan Aktivite Sonuçları	35
4.3. <i>F. rigidula</i> Ekstraktı DPPH Serbest Radikali Süpürme Aktivite Sonuçları.....	36
4.4. Grupların Canlı Ağırlıkları.....	36
4.5. Grupların Serum Biyokimyasal Parametre Düzeyleri.....	37
4.6. Grupların Pankreas Dokusu Analiz Sonuçları	38
4.7. Grupların Pankreas Dokusu Histopatoloji Sonuçları	39
TARTIŞMA VE SONUÇ	44
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	61
EKLER.....	62
Ek 1. Etik Kurul Raporu.....	62
Ek 2. Tez Orijinallik Raporu	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

- ADP** : Adenozin difosfat
- AGE** : İleri glikozillenmiş son ürün
- APG** : Açlık plazma glukoz düzeyi
- ATP** : Adenozin trifosfat
- DM** : Diyabetes mellitus
- DNA** : Deoksiribonükleik asit
- GLUT** : Glukoz taşıyıcı
- GSH** : Glutatyon
- GSH-Px** : Glutatyon peroksidaz
- H₂O₂** : Hidrojen peroksit
- HbA1c** : Glikolize hemoglobin
- MDA** : Malondialdehid
- NO** : Nitrikoksit
- O₂** : Singlet oksijen
- O₂⁻** : Süper oksit radikali
- OGTT** : Oral glukoz tolerans testi
- RNS** : Reaktif nitrojen türleri
- ROS** : Reaktif oksijen türleri
- SOD** : Süperoksit dismutaz
- STZ** : Streptozotosin
- WHO** : Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Pankreas.	3
Şekil 2: İnsülin hormonunun yapısı.....	4
Şekil 3: İnsülinin biyosentezi.	5
Şekil 4: STZ'nin kimyasal formülü.....	8
Şekil 5: Reaktif oksijen türleri (ROT) ile antioksidan (AO) türleri arasındaki denge. ..	14
Şekil 6: <i>Ferula rigidula</i> bitkisi.....	17
Şekil 7: Gallik asit değişim grafiği.....	22
Şekil 8: Kersetin standart grafiği.....	23
Şekil 9: İnsülin standart grafiği	27
Şekil 10: MDA standart grafiği	29
Şekil 11: GSH-Px standart grafiği.....	30
Şekil 12: SOD standart grafiği	31
Şekil 13: Kontrol grubu pankreas dokusu histopatolojik yapısı.....	40
Şekil 14: Diyabet grubu pankreas dokusu histopatolojik yapısı.. ..	41
Şekil 15: Diyabet + <i>Ferula rigidula</i> ekstraktı 250 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı.	41
Şekil 16: Diyabet + <i>Ferula rigidula</i> ekstraktı 500 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı.	42
Şekil 17: Diyabet+Glivenklamid 5 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı.	42
Şekil 18: <i>Ferula rigidula</i> ekstraktı 250 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı.	43
Şekil 19: <i>Ferula rigidula</i> ekstraktı 500 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı.....	43

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: MDA seviye ölçümü.....	28
Tablo 2 : CAT enzim aktivite ölçümü	30
Tablo 3 : GSH seviye ölçümü.....	32
Tablo 4: Total protein ölçümü	33
Tablo 5 : <i>Ferula rigidula</i> ekstraktının toplam fenolik ve flavonoid miktarları	35
Tablo 6: <i>Ferula rigidula</i> ekstraktı, BHT, BHA ve α -TOC'un CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları	35
Tablo 7: <i>Ferula rigidula</i> ekstraktı, BHT, BHA ve α -TOC'un DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi % inhibasyon sonuçları	36
Tablo 8: Grupların canlı ağırlık düzeyleri (gr)	36
Tablo 9: Gruplara ait ölçülen serum biyokimyasal parametre sonuçları	37
Tablo 10: Grupların pankreas dokusu oksidatif stres parametre sonuçları.....	38

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki düzensizlikler nedeniyle meydana gelen metabolik bir hastalıktır. İnsülin hormonunun salgılanmasında, etkisinde ya da ikisinde beraber görüldüğü bozukluklardır. Halsizlik, poliüri, kilo kaybı, polidipsi, iyileşmeyen yaralar DM'un klinik bulguları arasında yer alır. DM tokluk kan şekerinin 200 mg/dL veya açlık kan şekerinin 126 mg/dL üzerinde olmasıyla oluşur. DM Tip I ve Tip II diye 2' ye ayrılır. Tip I diyabet, insülin hormonunun olmadığı durumlarda görülürken, Tip II diyabet insülin hormonunun yetersizliği, insülin direnci veya insülin reseptörlerinin az olduğu durumlarda meydana gelir.

Diyabet esnasında meydana gelen hiperglisemi, nonenzimatik protein glukozillenmesi ve glukozun otooksidasyonu sonucu serbest radikal miktarı artmaktadır. Normal şartlarda organizmada, serbest radikaller ve bu radikaller sonucu oluşan oksidatif yıkıma karşı koruyucu ve onarıcı enzimatik olan katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GSH-R), süperoksit dismutaz (SOD) ve enzimatik olmayan vitaminler, folik asit gibi antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır.

Oksidatif stres, biyolojik sistemlerde serbest radikallere karşı süpürücü özelliğe sahip antioksidanlar ile oksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıdır. Diyabetin etiyolojisinde ve ilerlemesinde oksidatif stres önemli rol oynar. Diyabetteki oksidatif stresten, nitrik oksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, süperoksit radikali ve geçiş metalleri sorumlu tutulmaktadır.

Dünyada birçok yerde farklı türden bitkiler, diyabetin tedavisinde geleneksel metodlarla kullanılmaktadır. Bu metodların bir kısmı bilimsel çevrelerce göz önünde bulundurulmakta ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu metodları desteklemektedir. Diyabet hastalarının % 30 kadarının tıbbi bitkiler ve bunların ürünleri (gıda ve takviyeleri) ile tamamlayıcı ve alternatif tıp ile tedavi edildiği bilinmektedir.

Ülkemizde, antioksidan ve antihiperglisemik özelliklere sahip Apiacea (Umbelliferae) ailesinden olan bitkiler, diyabete karşı yaygın şekilde kullanılmaktadır.

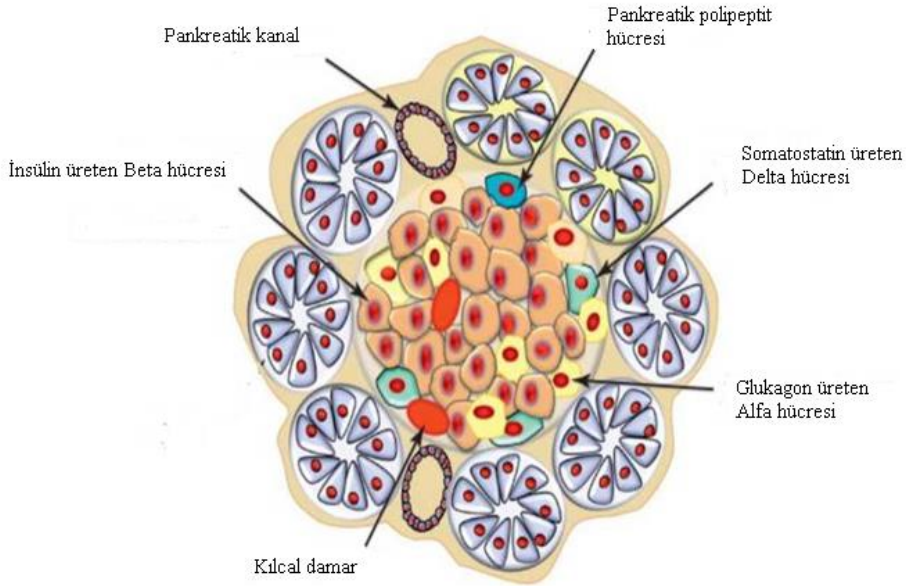
Ferula L. Apiaceae familyasının üçüncü en geniş cinsidir ve 180-185 türü vardır. Doğu ve Orta Anadolu dağlarında yetişen *F. rigidula* türü halk arasında siyabo adıyla bilinir. Çiçekleri sarı olup, boyu 70-100 cm civarındadır. Yaprakları Van'da hazırlanan otlı peynire konulmaktadır. Halk arasında *F. rigidula* bitkisi diyabet tedavisinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada *F. rigidula* bitkisinin kök üstü etanol ekstratının antioksidan aktivite, toplam fenolik ve flavonoid miktar tayinleri ile akut toksisite çalışması yapıldı. Daha sonra STZ kullanılarak oluşturulan deneysel diyabette *F. rigidula* ekstraktının serum açlık kan şekeri (AKŞ), insülin, kolesterol, trigliserit, HDL, LDL, pankreas dokusu lipid peroksidasyonu, antioksidanlar ve histopatolojisi üzerine etkinliği çalışılarak, geleneksel tedavinin bilimsel geçerliliği ortaya konuldu.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreasın Yapısı

Pankreas, sindirimde görev alan hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyona sahip dokudur. Protein, karbonhidrat ve lipit metabolizmalarının düzenlenmesinde görev alan glukagon ve insülin hormonlarını salgılar. Ekzokrin doku duodenuma sindirim sıvılarını ve Langerhans adacıkları ise insülin ve glukagon hormonlarını kana salgılar. Endokrin doku ise bunlardan meydana gelir (Guyton ve Hall, 2007; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

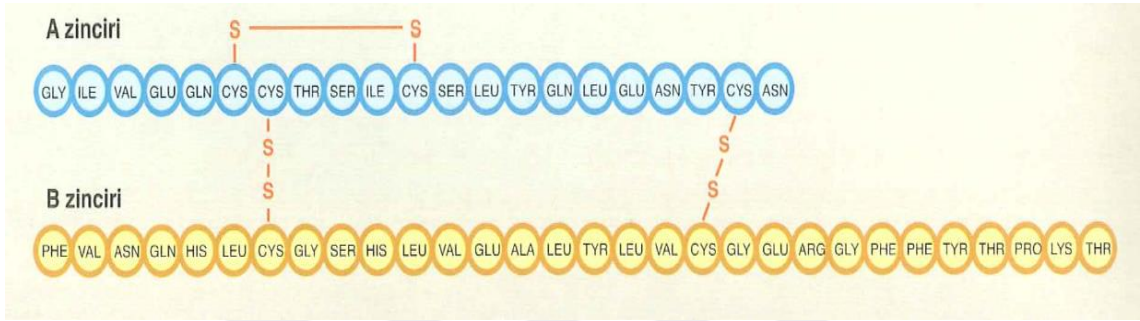


Şekil 1: Pankreas (Guyton ve Hall, 2007).

Langerhans adacığı, morfolojik ve boyanma özellikleri birbirinden farklı alfa, beta ve delta hücre tiplerini barındırır. Adacıkların ortasında yer alan beta hücreleri tüm hücrelerin % 60'ını oluşturur. Beta hücreleri insülinin yanında, görevi tam bilinmeyen amilin hormonunu, tüm hücrelerin % 25'ini oluşturan alfa hücreleri glukagon hormonunu, tüm hücrelerin % 10'unu oluşturan delta hücreleri ise somatostatin hormonunu salgırlar. Son olarak, az sayıda bulunan pankreatik polipeptit hücreleri, görevi tam olarak tespit edilmeyen pankreatik polipeptit isimli homonu üretir (Guyton ve Hall, 2007).

2.2. İnsülin

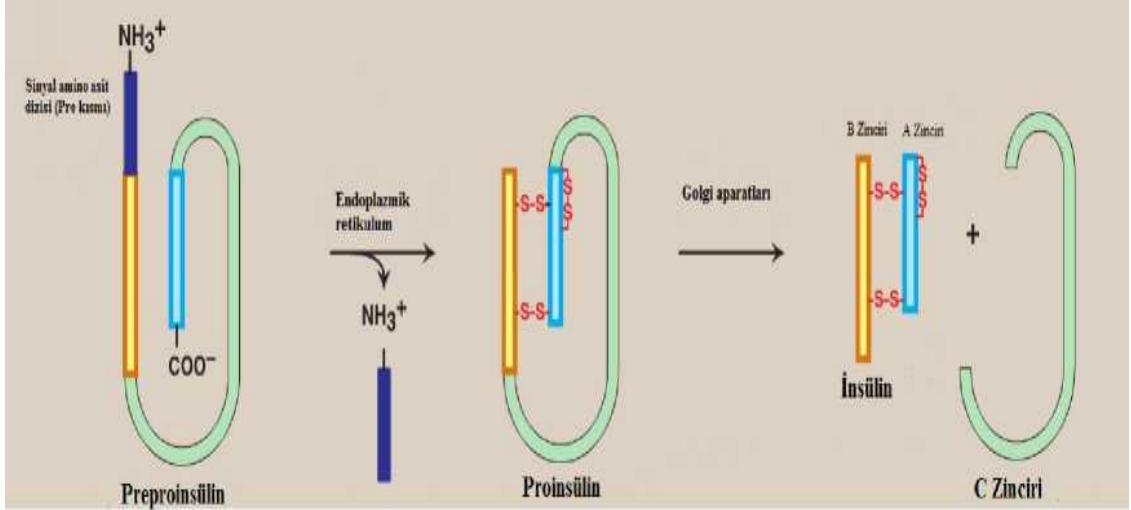
Enerji metabolizması, substrat seviyelerine cevaben salgılanan insülin ve glukagon hormonlarının eylemleri ile düzenlenir. Dokuların enerji miktarını gerekli seviyede tutan en önemli hormon olan insülin, latince ‘ada’ anlamına gelir ve beta hücreleri tarafından üretilir. İnsülin A ve B zinciri diye bilinen iki polipeptid zincirden oluşur. A zinciri birbirine iki disülfid bağı ile bağlanan 21 aminoasitten meydana gelirken B zinciri 30 amino asitten ibarettir (Ferrier, 2015).



Şekil 2: İnsülin hormonunun yapısı (Gürdöl ve Ademoğlu, 2014).

Biyosentezi

Ribozomda preprohormon olarak sentezlenen insülin, 23 amino asitlik hidrofobik pre bölümü molekülün endoplazmik retikulum sisternasına yönlendirilerek ayrılır. A ve B zincirlerini birbirine bağlayan disülfid bağının oluşumu 31 amino asitlik C zinciri yapar. Sekretuvar granüllerde depolanır, proinsülin golgiye taşınır. Proinsülinlerin % 95'i tekrar insüline dönüşür. Granülde çinko minerali ile birleşen aktif insülin ve proinsülinler heksamer yapı meydana getirir. İnsülin görevi gören proinsülin, aktivite olarak insülinin % 5 daha az aktiftir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2014).



Şekil 3: İnsülinin biyosentezi (Gürdöl ve Ademoğlu, 2014).

İnsülinin karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi

Depolanma olayını başlatma özelliğine sahip insülin, bu özelliğini ilk başta karaciğer, kas ve yağ dokularında kullanır. İnsülin salınımıyla, hücre membranı üstündeki glukoz taşıyıcılarının (GLUT-4) miktarında artma görülür. Kan glukozunun karaciğer ve kas hücrelerine geçmesini bu artan glukoz taşıyıcıları sağlar. Bu nedenle glikojen sentezi artmış olur. Diğer yandan karaciğerde glikojenoliz ve glukoneogenezi inhibe eden insülin glukoz üretimini azaltır (Ferrier, 2015).

2.3. Diyabetes Mellitus (DM)

Diyabetes mellitus'un tanımı ve epidemiyolojisi

Diyabetes mellitus (DM), salgılanan insülin miktarının yokluğu veya insülin direnci sebebiyle protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmalarının bozulmasına neden olan bir sendromdur (Guyton ve Hall, 2007).

Her geçen gün DM hasta sayısında artış görülmektedir. Dünya genelinde DM hasta sayısı 1985 yılında 30 milyon iken bu sayı 2015 yılında 415 milyona kadar ulaşmıştır. Bu sayının 2040 yılında 642 milyona ulaşması ön görülmektedir. Türkiye’de ise bu sayının günümüz itibari ile 7 milyona ulaştığı belirtilmektedir. Bunun yanında 2035 yılında bu sayının 12 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu artışın birçok nedeni

vardır. Bunlara beslenme şekillerindeki değişmeler, fiziksel aktivite yetersizliği, çeşitli ekonomik, sosyal ve küresel eğilimler, gelişimsel ve genetik yatkınlık gibi nedenler örnek gösterilebilir (Muslu ve ark., 2017).

Diyabetes mellitus'un tanı kriterleri

Kabul edilen 3 tanı kriteri vardır (Kuzuya ve ark., 2002; Server, 2006).

1. Kilo kaybı, polidipsi ve poliüri benzeri klinik bulgular olduğunda, planlanmamış bir zaman diliminde alınan kanda, plazma glukoz miktarı 200 mg/dl (11,1 mmol/l) ya da daha fazla olması.
2. 8 saat açlık sonrası plazmada 126 mg/dl ve üstü çıkan değer.
3. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) ölçümünün 2. saatinde plazma glukoz miktarının 200 mg/dl'den fazla olması.

Bu kriterlerden sadece bir tanesinin olması DM tanısı koymak için yeterlidir. Açlık plazma glukoz miktarı (APG) 100 mg/dl'nin daha aşağısında bir değerde olursa normal kabul edilir. APG seviyeleri 100–126 mg/dl arasında olursa bozulmuş açlık glukozu diye isimlendirilir. Teşhisinde OGTT yöntemi uygulanır. 75 g glukoz ile yapılan OGTT uygulamasında 2. saat glukoz miktarı 140 mg/dl'den daha küçük değerlerde olursa diyabet olarak kabul edilmez. Eğer bu değer 140–200 mg/dl aralığında olursa bozulmuş glukoz toleransı (Impaired Glucose Tolerance, IGT) olarak kabul edilir (Ural, 2016).

Glikozillenmiş hemoglobin olarak bilinen glukozile hemoglobin (HbA1c), hemoglobinin glikozla oluşturduğu ve glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak miktarı değişen bir bileşiktir. HbA1c diyabetli hastalarda retrospektif olarak uzun vadeli glikoz kontrolü için gereklidir. Bu nedenle yaygın kullanımı vardır. Diyabetli hastalarda uzun vadeli glikoz düzeyinin gösterilmesinde temel indeks HbA1c düzeyidir (Çiftçi Yegin ve Mert, 2013)

2.3.1. Diyabetin tedavisi

Oral antibiyotikler ve dışarıdan alınan insülin dışında, egzersiz, beslenme şekilleri ve diyabetli yaşam eğitimi diyabetin tedavisinde önemli yere sahiptir. Diyabet tedavisindeki amaç, vücuttaki metabolik dengeyi sağlamaktır. Böylece kısa dönem

görülen diyabetik ketoasidoz ve hipoglisemi ile uzun dönemde görülen nefropati, nöropati, retinopati gibi komplikasyonları azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. (Çolak, 2012).

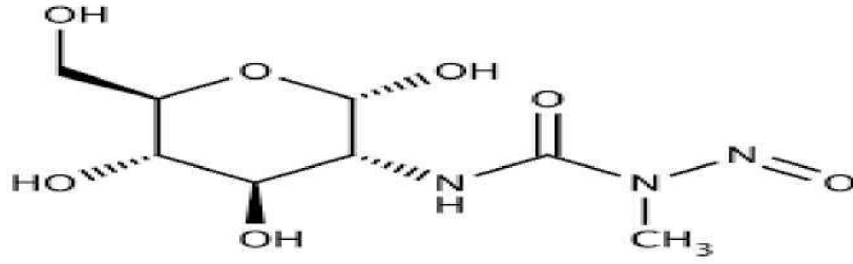
Glibenklamid ve etki mekanizması

Diyabet tedavisinde aktif olarak kullanılan glibenklamid gibi oral antidiyabetik ilaçlar, tip II diyabette ilk dönemlerde kan şekerini düşürmek için kullanılmaktadır. Bu ilaçların yetersiz olduğu durumlarda tedaviye ek olarak ya insülin eklenir ya da oral antidiyabetik ilaçların kullanımları sonlandırılarak insülin tedavisine devam edilir (Erol, 2003).

Glibenklamid sülfonilüre ilaç grubunda yer alır. Kimyasal ajanlar ile indüklenerek meydana getirilen deneysel diyabette kullanılan bir ilaçtır (Attanayake ve ark., 2015). Beta hücrelerden insülin sekresyonunun uyarılması sülfonilürelerin birinci etkisidir. Sülfonilüreler, beta hücre zarında spesifik hücre reseptörlerine bağlanır. Bu reseptörlerin var olduğu alan, hücre plazma zarında ATP'ye bağımlı K^+ olduğu bölgedir. Sülfonilüre spesifik reseptörüne bağlanınca ATP'ye bağımlı K^+ kanalları kapalı hale gelir. Beta hücresinin K^+ geçirgenliğinde bir miktar azalma, zarı depolarize hale getirir ve böylece voltaja bağımlı Ca^{++} kanalları açık duruma gelerek hücre içine daha fazla Ca^{++} girmesini sağlar. Böylelikle hücre içi Ca^{++} miktarında artma görülür. Hücre içinde artan Ca^{++} kalmodule bağlanarak sekretuar granüllerdeki insülinin eksozitoz yoluyla sekresyonuna yol açar (Bayraktar, 2001).

2.4. Streptozotosin (STZ)

Streptozotosin (STZ), *Streptomyces achromogenes* isimli bir mantar türünden elde edilir. Yapı olarak glukoza benzeyen alkilleyici bir kemoterapotiktir. Ayrıca nitrozüre grubuna sahiptir (Mythili ve ark., 2004). Neoplastik, antineoplastik ve diyabetojenik özelliklere sahip bir antibiyotiktir. STZ'nin pH'sı 4-4.5 arasında stabildir. Bundan dolayı STZ solüsyonu uygulama yapılmadan önce pH'sı 4 olan sitrat tampon yardımıyla hazırlanır. Işıktan etkilenen STZ, kullanılıncaya kadar -20 °C'de karanlık ortamda saklanmalıdır ya da hemen uygulanmalıdır (Pari ve ark., 2017).



Şekil 4: STZ'nin kimyasal formülü (Çolak, 2012).

2.4.1. STZ'nin etki mekanizması

Yapısında glukoz olması dolayısıyla pankreas beta hücrelerine GLUT-2 yoluyla alınan STZ, hücre içine alındıktan sonraki ilk etkisi beta hücrelerinin glukozu cevaben insülin salınımını engellediği düşünülmektedir (İrer ve Alper, 2004). STZ uygulamasından 2 saat geçtikten sonra insülin seviyesi azalır dolayısıyla kandaki glukoz seviyesi artar. Bu etki ise ikinci etki olarak düşünülmektedir. Bu süreçten sonra beta hücreleri kalıcı hasara uğrar ve bu nedenle var olan insülin kana karışır. Böylece hipoglisemi ile deneysel DM oluşur. Bu üçüncü aşama olarak düşünülmektedir. STZ, insülin sekresyonu ve ile sentezi beraber, glukozun oksidasyonunu da bir miktar düşürür (Kurcer ve Karaoglu, 2012).

STZ pankreas beta hücrelerinin DNA'sına etki eder. STZ'nin hücre içinde nitrozüre gruplarının değişim sonrası reaktif karbon iyonları oluşur. Bu iyonlar DNA bazlarına etki ederek alkilasyona sebep olur. Alkilasyon oluştuktan sonra meydana gelen DNA tamirinde görev alan poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) kullanarak NAD'ı tüketir ve ATP miktarını düşürür. Beta hücrelerindeki enerji depolarının kullanılması nekroz oluşmasına sebebiyet verir. Hücrede nitrik oksit (NO) serbest kalmasına sebep olabilen STZ, bundan dolayı DNA ayrılmasına da neden olabilir. STZ, oksidan özelliğe sahip olması dolayısıyla, ksantin oksidaz sistemini aktif hale getirerek, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikallerinin ($OH^\bullet$) oluşmasını bir miktar arttırır (Pabbidi ve ark., 2008).

2.5. Serbest Radikaller

Dış orbitallerinde ortaklaşmamış elektronu olan bileşiklere serbest radikaller denir. Zararlı kimyasallar, ilaçlar, radyasyon gibi çeşitli etmenler sonucu oluşabileceği gibi metabolik olaylar sonrası da ortaya çıkabilir. Son yörüngelerinde tekli elektron vardır ve bu sebeple bir elektron alma eğilimindedirler. Dolayısıyla kısa ömürlü ve kararsızdırlar (Gürdöl ve Ademoğlu, 2014).

Aerob organizmalarda oksijen çok önemlidir. Atmosferde bulunan sınırlarda olması ve hassas dengeli savunma sistemlerinin valığından dolayı toksik etkisinin vereceği zarardan etkilenmeden kullanılmaktadır. İki oksijen atomundan meydana gelen oksijen molekülü, aynı spin kuantum sayılarına sahiptir. Fakat farklı orbitallerde bulunan iki elektrondan oluştuğu için biradikal olarak ifade edilir. Aktif bir bileşik olmamasına rağmen iyi bir oksitleyicidir. Bu durum iki yarı boş orbitalini doldurmak için aynı olmayan bir atom ya da atom grubundan orbitallerindeki elektronlara ters spinli iki elektron alması ile açıklanabilir. Oksijen molekülündeki elektronların spinlerinin aynı olması dolayısıyla alacakları iki elektronda aynı olmalıdır. Fakat orbitallerde bulunan spinlere ters olmalıdır. Böyle bir durumda oksijen molekülüne aynı spinli elektronu aktarabilecek molekül veya atom olamaz. Nedeni ise bu elektronlar birbirine ters spinli olarak eşleşmiştir. Bu yüzden oksijen molekülü bir tür spin kısıtlaması sebebiyle aktivitesinin büyük bir kısmını kaybetmiştir. Elektronların teker teker alınmasıyla oksijen molekülünün spin kısıtlama durumu aşılabılır. Buradaki elektronlar birçok maddeyle karşılanabilir. Bu olaylar esnasında demir ve bakır gibi değişken değerlikli metaller önemli görev üstlenir. NADH ve FADH₂ gibi bileşiklere ait elektronlar hücrede enerji ihtiyacını karşılarlar. Mitokondride bulunan elektron taşıma sistemindeki elemanlar yoluyla oksijene aktarılırlar. Elektron taşıma sistemleri ve birçok oksijenazın ve oksidaz aktif bölümlerinde demir ve bakır vardır. Oksijen suya dönüşürken her bir elektron aktarma olayı esnasında oluşan her bir serbest radikal, sitokrom oksidaz enziminin aktif bölgesine bağlanır ve bu arada oluşmuş radikaller dışarı aktarılmamış olur (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Gürdöl ve Ademoğlu, 2014).

Oksijen hayatın devamlılığı için çok önemlidir. Vücutta harcanan oksijen molekülünün % 1-3 reaktif oksijen türlerine (ROS) dönüşür. Metabolizma birçok toksit

maddeye maruz kalır. ROS ve reaktif nitrojen (RNS) en çok öne çıkan toksik türlerdir (Hamamcıoğlu, 2017).

Genel olarak azot ve oksijenden dolayı oluşan serbest radikaller birçok hücresel fonksiyonun gerçekleşmesiyle oluşur. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), peroksil ($ROO^{\bullet}$), alkoksil ($RO^{\bullet}$), hidroksil ($HO^{\bullet}$), azot dioksit (NO_2) ve nitrikoksit (NO) radikallere örnek olarak verilebilir. Bu radikallerden en reaktif olanı $HO^{\bullet}$ radikalidir. Çok fazla zararlı olmayan reaktifler ise $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 'tir. Demirin katalitik özelliğiyle hidroksil reaktifine basit bir şekilde dönüşebilirler (Giribabu ve ark., 2014).

2.5.1. Serbest radikallerin lipitlere etkisi

Serbest radikaller reaksiyonel yapıya sahip oldukları için hücreyi oluşturan bileşenleri tehdit ederler. Lipitler başta olmak üzere nükleik asitler ve proteinler ile reaksiyona girerler (Gürdöl ve Ademoğlu, 2014; Karabulut ve Gülay, 2016a).

Hücre zarının yapısındaki lipitler, serbest radikallere karşı fazlasıyla hassastır ve lipitlerle etkileşime girerler. Membran lipitleri peroksidasyonu devamında lipid peroksit radikali, alkil radikali ve lipid aldehit benzeri peroksidasyon ürünleri meydana gelir ve hücre fonksiyonları zarar görür. Lipit peroksidasyonu sonucu malondialdehit (MDA) oluşan ürünlerden biridir. MDA, membran yapı elemanlarına tesir ederek, membran yüzeyinde var olan bileşiklerde çapraz bağ meydana gelmesine sebebiyet verir. Membran geçirgenliğinin ve akışkanlık özelliklerinin bozulması, enzim aktivitelerinde değişimlere sebep olur. Böylece hücre işlevlerini yerine getiremez hale gelir. MDA seviyesi oksidatif stres belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılır (Dotan ve ark., 2004; Çelikezen ve Ertekin, 2008; Roy ve ark., 2016).

2.6. Antioksidanlar

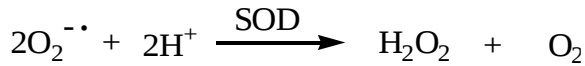
Serbest radikallerin oluşmasını engelleyen veya oluşmuş serbest radikalleri etkisiz hale getiren maddelere antioksidan denir (Karabulut ve Gülay, 2016a).

Antioksidanların sınıflandırılması

Endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılan antioksidanlar, serbest radikalleri devre dışı bırakarak vücudu serbest radikallere karşı korurlar. Endojen antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik olarak ikiye ayrılırlar. Enzimatik olan antioksidanlar GSH-Px, CAT, GSH-R ve SOD'dır. Nonenzimatik antioksidanlar ise GSH, melatonin, ferritin, seruloplazmin, α tokoferol, transferin, ürik asit, albumin ve bilirubin gibi maddelerdir. Eksojen antioksidanlar ise antioksidan vitaminler ve ilaçlardır. Antioksidan vitaminler β -karoten (vitamin A), askorbik asit (vitamin C), folik asit (vitamin B9) ve α -tokoferol (vitamin E) gibi vitaminlerdir (Karabulut ve Gülay, 2016b).

Süperoksit dismutaz (SOD)

Antioksidan savunmanın ilk evresi süperoksit dismutazdır. Dokularda meydana gelen süperoksit radikalının ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) dismutasyonunu katalizler. Bundan dolayı hem hücre içinde hem de hücreler arasında meydana gelen süperoksit belirli seviyelerde kalır. SOD hem hücreler arası sıvıda hem de hücrede aktivite özelliği olan bir enzimdir. Çok önemli özelliklerinden bir tanesi de hücreler arası sıvıda oksijen radikallerini zarar vermeyecek duruma getirmesidir. Bu özelliğe sahip tek enzimdir. SOD üç farklı formda varlık gösterir. Cu ve Zn içeren sitozolde ve ekstraselüler sıvıda, Mn içeren ise mitokondride aktivite gösterir. Ekstraselüler bölgede aktiviteye sahip olan SOD, öncelikli olarak ekstraselüler matriks ve hücre yüzeyinde bulunur. SOD aktivitesi daha çok oksijenin kullanıldığı dokularda bulunur (Breimer, 1991; Akkuş, 1995; Raha ve Robinson, 2000).



Katalaz (CAT)

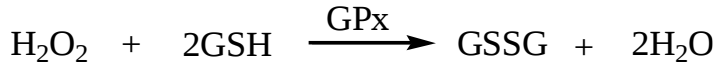
Katalaz, bir hemoproteindir, dört adet hem grubuna sahiptir. H_2O_2 benzeri moleküllere karşı etkili bir enzimdir ve peroksizomlarda çok fazla aktivite gösterirken mitokondride daha az aktivite gösterir. Büyük yapıdaki lipid hidroperoksitlerine etkinlik göstermez. Hidrojen peroksidi oksijen ve suya dönüştürmekte görev alır. Hidrojen peroksit çok tehlikeli radikallerden $OH^{\bullet}$ radikalının üretilmesinde önde gelen bir

maddedir. Bir radikal olmamasına rağmen bu sebepten dolayı tehlikelidir. Karaciğer, kemik iliği, kan, böbrek ve muköz membranda yüksek seviyede mevcuttur. Hücredeki solunum patlamasına karşı koruyucu bir rol üstlenir (Raha ve Robinson, 2000; Scandalios, 2002).



Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ile lipid peroksit moleküllerinin parçalanmasını katalizler. GSH-Px, H_2O_2 'nin düşük konsantrasyonlarında aktiftir. Fagositik hücrelerde, solunum patlaması sonucunda ortaya çıkan serbest radikallerin, membran lipidlerinde meydana getireceği oksidasyona karşı korur. H_2O_2 'den $\text{OH}^\bullet$ radikalinin meydana gelmesini engelleyerek oksidatif hasara karşı korur. GSH'yı elektron kaynağı olarak kullanarak, hidroperoksitleri metabolize eder. GSH-Px eritrositlerdeki etkili antioksidan enzimdir. GSH-Px aktivitesinde bir yavaşlama meydana gelirse hidrojen peroksit miktarında artışa ve hücre hasarına yol açar (Breimer, 1991; Gutteridge, 1995; Adam ve ark., 2002).



Glutasyon (GSH)

Glutasyon, glisin, glutamik asit ve sisteinden oluşan bir tripeptittir. En önemli non-enzimatik antioksidan olan GSH, proteinlerin oksidasyonunu engellemek için, redükte halde tutulup, yapılarına gelebilecek herhangi bir zarara engel olur. Böylelikle protein yapılı enzimlerin ve proteinlerin aktivasyonunu korur. GSH'nın önemli görevlerinden biride hemoglobinin oksitlenme sonucu methemoglobine dönüşmesini engellemektir. Ayrıca lens proteinlerini oksidasyonlardan, eritrositlerin membranlarını H_2O_2 'den kaynaklı hasarlardan, lökositleri fagositoz olaylarında rol alan oksidan yapılara karşı korur. H_2O_2 'den $\text{OH}^\bullet$ radikalinin oluşumunu önlemek için GSH-Px aracılığıyla GSH'dan

H₂O₂'e elektron aktarılır ve GSH oksitlenir. Okside glutatyon (GSSG), GSH'ya, GSH-R enzimi vasıtasıyla tekrar dönüştürülür (Karabulut ve Gülay, 2016b).

Flavonoidler

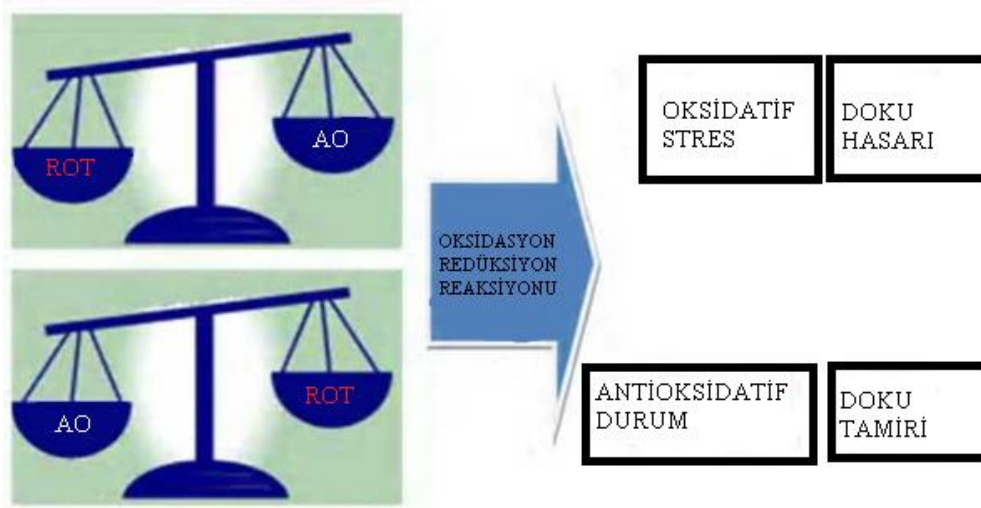
Flavonoidler, furan ve fenolik halkalardan meydana gelen benzo- γ -furan türevleridir. Aynı zamanda düşük moleköl ağırlıklı, önemli antioksidan özelliğine sahip en geniş bitki fenolikleri grubudur. Doğada çoğu çiçek, kök ve yaprakta bulunan 4000'den fazla flavonoid türü bulunmaktadır. Çay, şarap, meyve ve sebzede fazlaca bulunmaktadır. Aromatik halkalara bağlı olan ve antioksidan aktivitelerini belirleyen birçok fenolik hidroksil grupları bulundurulur. Flavonoidler reaktif oksijen türlerini bulunduran diğer prosesleri azaltma ve lipid peroksidasyonunu engelleme özelliklerine sahiptirler (Özenç, 2011).

Fenolik asitler

Fenolik asitler bitkilerde çok miktarda bulunurlar ve diğer ismi fenil praponoidlerdir. Hidroksisinnamik ve hidroksi benzoik asitlerini içeren fenolik asitlerin, çoğunu hidroksi sinamik asitleri oluşturur. Hidroksisinnamik asitler ferullik asit, kafeik asit, o- kumarik asit halinde bitkisel ürünlerde fazlaca bulunur (Balasundram ve ark., 2006). Hidroksibenzoik asit ise bitkisel ürünlerinde az miktarda bulunan, yapılarında hidroksi ve metoksi grupları içeren asitlerdir (Saldamlı, 2007).

2.7. Oksidatif Stres

Vücuttaki mevcut antioksidan savunma sistemleri ile hücrelerdeki lipidlerin peroksidasyonuna sebep olan radikal oluşumu arasındaki dengenin bozulmasına oksidatif stres denir. Oksidatif stres ile hiperglisemi arasında yakın bir bağın olduğu bazı çalışmalar ile desteklenmiştir (Baldiserra ve ark., 2017).



Şekil 5: Reaktif oksijen türleri (ROT) ile antioksidan (AO) türleri arasındaki denge (Chapple ve Matthews, 2007).

2.7.1. Diyabet ve oksidatif stres

Diyabetes mellitusta ROS oluşumu üç şekilde açıklanır (Bonnefont-Rousselot, 2002; Çolak, 2012).

a. Glukozun otooksidasyonu

Geçiş elementleri yardımıyla glukozdan süperoksit ve ketoaldehit meydana gelir. $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 ve son olarak reaktivitesi çok yüksek olan $OH^{\bullet}$ radikale dönüşür. Hücrede meydana gelen glukozun oksidasyonu, NADH oluşumuna sebep olur. NADH elektron taşıma sisteminde ATP üretimi amacıyla kullanılır. ATP üretimi aşamasında $O_2^{\bullet-}$ radikalleri meydana gelir. Yüksek glukoz konsantrasyonu durumunda $O_2^{\bullet-}$ radikal oluşumu artar.

b. İlerlemiş glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumu ve proteinlerin glikasyonu

Yüksek konsantrasyonu olan glukoz, DM durumunda proteinlere nonenzimatik reaksiyon verir. Bu proteinler moleküler oksijene elektron verir ve ROS meydana getirirler. Glukozun proteinlerle meydana getirdiği bu reaksiyonlar sonucunda, daha olağan yapıya amadori ürünler meydana gelir. Amadori ürünler sonrası AGE meydana

gelir. Vazokonstriksiyonun artması ve dolayısıyla endotel hasarına sebep olma, protein yapı ve fonksiyonlarını bozma, serbest radikal oluşturma, AGE reseptörleri yoluyla oksidatif stresi arttırma ve bu yolla nükleer faktör kapa B (NFkB) benzeri transkripsiyon faktörlerini aktif duruma getirerek gen ekspresyonunu arttırma gibi sonuçlar, AGE'nin istenmeyen sonuçları arasındadır. AGE reseptörleri aracılığıyla artan ROS oluşumu, AGE'nin bir miktar artmasına neden olur. Protein kinaz C (PKC) aktivitesi, AGE ve ROS miktarı ile orantılıdır. PKC'nin aktif durumda olması damar kan akışı ve permeabilite ile hücre büyümelerinde etkili olduğu gibi vasküler komplikasyonlarda da önemlidir.

c. Poliol yol

DM, poliol yoluyla sorbitol oluşumuna sebep olur. Reaksiyon mekanizmasında görev alan aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH gereklidir. Yüksek glukoz konsantrasyonu durumunda sorbitol miktarı arttığından, NADPH miktarında hızlı bir azalma meydana gelir. NADPH enzimatik antioksidan mekanizmasında aktif rol alır. Bu yüzden NADPH miktarının yetersiz olduğu durumlarda, antioksidan mekanizmasını olumsuz yönde etkiler.

Glikasyondan sonra oluşan serbest radikaller, insülin gen transkripsiyonunu olumsuz yönde etkilediği gibi beta hücre apoptozuna sebebiyet verir. İnsülin reseptörlerinin insüline karşı afinitelerini serbest radikallerin artmasına bağlı olarak azalır.

Diyabet ile meydana gelen oksidatif stres, membran lipid peroksidasyonuna sebep olur ve lipid içeriği değişkenlik gösterdiğinden membran geçirgenliğinde azalma meydana gelir. Bunun yanında Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinde azalmaya yönelik değişkenlik söz konusudur. Diyabet sırasında lipidler ve proteinler oksidasyona uğramaktadırlar. Gerçekleşen her iki oksidasyon sonucu proteinlerde karbonil gruplarında artış olduğu gözlenmiştir. Karbonil artışı sadece diyabet nedeni ile olmaz, hiperlipidemi ile birlikte oksidatif stres kaynaklı diğer metabolik bozukluklar sonucunda ortaya çıkar. Hiperglisemi'de yükselme gösteren karbonil miktarı, vasküler hasarlara sebebiyet verir.

2.8. Apiaceae Familyası

Apiaceae familyası; ılıman iklimin etkin olduğu alanlarda, özellikle de Asya kıtasında yayılma gösterir, 464 cinsi içinde barındıran büyük bir familyadır (Pimenov ve Leonov, 2004). Türkiye’de, 100 cinsi vardır. Bunlardan Apiaceae familyasının 527 türünün 187’si endemiktir. Bununla birlikte ülkemizde, Apiaceae familyasına yeni veriler ve düzenlemeler yapılmaktadır (Duran ve ark., 2015).

Apiaceae familyasına ait farklı bitki türleri, ülkemizde ve dünyada, yörelere ait yöresel olarak çok farklı hastalıklardan korunmada ve bu hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Arıtuluk ve ark., 2016). Genellikle diyabet hastalığının tedavisinde bu familyaya ait bazı bitkilerin, yapılan bilimsel çalışmalarla etkili oldukları tespit edilmiştir (Yanardağ ve ark., 2003; Jagtap ve Patil, 2010; Akhlaghi ve ark., 2012; Abou Khalil ve ark., 2016; Özdek, 2017).

2.8.1. *Ferula rigidula*

Ferula L. Apiaceae familyasının üçüncü en geniş cinsidir ve 180-185 türe sahiptir. Türler çoğunlukla Orta ve Güney Batı Asya’da yayılış gösterir. Ayrıca Uzakdoğu, Kuzey Hindistan ve Akdeniz Havzasına kadar da yayılım göstermektedirler. Genel olarak dağlık bölgelerde yetişen *Ferula* türlerinin bir kısmına da çöllerde rastlanabilmektedir. Eski Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği (SSCB) ülkelerinde 94, Pakistan’da 15, Hindistan’da 19, Çin’de 25, Kuzey Himalayalarda 19, Suudi Arabistan’da 4 ve İran’da 32 tür yetiştiği bildirilmektedir (Yaqoob ve ark., 2016).

Anadolu’da *Ferula* bitkisi halk arasında kök ve yaprakları afrodizyak etki ve sperm sayısını artırmak için toz haline getirilerek çay şeklinde tüketilmektedir. Ayrıca keçi ve koyunlarda süt verimini ve doğurganlığı artırmak için kullanıldığı bildirilmiştir (Baytop, 1999). Bulut ve ark., (2014)’nın, etnofarmakolojik bilgileri, yerel halktan açık ve yarı yapılandırılmış görüşmeler yoluyla elde ettikleri bulgulara, geleneksel tedavi amaçlı, *F. rigidula* bitkisinin toprak üstü kısmının diyabet ve yüksek kolesterol için kullanıldığını ve olumlu etkiler alındığını bildirmişlerdir.

F. rigidula yeşil renkli, gövdesi silindirik şeklinde olan, boyu 70-120 cm arasında değişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Taban yaprakları 5-6 parçalıdır, triangular- ovat şeklinde olup ölçüsü 15-30 x 10-25 cm aralığındadır. Çiçek durumu panikulat-korimboz şeklindedir. Merkezi umbel 4-15 ışınlı olup, umbellulardaki çiçek sayısı 5-14 arasında değişmektedir. Çiçeklenme zamanı genel olarak Mayıs- Haziran aylarında olur. Türkiye’de Orta ve Doğu Anadolu’da yayılış gösterir (Kendirli, 2019).

F. rigidula halk arasında siyabo adıyla bilinmektedir. Genç toprak üstü sürgünleri Van’da otlu peynir ve turşu yapımında kullanılır. Yaprakları haşlandıktan sonra yağda kavrularak yenilir (Köse ve Ocak, 2018).



Şekil 6: *Ferula rigidula* bitkisi.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Canlı materyal

Erişkin 5 adet dişi Albino fare (20-30 gr) akut toksisite ve 49 adet erkek Wistar albino rat (200-250 gr) deneysel diyabet çalışmasında kullanıldı. Hayvanlar, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edildi. Deney hayvanları, deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlatma uygulanmış, sıcaklığı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ayarlanmış odalarda, yem ve su yönünden kısıtlamaya gidilmeden ad libitum olarak beslendikleri kafeslerde barındırıldı.

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.06.2020 tarih ve 2020/06-14 karar numaralı araştırma başvuru onay belgesi alınarak gerçekleştirildi.

3.1.2. *F. rigidula* bitkisinin temini

Bu çalışmada kullanılan *F. rigidula* bitkisi, Mayıs-Haziran aylarında Van ili Gürpınar ilçesi Çavuştepe Kalesi kayalıklarında, kökü ile birlikte doğal ortamından toplandı. Taksonamik incelemesi Doç.Dr. Mesut Süleyman PINAR tarafından yapıldı. Herbaryum kayıt numarası:164116.

3.1.3. Kullanılan alet ve malzemeler

- Derin dondurucu (Uğur)
- Di potasyum fosfat (K_2HPO_4 , Merck)
- ELISA cihazı (BiotekELx 808, U.S.A.)
- Eppendorf tüp
- Etil alkol (Sigma)

- Glibenklamid (Nobel ilaç)
- GSH-Px kiti (BT-Lab, Cat. no E1759Ra)
- Hassas terazi (Bosch S 2000)
- Homojenizatör (Isolab)
- İnsülin kiti (BT-Lab, Cat.no E0707Ra.)
- Ketamin (Sigma)
- Mono potasyum fosfat (KH_2PO_4 , Merck)
- Otoanalizör (Architect C16000)
- Otomatik pipet (Socorex micropipett)
- Santrifüj (Heraeus sepatech minifuge RF)
- SOD kiti (BT-Lab, Cat. no E0168Ra)
- Streptozotosin (Sigma)
- Vakumlu jelli tüp
- Vorteks (Minishaker MS2)

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki ekstraktının analiz için hazırlanması

Toplanan *F. rigidula* bitkisinin kök üstü kısmı direkt güneş ışığı almayan ve hafif hava akımının olduğu bir ortamda kurutuldu. Kurutulan bitki, öğütücü yardımıyla toz haline getirildi. Bu tozdan 100 gram alınarak, % 96'lık 1000 ml etil alkol içerisinde 24 saat bekletildikten sonra süzüldü. İkinci adımda kalan süzüntü % 70'lik etil alkol içerisinde 24 saat bekletilerek tekrar süzüldü. Daha sonra her iki süzüntü birleştirilerek,

evaporatörde 50 °C’de 70 rpm de kurutuldu. Kalan kısım 40 °C’lik su banyosunda tamamen kuruyuncaya kadar bekletildi (Farkhad ve ark., 2012).

***F. rigidula* ekstraktı analizleri için çözeltilerin hazırlanması**

Toplam fenolik miktar tayininde kullanılan çözeltiler

% 2’lik sodyum karbonat çözeltisinin hazırlanması: 2 g Na₂CO₃ 100 ml’lik balon jofeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile hacmine tamamlandı.

Folin-ciocalteus fenol reaktifi (fosfotungistik-fosfomolibdik asit + CuSO₄): Hazır solüsyon halinde temin edildi.

Toplam flavonoid miktar tayininde kullanılan çözeltiler

%10’luk alüminyum nitrat çözeltisinin hazırlanması: 1.76 g Al(NO₃)₃.9H₂O 10 ml’lik balon jofeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile hacmine tamamlandı.

1 M potasyum asetat çözeltisinin hazırlanması: 0.9615 g CH₃COOK 10 ml’lik balon jofeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile hacmine tamamlandı.

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali süpürme aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

0.1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartılarak 100 ml etil alkolde çözüldü.

Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) yönteminde kullanılan çözeltiler

10 mM bakır (II) klorür dihidrat çözeltisinin hazırlanması: 42.62 mg CuCl₂.2H₂O tartılarak 25 ml suda çözüldü.

1 M amonyum asetat tamponunun hazırlanması: 1.927 g NH₄OAc tartılarak 25 ml suda çözüldü, pH= 7'ye ayarlandı.

7.5 mM neokuproin çözeltisinin hazırlanması: 76.6 mg neokuproin tartılarak 50 ml % 96'lık alkolde çözüldü.

Standart çözeltilerinin hazırlanması

1000 ppm kersetin çözeltisinin hazırlanması: 25.8 mg kersetin 25 ml etil alkolde çözüldü.

100 ppm pirokatekol çözeltisinin hazırlanması: 10 mg pirokatekol 100 ml suda çözüldü.

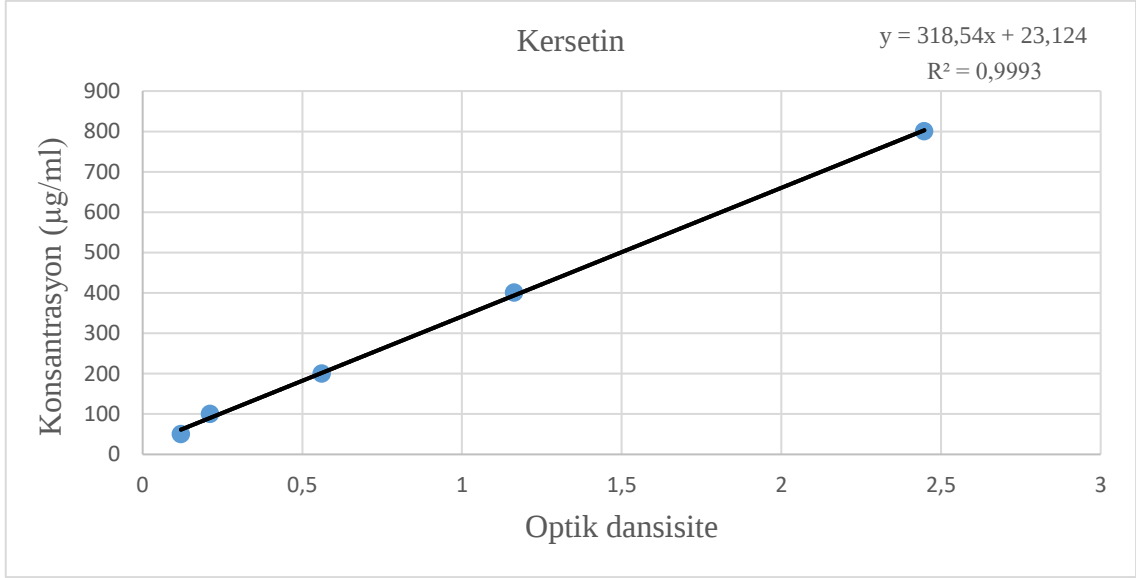
1000 ppm BHT (2.6-di-t-bütil-1-hidroksitoluen) çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHT 10 ml etanolde çözüldü.

1000 ppm BHA (2- t-bütil-4-hidroksianisol) çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHA 10 ml etanolde çözüldü.

1000 ppm α -tokoferol çözeltisinin hazırlanması: % 97'lik 10.31 mg α -tokoferol 10 ml etanolde çözüldü.

3.2.2. *F. rigidula* ekstraktının toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

F. rigidula ekstraktının toplam fenolik madde miktar tayini Folin-Ciocalteus yöntemi kullanılarak belirlendi (Singleton ve ark., 1999). *F. rigidula* ekstraktının toplam fenolik içeriği gallik asit eşdeğeri olarak tespit edildi. Saf olan gallik asitten, derişimi 50, 100, 200, 400 ve 800 μ g/ml olacak şekilde, dört farklı etanol çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerden 40 μ l alınarak, 1160 μ l distile su eklendi, ardından üzerlerine 200 μ l 2 N folin reaktifı eklendi. Oda sıcaklığında 5 dk karıştırılan örneklere 600 μ l %20'lik Na₂CO₃ çözeltisi eklendikten sonra tam bir karışım sağlanması için 2 saat boyunca çalkalandı ve işlem sonunda spektrofotometrede 765 nm'de absorbans değerleri belirlendi.



Şekil 8: Kersetin standart grafiği

3.2.4. *Ferula rigidula* ekstraktının CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivitesinin belirlenmesi

CUPRAC yönteminde, örneklerdeki antioksidan bileşikler varlığında Cu (II)-neokuproin (Nc) kompleksi, renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenir ve bu kelatın 450 nm’de absorbanşı ölçülür. Hazırlanan örnekler ve standartlardan 1000 ppm konsantrasyonlu stok solüsyonlar hazırlandı. Analiz için mikrotelateler kullanıldı. Analiz edilecek solüsyonun son hacmi 250 µL olacak şekilde, herbir kuyucuğa önce 61’er µL CuCl₂, neokuproin ve NH₄OAc ilave edildi. Ekstrakt ve standart olarak kullanılan BHT, BHA ve α-TOC stok solüsyonlarından sırasıyla 2,5, 6,25, 12,5, ve 25 µL hacimlerden alındı ve numaralandırılmış kuyucuklara eklendi. Son konsantrasyonların 10, 25, 50, 100 µg/ml olması için aynı sıra takip edilerek, 64,5, 60,75, 54,5 ve 42 µL saf su eklenerek son hacim 250 µL’ye tamamlandı. İşlem sonunda, 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Ardından 450 nm’de absorbanş ölçüldü (Apak ve ark. 2004). Bu yöntemde antioksidan aktivite, 450 nm’de ölçülen absorbsiyon değeri ile orantılıdır. Örneklerin absorbanş değerleri standartlara karşı değerlendirildi. Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

3.2.5. *F. rigidula* ekstraktının DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

F. rigidula ekstraktının serbest radikal süpürme aktivitesi DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi (Blois, 1958). Ekstraktın 10 mg'ı 10 ml etanolde çözülerek stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiden 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak etanol ile hacimleri 40 µL'ye tamamlandı ve üzerine 0,1 mM DPPH çözeltisinden 160 µL ilave edildi. Hazırlanan çözeltinin oda sıcaklığında karanlıkta 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Elde edilen bu absorbans değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandı.

Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (\text{Akontrol} - \text{Aörnek}) / \text{Akontrol} \times 100$$

A: Absorbans

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve α-TOC kullanıldı.

3.2.6. Akut toksisite çalışması ve doz belirleme

Bu test, Organization for Economic Corporation and Development (OECD) rehberi 425'e göre yapıldı (Anonim, 2008). Bunun için, test klavuzunda belirtilen şekilde 2000 mg/kg doz ve doğum yapmamış ve hamile olmayan sağlıklı 8-12 haftalık 5 dişi Albino fare kullanıldı. OECD 425 Test Klavuzuna göre Limit Testi yapılırken, doz uygulamasından 4 saat önceden yem ve sudan yoksun bırakılan fare tartılıp, ağırlığına göre hesaplanan doz *F. rigidula* ekstraktı distile suda çözülerek gavaj yoluyla uygulanarak ayrı bir kafese alındı ve bir gün boyunca akut toksik semptomlar (lokomotor aktivite, garip davranışlar, anormal ses çıkarma, ağrıya duyarlılık, sese duyarlılık, titreme vb) yönünden takip edildi ve herhangi bir olumsuz semptom görülmedi. Ölüm gerçekleşmediği için, 4 mg/kg saat önceden yem ve sudan yoksun bırakılan diğer 4 fareye, ağırlığına göre hesaplanan doz *F. rigidula* ekstraktı gavaj yoluyla uygulandı. 14 gün boyunca hayvanlar gecikmiş toksik etkiler yönünden takip edildi, bu süre boyunca herhangi bir ölüm gerçekleşmediği için, LD₅₀'nin 2000 mg/kg'dan daha büyük olduğu

kabul edildi. Bu çalışmanın sonucuna göre *F. rigidula* ekstraktının kullanılacak dozu Apiacea familyasından diğer bitkiler ile yapılan çalışmalar (Yusufoğlu, 2015; Özdek, 2017) dikkate alınarak 250 ve 500 mg/kg olarak belirlendi.

3.2.7. Çalışma gruplarının oluşturulması

Çalışmada, 49 adet erkek Wistar albino rat ağırlık tartımları yapıldıktan sonra her birinde 7 tane olacak şekilde aşağıdaki şekilde gruplandırıldı.

Grup 1: Normal kontrol

Grup 2: Diyabet kontrol

Grup 3: Diyabet + *Ferula rigidula* (250 mg/kg)

Grup 4: Diyabet + *Ferula rigidula* (500 mg/kg)

Grup 5: Diyabet + glibenklamid (5 mg/kg)

Grup 6: *Ferula rigidula* kontrol (250 mg/kg)

Grup 7: *Ferula rigidula* kontrol (500 mg/kg)

3.2.8. Diyabet oluşturma

Diyabet oluşturmak amacıyla, bir gece önce aç bırakılan ratlara soğuk sodyum sitrat tamponu (pH: 4.5) içinde eritilen streptozotosin (STZ), 45 mg/kg olacak şekilde tek doz intraperitoneal (ip) olarak uygulandı. Diyabet oluşturulmayan gruplara (Grup 1, 6, ve 7) sodyum sitrat tamponu ip uygulandı. Uygulamadan 72 saat sonra, ratların kuyruk veninden alınan kan örneklerinde Accu-Check Active kan glikoz monitörü ile açlık kan şekeri düzeyleri ölçüldü. Kan şekeri düzeyi 200 mg/dl üzerinde olanlar, diyabet kabul edilip çalışmaya dahil edildi (Kumar ve ark., 2016).

3.2.9. *F. rigidula* ekstrakt ve ilaç uygulaması

F. rigidula ekstraktı, distile suda çözülerek, grup 3 ve 6' ya 250 mg/kg, grup 4 ve 7' ye 500 mg/kg olarak 28 gün boyunca, günlük tez doz halinde eş zamanlı olarak gastrik

gavaj yoluyla verildi. Glibenklamid distile suda çözülerek, Grup 5' e, 5 mg/kg olarak, 28 gün boyunca günlük tez doz halinde eş zamanlı olarak gastrik gavaj yoluyla verildi (Andrade-Cetto, 2011).

Çalışmanın ilk ve son gününde hayvanların canlı ağırlıkları tartıldı. Çalışma süresince ratların genel klinik durumları ve davranışları takip edildi.

3.2.10. Kan ve pankreas doku örneklerinin alınması

Yirmi sekiz günlük deneme sonunda, 12 saat boyunca aç bırakılan ratlara ketamin anestezisi (75 mg/kg, ip) uygulanarak, intrakardiyak kan örnekleri antikoagulanlı ve antikoagulansız vakumlu tüplere alındı.

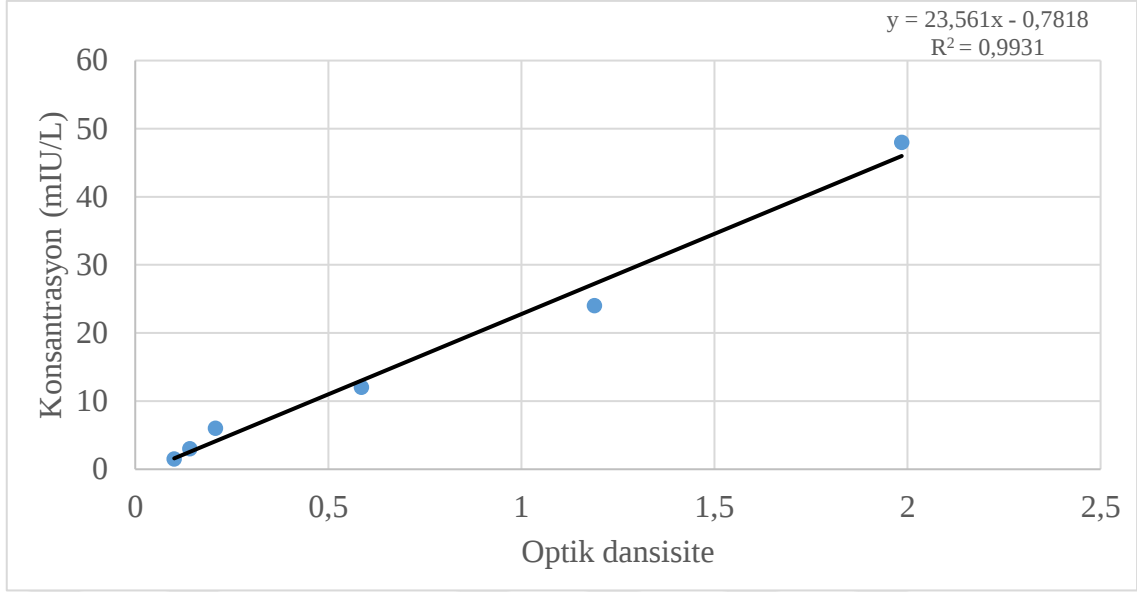
Kan örnekleri alındıktan sonra, kansız bırakma yöntemi ile sakrifiye edilen ratların pankreasları çıkarılıp bölündü. Bir parçası histopatolojik değerlendirme için % 10'luk formalin ile fikse edildi. Diğer parça analiz edilene kadar -80 °C'de saklandı.

3.2.11. Kanda yapılan analizler

Antikoagülansız vakumlu tüplere alınan kanlar, 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen serum örneklerinde, glukoz, trigliserit, kolesterol ve HDL ölçümleri ticari kit kullanılarak otoanalizörde (ArchitecCi 1600) yapıldı. LDL miktarı Friedward formülüne göre hesaplandı (Giribabu ve ark., 2014).

$$\text{LDL kolesterol} = \text{Kolesterol} - (\text{HDL kolesterol} + \text{TG}/5).$$

İnsülin seviyesi, ticari kit (BT-Lab, Cat.No E0707Ra.) kullanılarak, çift antikor sandviç yöntemine dayanarak ELISA (Biotek ELx800) cihazında ölçüldü. İnsülin miktarı, insülin standart grafiği kullanılarak hesaplandı, mIU/L olarak ifade edildi.



Şekil 9: İnsülin standart grafiği

3.2.12. Pankreas dokusunda yapılan analizler

Doku homojenizatının hazırlanması

Yaklaşık 0.5 gram alınan pankreas dokusu üzerine fosfat tamponundan (pH: 7.2 – 7.4) 5 ml eklendi ve homojenizatör yardımı ile 16000 rpm’de 3 dk homojenize edildi. Homojenizasyon bir buz kabının içerisinde gerçekleştirildi. Homojenizatlar, 2000 – 3000 devir/dk, +4 °C’de 20 dk santrifüj edildi (Özdek, 2017). Elde edilen süpernatanta protein, MDA ve GSH seviyesi ile CAT, SOD ve GSH-Px enzim aktivite ölçümleri yapıldı

Malondialdehit (MDA) seviye tespiti

Prensip: MDA analizi Placer ve ark. (1966)’nın bildirdiği metoda göre yapıldı. Bu metot MDA ve TBA’nın asidik ve sıcak ortamda pembesi renkte bir kompleks oluşturmaları esasına dayanır. Bu renkli kompleksin 532 nm’de verdiği absorbans ile MDA konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Kullanılan ayraçlar

Tiyobarbütirik asit (TBA): 0.67 g TBA 80 ml %10'luk perklorik asitte (HClO_4) çözüldü ve 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

Triklorasetik asit (TCA): 10 g TCA distile suda çözülerek 100 ml'ye tamamlandı. Ayıraç koyu renkli şişede saklandı.

Renk ayırıcı: 3 kısım TCA solüsyonu ve 1 kısım TBA solüsyonu reaktif şişeye konularak 1 dk magnetik karıştırıcıda karıştırıldı. Ayıraç günlük hazırlandı.

Standart: 1,1,3,3 tetraetoksiprop standart çözeltisi (10 mmol/L): 0.247 ml 1.1.3.3 tetraetoksipropan ($\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{O}_4$) 100 ml absolut etanolde çözülerek 10 mmol/L'lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden 0,1 ml alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve 20 $\mu\text{mol/L}$ 'lik çalışma standart çözeltisi elde edildi. 20 $\mu\text{mol/L}$ 'lik 1,1,3,3 tetraetoksipropan çalışma standart çözeltisi ile 1, 2, 3, 4 ve 8 $\mu\text{mol/L}$ 'lik dilusyonlar hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizildi.

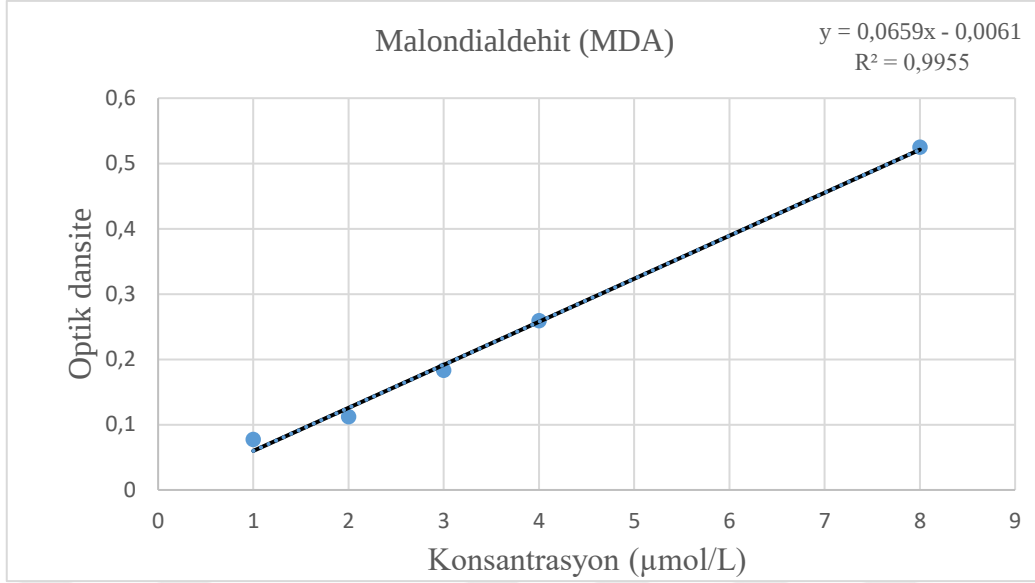
Deneyin yapılışı

Tablo 1: MDA seviye ölçümü

	Kör (ml)	Örnek (ml)	Standart (ml)
Örnek	-	0.25	-
Standart	-	-	0.25
Serum fizyolojik	0.25	-	-
Renk ayırıcı	2.25	2.25	2.25

Tüpler vortekslendikten sonra 100°C' de 20 dk bekletildi. Musluk suyu altında soğutma işleminden sonra tüpler 3.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek üst faz absorbansı 532 nm'de okundu.

MDA seviyesi, MDA standart grafiğine göre hesaplanıp, nmol/g protein cinsinden ifade edildi.



Şekil 10: MDA standart grafiği

Katalaz (CAT) enzim aktivite tespiti

Prensip: CAT aktivite ölçümü Aebi (1984)'nin bildirdiği metod kullanılarak yapıldı. Bu metot hidrojen peroksitin (H_2O_2) CAT tarafından yıkım hızı, H_2O_2 'nin 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır.

Kullanılan ayraçlar

50 mM fosfat tamponu (pH: 7.0): 6.81 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) ve 8.90 g di- sodyum hidrojen fosfat dihidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) tartılarak 1 L distile suda çözülerek hazırlandı. $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ çözeltisi üzerine KH_2PO_4 ilave edilerek pH 7.0'ye ayarlandı.

30 mM H_2O_2 : 0.34 ml %30'luk hidrojen peroksit (H_2O_2) fosfat tamponu ile 100 ml'ye tamamlandı.

Deneyin yapılışı

Tablo 2 : CAT enzim aktivite ölçümü

	Kör (ml)	Örnek (ml)
Fosfat tamponu	1	-
H ₂ O ₂	-	1
Örnek	2	2

240 nm’de 0. (A1) ve 30. (A2) saniye de absorbanslar okundu.

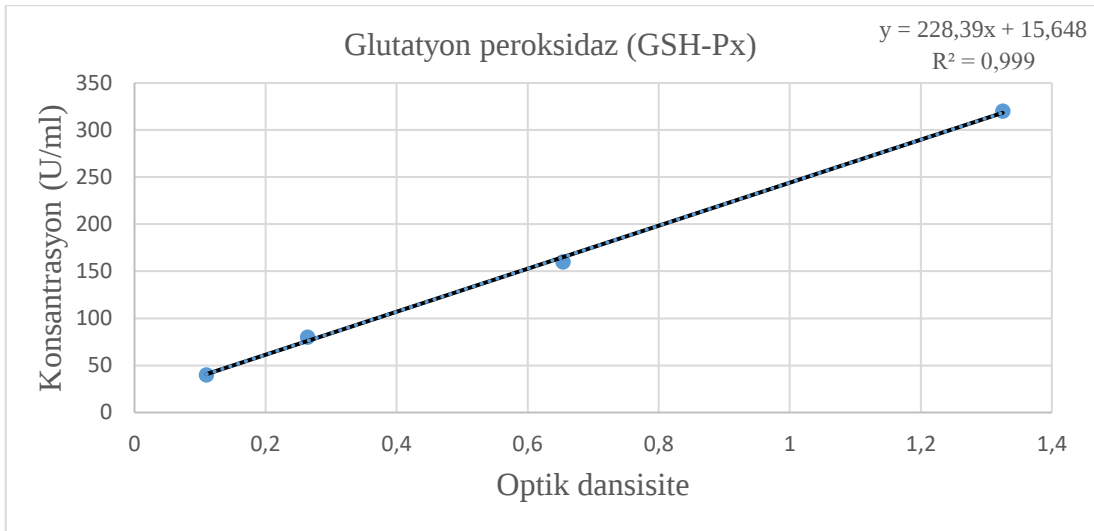
CAT enzim aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanıp, U/mg protein olarak ifade edildi.

$$k = (2,3/30) \times (\log A1/A2) \times \text{Dilüsyon}$$

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivite tespiti

GSH-Px enzim aktivite tespiti, ticari kit (BT-Lab, Cat. No E1759Ra) kullanılarak, çift antikor sandviç yöntemine dayanarak ELISA (Biotek ELx800) cihazında yapıldı.

GSH-Px enzim aktivitesi, GSH-Px standart grafiği kullanılarak hesaplanıp, U/mg olarak ifade edildi.

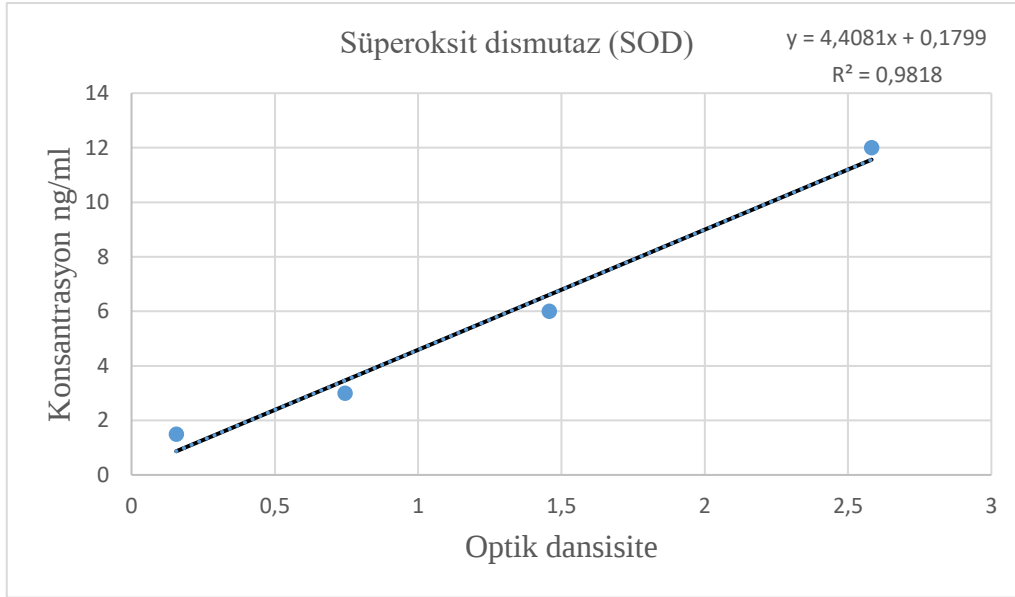


Şekil 11: GSH-Px standart grafiği

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tespiti

SOD seviyesi, ticari kit (BT-Lab, Cat. No E0168Ra) kullanılarak, çift antikor sandviç yöntemine dayanarak ELISA (Biotek ELx800) cihazında yapıldı.

SOD enzim aktivitesi, SOD standart grafiği kullanılarak hesaplanıp, ng/g olarak ifade edildi.



Şekil 12: SOD standart grafiği

Glutasyon (GSH) tayini

Prensip: GSH analizi Beutler ve ark. (1963), tarafından bildirilen metotla yapıldı. Bu metot sülfidril gruplarının DTNB eklendiğinde oldukça stabil sarı renk oluşturması esasına dayanır. Bu renkli kompleksin 412 nm’de verdiği absorbans ile GSH konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Kullanılan ayraçlar

Presipitasyon solüsyonu: Bir beher içine 1.67 g metafosforik asit (HPO_3), 0.2 g etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), 30 g sodyum klorür (NaCl) ekledikten sonra distile su ile 100 ml’ye tamamlandı. 4 °C’de 3 hafta dayanıklıdır.

Fosfat solusyonu: 0.3 M Na₂HPO₄: 42.60 g disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) tartılır ve distile ile 1 L'ye tamamlandı. +4 °C'de saklandı.

5, 5' - ditiyobis 2 nitro benzoik asit (DTNB): 40 mg DTNB % 1'lik sodyum asetat (C₂H₃NaO₂) çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlandı. +4 °C'de saklandı.

Standart GSH (0.1 mg/dl): 1 mg GSH tartıldı ve 10 L distile suda çözüldü. Taze hazırlandı.

Deneyin yapılışı

Tablo 3 : GSH seviye ölçümü

	Kör (ml)	Örnek (ml)	Standart (ml)
Örnek	-	-	200
Standart	-	200	-
Distile Su	0.4	1.8	1.8
Çöktürücü	0.6	3	3

Tüpler vortekslendi, 3000 rpm' de 30 dk santrifüj edildi.

Süzüntü	1	1	1
Na ₂ HPO ₄	4	4	4
DTNB	0.5	0.5	0.5

Tüpler vortekslendi 412 nm'de köre karşı absorbanlar okundu.

GSH seviyesinin aşağıdaki formüle göre hesaplanıp, µmol /g protein cinsinden ifade edildi.

$$\text{GSH} = (\text{Standartın Konsant}) \times (\text{Örneğin OD}) \times (\text{Sulandırma Katsayısı}) / (\text{Standartın OD})$$

Protein miktar tayini

Prensip: Total protein miktarı modifiye Lowry (1951) yöntemine göre yapıldı. Alkali ortamda proteinlerin peptit bağlarının ve tirozin artıklarının bakır ile kompleks oluşturmasına dayanır.

Kullanılan ayraçlar

Alkali bakır ayırıcı: 10 g sodyum karbonat (Na_2CO_3), 0.1 g sodyum potasyum tartarat ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) ve 0.05 g bakır sülfat (CuSO_4), 0.5 N sodyum hidroksit (NaOH) içinde çözüldü ve 100 ml'ye tamamlandı. Bu çözelti oda ısısında 30 gün dayanır.

Fenol ayırıcı: 2.0 N Folin-Ciocalteu-Fenol ayırıcından 3.75 ml alındı, distile su ile 67.5 ml'ye tamamlandı. Bu çözeltideki örnek sayısına göre çalışma anında günlük olarak hazırlandı.

Protein standartı: 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sığır serum albumin (BSA) okuma sınırına getirilmiş (sulandırılmış) örnek.

Deneyin yapılışı

Tablo 4: Total protein ölçümü

	Kör (ml)	Örnek (ml)	Standart (ml)
Alkali bakır ayırıcı	1.0	1.0	1.0
Örnek	-	1.0	-
Distile su	1.0	-	-
Standart	-	-	1.0

Tüpler iyice karıştırıldı. 10 dk oda ısısında bekletildi.

Fenol Ayırıcı	4.0	4.0	4.0
---------------	-----	-----	-----

Tüpler vortekslendi, 55 °C'de 5 dk bekletildi. Musluk suyu altında soğutulup, 650 nm'de köre karşı absorbanslar okundu.

Protein seviyesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$\mu\text{g protein} / \text{ml} = (\text{Örnek Abs.} / \text{Standart Abs.}) \times \text{Standart Konsant.} \times \text{Sulandırma}$
 $\mu\text{g protein değerleri hesaplamalar sırasında g protein'e çevrildi.}$

3.2.13. Pankreas dokusunun histopatolojik analizi

Histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan pankreas dokuları % 10'luk tamponlu formalin solüsyonunda 48-72 saat tespit edildikten sonra, akan çeşme suyunda 12 saat yıkandı. Rutin doku takibinde alkol (70°, 80°, 90°, 96 °ve 100°) ve ksilol serilerinden geçtikten sonra parafinde bloklanarak her bloktan 4 mµ kalınlığında kesitler alınıp lam üzerinde preparatlar hazırlandı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar Hematoksilen Eozin (HE) ile boyanarak ve ışık mikroskobu ile incelendi. Gerekli alanlar resimlendi (Avcı ve ark., 2020).

3.3. İstatistik Analiz

Çalışmada özellikler (değişkenler) bakımından grup ortalamalarını karşılaştırmada, 'SPSS statistics 23' porgramında, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve varyans analizini takiben, gruplar arasındaki istatistiksel önemi belirlemede Duncan testi uygulandı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. *F. Rigidula* Ekstraktının Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktar Sonuçları

Tablo 5 : *Ferula rigidula* ekstraktının toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları

	Toplam fenolik miktarları ($\mu\text{g GA/mg}$ ekstre) [†]	Toplam flovonoid miktarı ($\mu\text{g KE/mg}$ ekstre) [‡]
<i>F. rigidula</i>	22.37 $\pm$ 0.60	16.87 $\pm$ 2.06

Değerler üç paralel ölçüm sonrası ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi.

[†] GA, gallik asit eşdeğeri

[‡] KE, kersetin eşdeğeri

F. rigidula ekstraktının toplam fenolik bileşik miktarı 22.37 $\pm$ 0.60 $\mu\text{g GA/mg}$ ekstre ve toplam flavonoid miktarı 16.87 $\pm$ 2.06 $\mu\text{g KE/mg}$ ekstre olarak belirlendi.

4.2. *F. Rigidula* Ekstraktının CUPRAC Yöntemi İle Antioksidan Aktivite Sonuçları

F. rigidula ekstraktının konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivitesinin arttığı, standart olarak kullanılan α -TOC'den yüksek, BHT (10 $\mu\text{g/ml}$ hariç) ve BHA'dan düşük olduğu görüldü.

Tablo 6: *F. rigidula* ekstraktı, BHT, BHA ve α -TOC'un CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları

	<i>F. rigidula</i>	BHT	BHA	α -TOC
10 $\mu\text{g/ml}$	0.17 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.03
25 $\mu\text{g/ml}$	0.31 $\pm$ 0.01	0.33 $\pm$ 0.01	0.48 $\pm$ 0.06	0.18 $\pm$ 0.01
50 $\mu\text{g/ml}$	0.55 $\pm$ 0.04	0.62 $\pm$ 0.01	0.89 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.05
100 $\mu\text{g/ml}$	1.03 $\pm$ 0.04	1.24 $\pm$ 0.05	1.63 $\pm$ 0.03	0.31 $\pm$ 0.01

4.3. *F. Rigidula* Ekstraktının DPPH Serbest Radikali Süpürme Aktivite Sonuçları

F. rigidula ekstraktının konsantrasyona bağlı olarak DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin arttığı, standard olarak kullanılan α -TOC ve BHT'den yüksek olduğu, BHA'ya yakın olduğu görüldü.

Tablo 7: *F. rigidula* ekstraktı, BHT, BHA ve α -TOC'un DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi % ihibasyon sonuçları

	<i>F. rigidula</i>	BHT	BHA	α -TOC
50 μ g/ml	90.23 $\pm$ 2.94	88.09 $\pm$ 3.01	92.80 $\pm$ 2.44	80.55 $\pm$ 4.11
100 μ g/ml	90.83 $\pm$ 1.83	89.53 $\pm$ 2.77	92.82 $\pm$ 2.56	83.60 $\pm$ 2.72
250 μ g/ml	92.21 $\pm$ 1.32	91.63 $\pm$ 4.96	92.90 $\pm$ 2.87	86.53 $\pm$ 0.45
500 μ g/ml	92.64 $\pm$ 3.02	92.05 $\pm$ 1.92	94.26 $\pm$ 1.88	88.94 $\pm$ 2.90

4.4. Grupların canlı ağırlıkları

Çalışmanın 1. günü ve 28. günü ortalama rat ağırlıkları ile aynı gruptaki ortalama ağırlığın yüzde değişimi hesaplandı.

Tablo 8: Grupların canlı ağırlık düzeyleri (gr)

Gruplar (n =7)	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7
A	235	242	238	245	236	248	245
B	250	183	187	186	184	264	262
%	+6.4	-24.4	-21.4	-24.1	-22.0	+6.4	+6.9

A: Çalışmanın 1. günü canlı ağırlık ortalamaları (gr), B; Çalışmanın 28. günü canlı ağırlık ortalamaları (gr), %; Çalışma sonrası aynı grupta ağırlığın değişim oranı (%). **Grup 1:** Normal kontrol, **Grup 2:** Diyabet kontrol, **Grup 3:** Diyabet+*Ferula rigidula* (250 mg/kg), **Grup 4:** Diyabet+*Ferula rigidula* (500 mg/kg), **Grup 5:** Diyabet+glibenklamid (5 mg/kg), **Grup 6:** *Ferula rigidula* kontrol (250 mg/kg), **Grup 7:** *Ferula rigidula* kontrol (500 mg/kg).

Kontrol grubunda, çalışma sonu grup ortalama ağırlığında % 6.4 lik bir artış kaydedildi. Diyabet grubu ortalama rat ağırlığında ise % 24.4 oranında bir azalma saptandı. Diyabet ile birlikte *F. rigidula* ekstraktının (250, 500 mg/kg) ve glibenklamidin (5 mg/kg) uygulandığı grupların çalışma sonu ortalama ağırlıklarında, sırasıyla, % 21.4, % 24.1 ve % 22.0 oranında bir azalma olduğu belirlendi. *F. rigidula* ekstraktının uygulandığı Grup 6 ve 7’ de sırasıyla % 6.5 ile % 6.9’ luk bir artış olduğu bulundu.

4.5. Grupların serum biyokimyasal parametre düzeyleri

Tablo 9: Grupların serum biyokimyasal parametrele sonuçları

	AKŞ (mg/dl)	İNS (mIU/L)	KOL (mg/dl)	TG (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
Grup 1	110.67±5.24 ^a	4.81±0.19 ^a	35.64±2.39 ^b	37.8±4.42 ^b	19.68±1.34 ^b	6.82±2.21 ^{c,d}
Grup 2	416.71±26.80 ^c	2.10±0.05 ^c	53.94±1.23 ^a	51.98±4.16 ^a	27.38±1.20 ^a	17.98±1.91 ^a
Grup 3	406.29±27.83 ^{b,c}	2.88±0.14 ^{b,c}	37.18±3.52 ^b	41.72±4.36 ^{a,b}	18.80±1.35 ^b	10.01±1.83 ^{b,c,d}
Grup 4	347.14±29.02 ^b	3.50±0.15 ^b	38.40±2.78 ^b	42.16±4.04 ^{a,b}	17.78±2.40 ^b	12.19±1.36 ^{b,c}
Grup 5	382.40±16.78 ^{b,c}	3.23±0.11 ^b	37.16±1.66 ^b	41.90±2.73 ^{a,b}	14.64±1.68 ^b	14.14±1.81 ^{a,b}
Grup 6	91.67±2.80 ^a	4.51±0.29 ^a	30.36±2.31 ^b	36.50±2.30 ^b	17.62±1.57 ^b	5.44±1.74 ^d
Grup 7	107.86±5.09 ^a	4.53±0.66 ^a	32.64±2.72 ^b	37.24±4.69 ^b	19.66±0.72 ^b	5.53±2.16 ^d

a,b,c: Her bir sütundaki farklı harf gruplar arasındaki istatistiksel farkı ifade eder (P<0,05). **AKŞ:** Açlık Kan Şekeri, **İNS:** İnsülin, **KOL:** Kolesterol, **TG:** Trigliserit. **Grup 1:** Normal kontrol, **Grup 2:** Diyabet kontrol, **Grup 3:** Diyabet+*Ferula rigidula* (250 mg/kg), **Grup 4:** Diyabet+*Ferula rigidula* (500 mg/kg), **Grup 5:** Diyabet+glibenklamid (5 mg/kg), **Grup 6:** *Ferula rigidula* kontrol (250 mg/kg), **Grup 7:** *Ferula rigidula* kontrol (500 mg/kg).

Elde edilen serum açlık kan şekeri düzeyi açısından karşılaştırıldığında, grup 1’e göre grup 2, 3, 4 ve 5 ‘te istatistik olarak anlamlı derecede artış olduğu belirlendi (P<0.05). Grup 2’ye göre grup 4 ve 5’teki azalmanın istatistiki olarak önemli olduğu bulunurken (P<0.05), grup 2, 3 ve 5 arasındaki farkın önemli olmadığı görüldü (P>0.05).

Serum insülin düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, grup 1’e göre, grup 2, 3, 4 ve 5’ te istatistik olarak anlamlı derecede düşüş olduğu tespit edildi (P<0.05). Grup 2’ göre grup 4 ve 5 arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğu bulunurken (P<0.05), grup 2 ve 3 arasındaki farkın önemli olmadığı belirlendi (P>0.05).

Kolesterol ve HDL düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, grup 1' göre grup 2' de istatistik olarak anlamlı derecede artış olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Grup 1 ile grup 3, 4 ve 5 arasındaki farkın istatistiki bir fark görülmedi ($P>0.05$).

Trigliserit düzeyi açısından karşılaştırıldığında, grup 1' e göre grup 2' de istatistik olarak anlamlı derecede artış tespit edildi ($P<0.05$). Grup 3, 4 ve 5 değerlerinin hem grup 1 hem de grup 2 ile arasında istatistiki bir fark olmadığı belirlendi ($P>0.05$).

LDL düzeyi açısından karşılaştırıldığında, grup 1' e göre grup 2 ve 5' te istatistik olarak önemli derecede artış olduğu görüldü ($P<0.05$). Grup 1 ile grup 3 ve 4 arasındaki farkın istatistiki olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($P>0.05$).

Bakılan parametreler açısından kontrol grubu ile *F. rigidula* ekstrakt kontrol grupları karşılaştırıldığında; grup 1 ile grup 6 ve 7 arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı bulundu ($P>0.05$).

4.6. Deney Gruplarının Pankreas Dokusu Analiz Sonuçları

Tablo 10: Deney gruplarının pankreas dokusu oksidatif stres parametreleri analiz sonuçları

	MDA (nmol/g)	CAT (U/mg)	GSH-Px (U/mg)	SOD (ng/gr)	GSH (μmol/gr)
Grup 1	0.86±0.04 ^d	3.21±0.20 ^a	536.95±41.02 ^a	10.24±0.78 ^a	22.99±0.16 ^a
Grup 2	3.11±0.12 ^a	1.07±0.05 ^c	140.91±12.91 ^c	2.67±0.26 ^c	17.2±0.18 ^c
Grup 3	2.16±0.04 ^b	1.87±0.09 ^b	327.21±8.26 ^b	6.26±0.16 ^b	20.33±0.48 ^b
Grup 4	1.69±0.06 ^c	1.69±0.11 ^b	154.20±6.75 ^c	2.95±0.13 ^b	19.69±0.16 ^b
Grup 5	2.06±0.08 ^b	1.48±0.12 ^b	251.07±3.95 ^b	4.80±0.08 ^b	19.22±0.14 ^b
Grup 6	0.99±0.02 ^d	3.37±0.16 ^a	555.91±37.28 ^a	9.50±1.11 ^a	23.37±0.73 ^a
Grup 7	1.02±0.08 ^d	3.24±0.19 ^a	560.99±52.56 ^a	10.36±0.63 ^a	23.74±0.59 ^a

a,b,c: Her bir sütundaki farklı harf gruplar arasındaki istatistiksel farkı ifade eder ($P<0,05$). MDA: Malondialdehit, CAT: Katalaz, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, SOD: Süperoksit dismutaz, GSH: Glutasyon. **Grup 1:** Normal kontrol, **Grup 2:** Diyabet kontrol, **Grup 3:** Diyabet+*Ferula rigidula* (250 mg/kg), **Grup 4:** Diyabet+*Ferula rigidula* (500 mg/kg), **Grup 5:** Diyabet+glibenklamid (5mg/kg), **Grup 6:** *Ferula rigidula* kontrol (250 mg/kg), **Grup 7:** *Ferula rigidula* kontrol (500 mg/kg).

Pankreas dokusu MDA düzeyinde, grup 1' e göre grup 2, 3, 4 ve 5' te istatistik olarak anlamlı derecede artış olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Grup 2' ye göre grup 3, 4 ve 5' teki azalmanın istatistiki olarak önemli olduğu bulundu ($P<0.05$). Grup 1 ile grup 6-7 MDA düzeyleri arasında istatistik önem olmadığı görüldü ($P>0.05$).

Pankreas dokusu CAT enzim aktivitesi ve GSH seviyesi karşılaştırıldığında, grup 1' e göre grup 2, 3, 4 ve 5' te istatistik olarak anlamlı derecede düşüş olduğu belirlendi ($P<0.05$). Grup 2' ye göre grup 3, 4 ve 5' teki artışın istatistiki olarak önemli olduğu bulundu ($P<0.05$). CAT enzim aktivitesi ve GSH seviyesi için grup 3, 4 ve 5 arasındaki farkın önemli olmadığı tespit edildi ($P>0.05$).

Pankreas dokusu GSH-Px ve SOD enzim aktiviteleri açısından, grup 1' e göre grup 2, 3, 4 ve 5' te istatistik olarak anlamlı derecede düşüş olduğu tespit edildi ($P<0.05$). GSH-Px enzim aktivitesi açısından, grup 2' ye göre grup 3 ve 5' teki artış ve SOD enzim aktivitesinin ise grup 2 ye göre grup 3, 4 ve 5' deki artışın istatistiki olarak önemli olduğu bulundu ($P<0.05$). Grup 2 ile 4 ve grup 3 ile 5 arasındaki GSH-Px enzim aktivitesi açısından önemli bir fark olmadığı belirlendi ($P>0.05$).

Bakılan parametreler açısından kontrol grubu ile *F. rigidula* ekstrakt kontrol grupları karşılaştırıldığında; pankreas dokusunda grup 1 ile grup 6 ve 7 arasındaki farkın istatistik olarak önemli olmadığı bulundu ($P>0.05$).

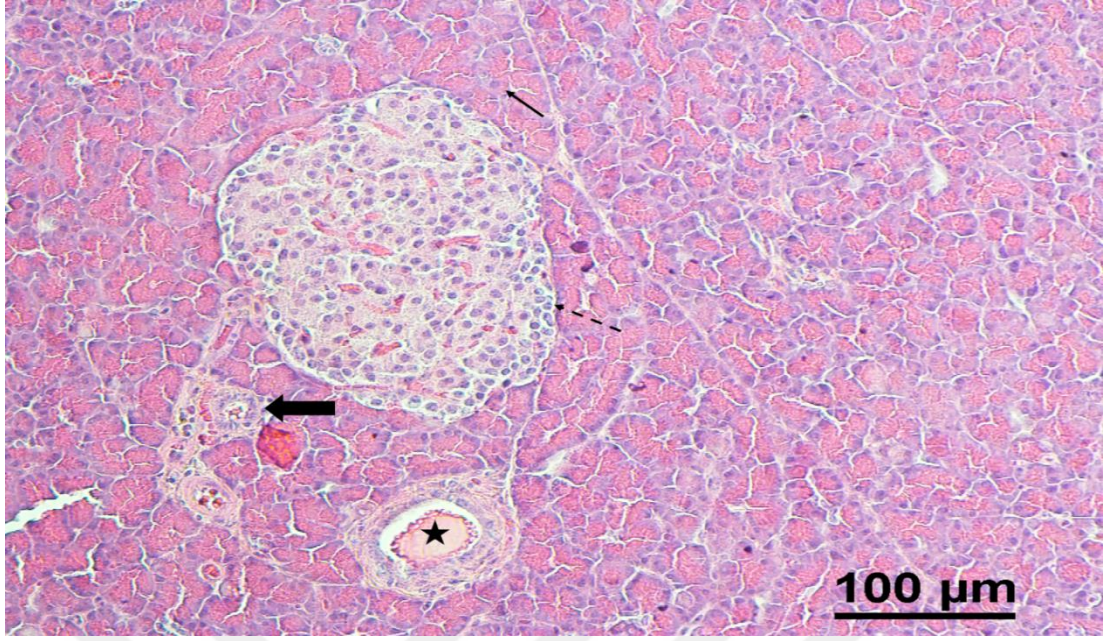
4.7. Grupların Pankreas Dokusu Histopatoloji Sonuçları

Grup 1' de ratların pankreas dokusunun normal histopatolojik yapıya sahip olduğu gözlemlendi. Asiner hücreler piramidal ve asidofilik boyanmış şekildeydi. Adacık hücreleri poligonal şekilde olduğu gözlemlendi. Kan damarları ve pankreas kanalları normaldi.

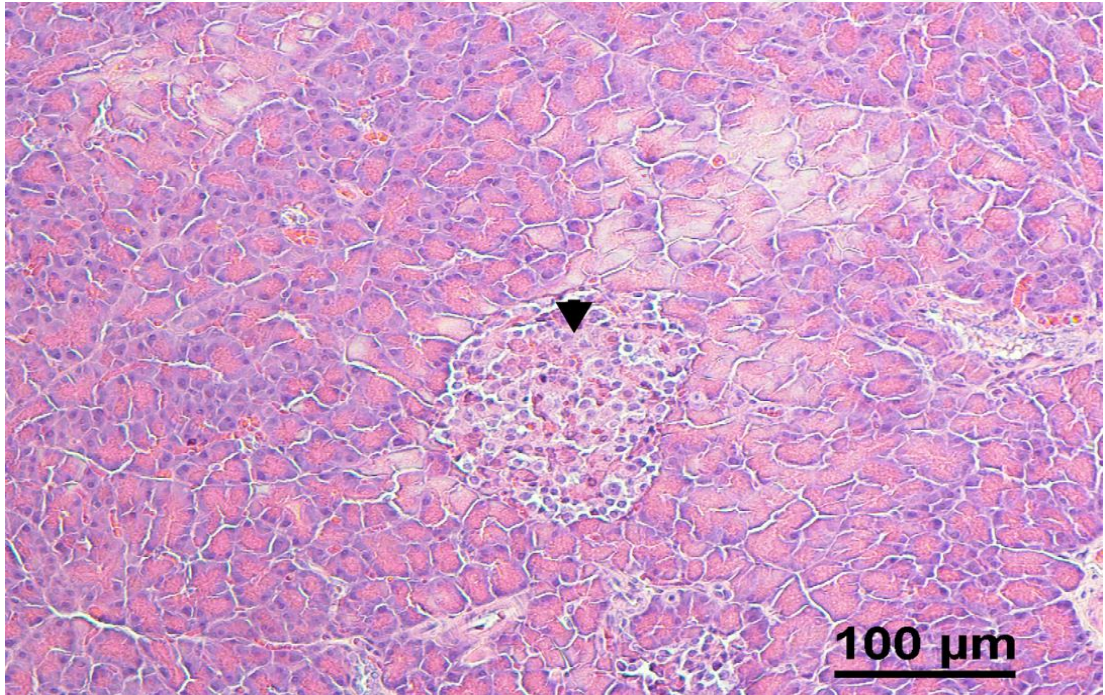
Grup 2 ve 3' teki ratların pankreas dokusunda, pankreas Langerhans adacığında küçülme ve yoğun nekrotik hücreler olduğu belirlendi.

Grup 4 ve 5' teki ratların pankreas dokusunda, pankreas Langerhans adacığında orta derecede nekrotik hücreler olduğu tespit edildi.

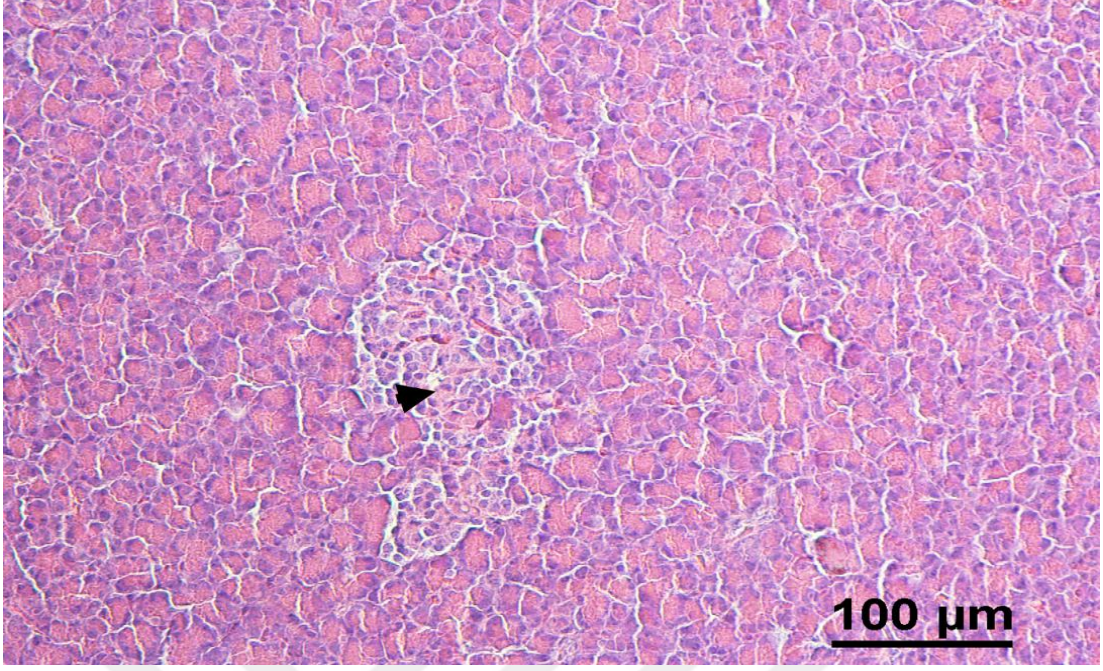
Grup 6 ve 7' deki ratların pankreas dokusunun normal histopatolojik yapıda olduğu gözlemlendi.



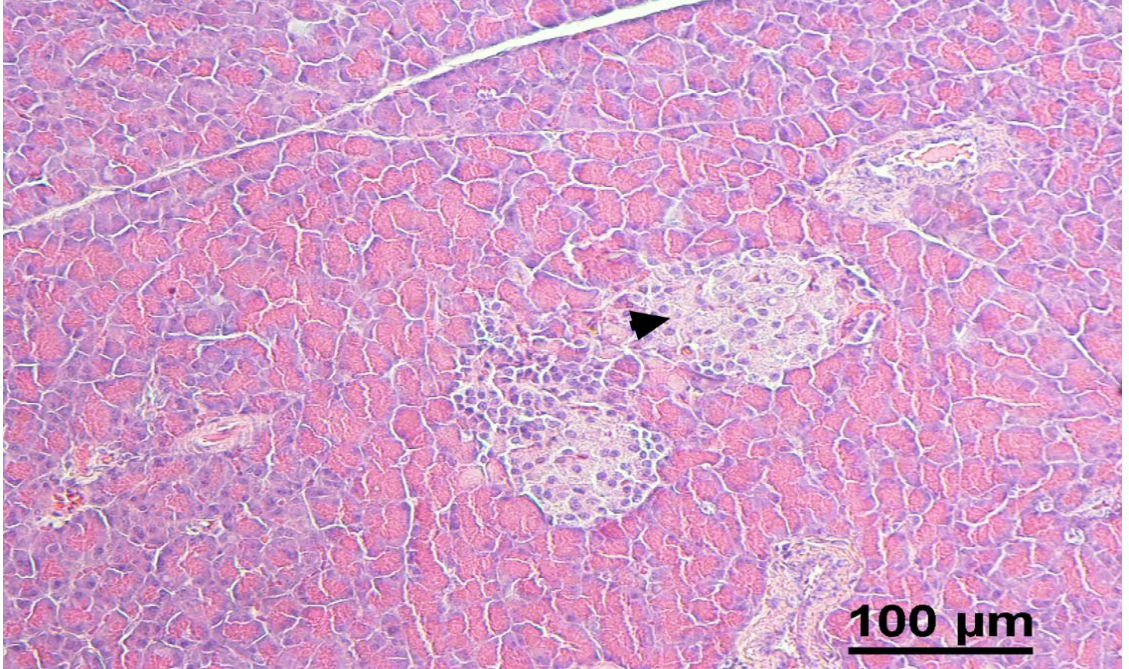
Şekil 13: Kontrol grubu pankreas dokusu histopatolojik yapısı. Pankreas normal histopatolojik yapıda. Piramidal şekilli ve asidofil boyalı asiner hücreler (ince ok), normal yapıda Langerhans adacığı (kesikli ok), damar (yıldız) ve salgı kanalı (kalın ok). H-E. 200x.



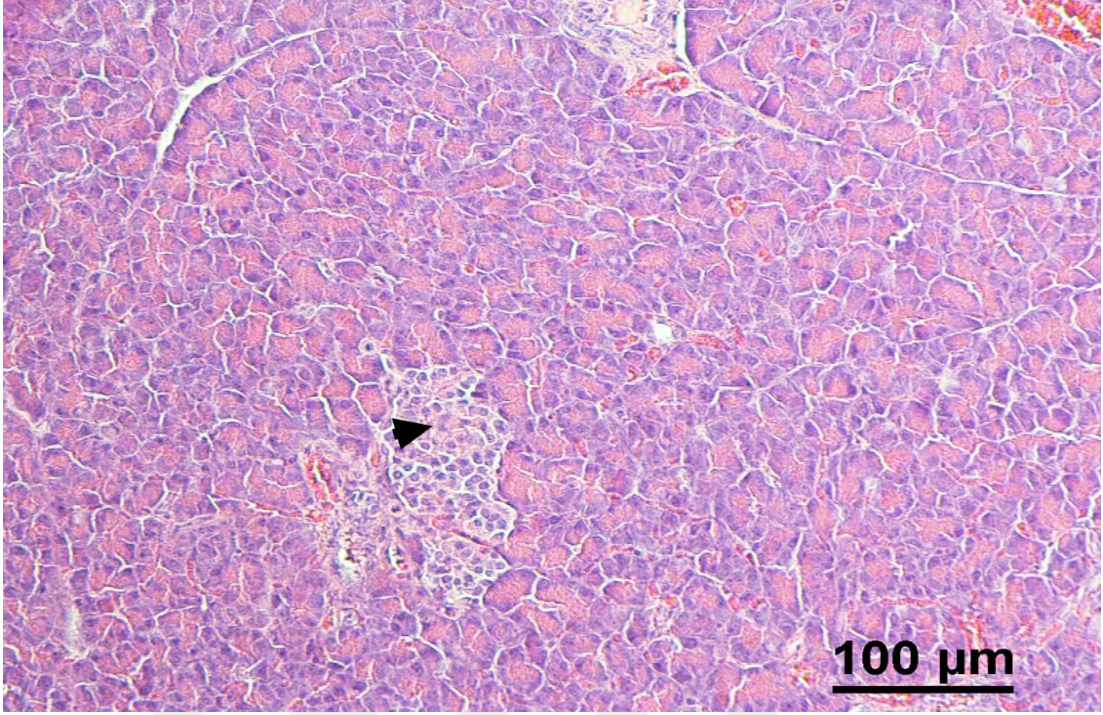
Şekil 14: Diyabet grubu pankreas dokusu histopatolojik yapısı. Pankreas Langerhans adacığı küçülmüş ve yoğun nekrotik hücreler (ok ucu). H-E. 200x.



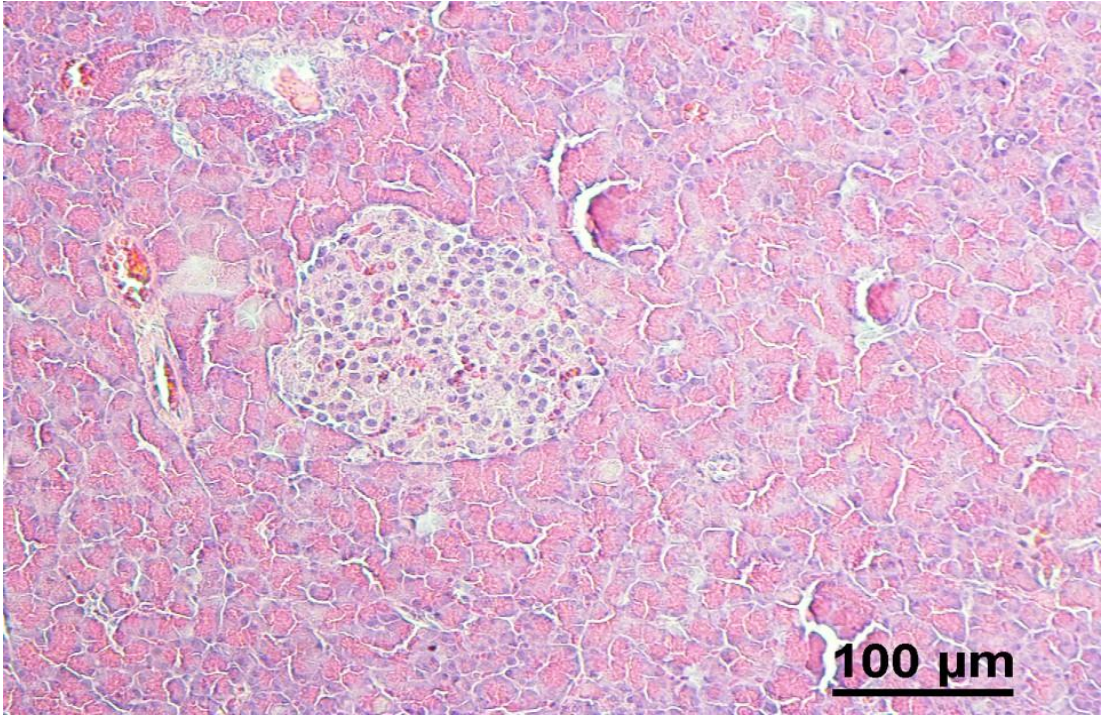
Şekil 15: Diyabet + *Ferula rigidula* ekstraktı 250 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı. Langerhans adacığı küçülmüş ve yoğun nekrotik hücreler (ok ucu). H-E. 200x



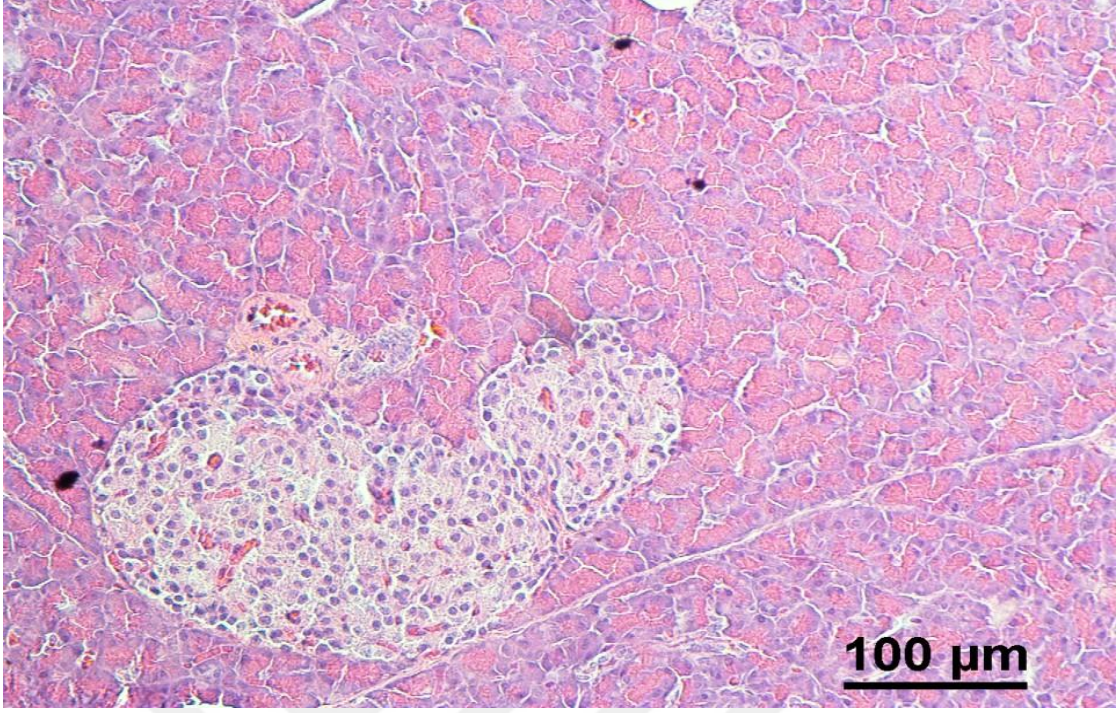
Şekil 16: Diyabet + *Ferula rigidula* ekstraktı 500 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı. Pankreas Langerhans adacığında orta derecede nekrotik hücreler (ok ucu). H-E. 200x.



Şekil 17: Diyabet + Glibenklamid 5 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı. Pankreas Langerhans adacığında orta derecede nekrotik hücreler (ok ucu). H-E. 200x.



Şekil 18: *Ferula rigidula* ekstraktı 250 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı. Pankreas dokusu normal histopatolojik yapıda. H-E. 200x.



Şekil 19: *Ferula rigidula* ekstraktı 500 mg/kg uygulanan grup pankreas dokusu histopatolojik yapısı. Pankreas dokusu normal histopatolojik yapıda. H-E. 200x.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde ve dünyada, eski zamanlardan günümüze kadar, birçok bitkinin geleneksel tedavi yöntemleri ve alternatif tıpta kullanıldıkları bilinmektedir. Apiaceae familyasında yer alan farklı bitkilerle ilgili yapılan birçok bilimsel araştırmalar literatürde yer almaktadır (Abu-Zaiton 2010). Apiaceae familyasına ait farklı bitkilerin gaz giderici, spazmodik gastrointestinal şikayetler, şişkinlik, mide şikayetleri, hazımsızlık, iştahsızlık, diyabet, tansiyon düzenleyici gibi farklı şikayetlerin giderilmesinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Arıtuluk ve ark., 2016; Özdek, 2017). Apiaceae familyasından bitkiler ile yapılan farmakolojik ve biyolojik çalışmalarda, antimikrobiyal (Köse ve Ocak, 2020), antiviral, antifungal (Kaval ve Tonçer, 2020), kanser kemopreventif (Cinar ve ark., 2020), antidiyabetik (Abu-zation, 2010; Özdek, 2017) ve tansiyon düzenleyici (Esmaceli ve ark., 2020) özellikleri incelenmiştir.

F. rigidula Apiaceae familyasının bir üyesidir. Bu bitkinin Apiacea familyasının diğer üyeleri gibi, geleneksel tedavilerde kullanıldığı bildirilmiştir (Arıtuluk ve ark., 2016; Köse ve Ocak 2018). Bulut ve ark., (2014)'nın, etnofarmakolojik bilgileri, yerel halktan açık ve yarı yapılandırılmış görüşmeler yoluyla elde ettikleri bulgularda, geleneksel tedavi amaçlı, *F. rigidula* bitkisinin toprak üstü kısmının diyabet ve yüksek kolesterol için kullanıldığını ve olumlu etkiler alındığını bildirmişlerdir. Ancak bu bitki ile ilgili toksisite ve antidiyabetik etkisi üzerine yapılan herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle sunulan çalışmada *F. rigidula* ekstraktının toksisite çalışması yapılarak öldürücü dozunun (LD₅₀) tespit edilmesi ve antidiyabetik etkisinin araştırılması amaçlandı.

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulmasıyla meydana gelen oksidatif stres, diyabetin oluşmasında ve seyrinde önemli bir yer almaktadır. Oksidatif stresin oluşması sonucu ortaya çıkan serbest radikaller protein glikasyonu, glukoz oto-oksidasyonu ve ileri glikasyon son ürünlerinin (AGEs) birikmesi gibi sorunları oluşturarak, metabolik bozukluklara yol açar. Artan serbest radikaller pankreasın beta hücrelerinde insülin sekresyonunun azalmasına neden olur (Giribabu ve ark., 2014).

Serbest radikallerin diyabetin oluşumunda etkili olduğu anlaşıldıktan sonra diyabetin tedavisinde veya desteklenmesinde, antioksidan özelliklere sahip bitkilerin kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Antioksidanların oksidatif stresi baskıladığı ve oluşabilecek hücre hasarını önlediği yapılan farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Yusufoğlu ve ark., 2015; Özdek, 2017). Antioksidan savunma sistemini güçlendirmenin bir yolu da diyetle alınan mineraller, vitaminler ve doğal antioksidan bileşiklerdir. Doğal antioksidan bileşiklere isoflavonlar, flavonoidler, flavonlar, kumarinler, α - tokoferol, β -karoten, izokateşinler, antosiyaninler, kateşinler, C ve E vitaminleri örnek verilebilir (Jain ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda, bitkilerin içerdiği moleküllerin antioksidan savunmada etkili oldukları belirlenmiştir (Özdek, 2017; Jalili-Nik ve ark., 2019).

Bu moleküllerden fenolik bileşikler ve flavonoidler, metabolizmada doğal olarak meydana gelen serbest radikallerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırırlar (Özenç, 2011). Bu nedenle, bitkilerle yapılan birçok çalışmada, bitkinin toplam fenolik ve flavonoid içeriği araştırılmıştır (Zia-Ul-Haq ve ark. 2012; Özdek, 2017). Antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde β -karoten renk açılım, DPPH serbest radikali, ABTS katyon radikali ve süperoksit anyon radikali giderim ve CUPRAC yöntemleri gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (Ertaş ve ark., 2015). Yapılan araştırmalar, total fenolik ve flavonoid içerik seviyeleri ile antioksidan kapasite arasında bir paralellik olduğunu göstermiştir (Zia-Ul-Haq ve ark. 2012; Ertaş ve ark., 2015; Özdek, 2017).

Köse ve Ocak (2018), metil alkol, etil alkol ve aseton ekstraktlarında toplam fenolik içeriklerini sırasıyla 164.20, 100.24 ve 52.75 mgGE/kg liyofilize ekstrakt, DPPH radikal söndürme aktiviteleri ise sırasıyla 118.36, 120.21 ve 74.46 mgTEAC/kg liyofilize ekstrak olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak *F. rigidula* ekstraktının antibakteriyel ve antioksidan özelliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Sunulan bu çalışmada elde edilen verilerin yukarıdaki çalışmalarla bire bir kıyaslamak, analiz birimleri ve ekstrakt yöntemleri farklılığı nedeniyle mümkün değildir. Ancak bu sonuçları değerlendirilecek olursak, *F. rigidula* etil alkol ekstraktının total fenolik madde miktarı 22.37 ± 0.60 μ g GA/mg ve total flavonoid madde miktarı 16.87 ± 2.06 μ g KE/mg olarak tespit edildi. Bu sonuçlar bitkinin total fenolik ve flavonoid içeriğinin iyi seviyede olduğunu göstermektedir (Tablo 5).

Antioksidan aktiviteyi belirlemek için çalışılan CUPRAC yönteminde kullanılan *F. rigidula* ekstraktının 10, 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarının aktiviteleri sırasıyla 0.17 ± 0.02 , 0.31 ± 0.01 , 0.55 ± 0.04 ve 1.03 ± 0.04 olarak tespit edildi. Bu sonuçlar *F. rigidula* ekstraktının antioksidan aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak arttığını, standart olarak kullanılan α -TOC'dan yüksek olduğunu göstermektedir (Tablo 6).

DPPH yönteminde, kullanılan 50, 100, 250 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarının aktiviteleri sırasıyla 90.23 ± 2.94 , 90.83 ± 1.83 , 92.21 ± 1.32 ve 92.64 ± 3.02 şeklinde bulundu. Bu sonuçlar *F. rigidula* ekstraktının DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin yüksek olduğunu, standart olarak kullanılan α -TOC ve BHT'den yüksek olduğunu göstermektedir (Tablo 7).

Kimyasal ilaçların ekonomik maliyeti ve yan etkileri dolayısıyla alternatif ve tamamlayıcı tedavilere yönelmiştir (Krishnasamy ve ark., 2016). Bununla birlikte bitkisel tedaviler hız kazanmış diyabetin tedavisi ve komplikasyonlarında alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır. Diyabet hastalığında kullanılan birçok bitkinin olumlu etkiler gösterdiği ispatlanmıştır. Bu bitkilerin antioksidan özelliğe sahip olması, toksik etki göstermemesi ve doku hasarı oluşturmaması önemlidir (Yusufoğlu ve ark., 2015; Özdek, 2017).

Bitki ya da farklı maddelerin canlılarda kullanımında toksik etkiye sahip olmadığı kesinleştirilmelidir. Toksisite testi, endüstriyel kimyasallar, farmasötikler ve tüketici bakım ürünleri gibi çeşitli maddelerin güvenliğini veya tehlikelerini değerlendirmek için yapılır. Bu amaç için kullanılan farklı toksisite testleri bulunmaktadır. Mevcut toksisite test yöntemlerinin çoğu, laboratuvar hayvanlarının (örn. fareler, sıçanlar, tavşanlar) kullanımını içerir. Son yıllarda daha az deney hayvanı harcamak için Ekonomik İş Birliği ve Kalkınma Teşkilatı (OECD)'nin önerdiği toksisite yöntemleri kullanılmaktadır (Erkekoğlu ve ark., 2011; Bhandari ve ark., 2021). Sunulan çalışmada, amaçlanan diyabet çalışması yapılmadan önce OECD Test Yönergesi 425'e göre *F. rigidula* ekstraktının öldürücü dozunun 2000 mg/kg'dan fazla olduğu tespit edilmiştir. Diyabet tedavisi için uygulama dozu belirlenirken, *F. rigidula* ile aynı familyadan olan bitkilerin bilimsel araştırmalarda kullanılan dozları göz önünde bulundurularak 250-500 mg/kg olarak belirlendi (Jagtap ve Patil, 2010; Yusufoğlu ve ark., 2015).

DM toplumlarda görülen en yaygın hastalıklardan biridir. Gelişmiş ülkelerde de sık görülen bu hastalığın, görülme sıklığı her geçen on yılda %50 oranında artmaktadır (Shaw ve ark., 2010). DM insülin üretimi ve insülin salınımında meydana gelen bozukluk veya insülin direnciyle karakterize olan bunun sonucunda hiperglisemi ile sonuçlanan metabolik bir hastalıktır. Uzun devam eden hiperglisemi sonucunda vücudun farklı organlarında, özellikle de böbrek, kalp, göz, sinir sistemi ve kan damarlarında büyük hasar meydana gelebilir (Association, 2010).

Diyabet tedavisinde, metabolik dengeyi korumak için, egzersiz ve beslenme yöntemlerinin yanı sıra oral antidiyabetik ilaçlar ve insülin ile tedavi uygulanmaktadır (Çolak, 2012). Glibenklamid oral antidiyabetiklerden sülfonilüreler grubunda yer alır ve deneysel diyabet çalışmalarda referans ilaç olarak kullanılır. Bu gruptaki ilaçlar, pankreasın beta hücrelerindeki insülin salgılanmasını ve etkisini artırarak antihiperglisemik etki gösterirler (Attanayake ve ark., 2015).

Ülkemizde ve dünyada, Apiaceae familyasına ait, *F. duranii* ve *Diplotaenia turcica* gibi bitkiler, yöresel tedavilerde farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Yusufoğlu ve ark., 2015; Arıtuluk ve ark., 2016; Özdek, 2017). Yapılan incelemeler sonucunda, *F. rigidula*'nın diyabet üzerine etkisini araştıran bir literatüre rastlanmadı. Bu çalışmada, STZ ile deneysel olarak DM oluşturulan ratlarda, *F. rigidula* ekstraktının farklı dozlarda, serum biyokimyasal parametreler, pankreas dokusu oksidan ve antioksidan parametreler ile histopatolojisi üzerine etkileri ışığında değerlendirildi.

Deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan STZ, antibiyotik, antikanserojenik ve antitümoral özellikleri sahip toksik bir ajandır. STZ pankreas beta hücreleri üzerinde toksik etkilere sahiptir (Kurcer ve Karaoglu, 2012). STZ, pankreas beta hücrelerinde, reaktif karbonyum iyonları oluşumuna sebep olur. Oluşan bu reaktif karbonyum iyonları, DNA alkilasyonuna ve sonrasında DNA onarımında görevli poli (ADP-riboz) polimeraz, hücredeki nikotinamidadenindinükleotit (NAD) harcayarak, ATP kaynağını bloklamış olur. Enerji kaynağının tüketilmesi ile beta hücrelerinde nekroz oluşur. Ayrıca, STZ'ye bağlı oluşan DNA hasarında, STZ'nin oksidan etkisi ve nitrik oksit (NO) oluşumu etkilidir (Pabbidi ve ark., 2008; Kurcer ve Karaoglu, 2012).

Diyabet hastalığında, insülin sekresyonu azalır ya da insülin varlığına rağmen, oluşan insülin direnci nedeniyle kan glukoz düzeyi artar. Ancak hücre glukozu kullanamaz. Bu durumda, ihtiyaç duyulan enerji nedeniyle polifaji oluşur ve aşırı gıda tüketimi görülür. Diyabetli kişilerde fazla gıda alınmasına rağmen kilo alamama, hatta kilo kaybı tablosu görülmektedir. Hücrelere yeterince geçemeyen ve kan seviyesi artan glukoz, renal glukoz eşiği aşıldığı için böbreklerden atılır ve dolayısıyla glukozüri görülür. Glukozüri durumunda aşırı su kaybı ile gelişen poliüri, volüm azalmasına neden olur. Böylece susama merkezi olan hipotalamusun uyarılması sonucunda polidipsi oluşur. Poliüri nedeniyle elektrolit kaybı ve dehidrasyon oluşur. İnsülin yetersizliği ya da hücrelerde oluşan insülin direnci nedeniyle yağ ve protein kullanımı artar. Bu nedenle vücut ağırlığında büyük oranda kayıplar görülür (Çolak 2012). Yapılan farklı çalışmalarda, deneysel diyabet oluşturulan ratlarda vücut ağırlıklarında önemli oranda azalmalar tespit edilmiştir (Jagtap ve Patil, 2010; Özdek, 2017; Jalili-Nik ve ark., 2019).

Sunulan çalışmada, diyabet gruplarının hepsinde (grup 2, 3, 4 ve 5), çalışma sonu ortalama vücut ağırlığının, başlangıç ortalama vücut ağırlığına göre önemli oranda azaldığı, grup 2’de bu azalmanın % 24.4 olduğu belirlendi. Benzer şekilde, vücut ağırlığındaki azalmanın, STZ uygulanıp *F. rigidula* ekstraktı verilen grup 3’de % 21.4 ve grup 4’te % 24.1 aralığında olduğu tespit edildi (Tablo 8).

Diyabetes mellitus’ta, pankreasta insülin üreten beta hücrelerinde meydana gelen hasar nedeni ile hiperglisemik bir tablo oluşur (Pari ve ark., 2017). STZ enjeksiyonu sonucunda, beta hücre harabiyetine bağlı olarak, diyabet oluşturulan hayvanların kan örneklerinde, kontrol grubuna göre, serum insülin seviyesinin azaldığı (Giribabu ve ark., 2014; Attanayake ve ark., 2015) ve glukoz seviyesinin yükseldiği (Jagtap ve Patil, 2010; Akhlaghi ve ark., 2012; Abou Khalil ve ark., 2016) bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda, Apiacea familyasına ait olan *Cuminum cyminum* (Jagtap ve Patil, 2010), *Ferula gummosa-oleo* reçinesi (Jalili-Nik ve ark., 2019) ve *Petroselinum sativum* (Abou Khalil ve ark., 2016) bitkilerinin diyabetli ratlarda serum insülin seviyesini arttırdığı, glukoz seviyesini azalttığı belirtilmiştir. Bu literatür sonuçlarından farklı olarak diyabet ile birlikte *Petroselinum crispum* (Yanardağ ve ark., 2003), *Ferula assa foetida* (Akhlaghi

ve ark., 2012) ve *Eryngium carlinae* (Noriega-Cisneros ve ark., 2012) bitki ekstraktlarının seum glukoz seviyesinde değişiklik meydana getirmediği bulunmuştur.

Sunulan çalışmada, STZ'nin 45 mg/kg (ip) uygulamasını takiben, 72 saat sonra ölçülen açlık kan şekeri (AKŞ) seviyesinin 200 mg/dl'nin üzerinde olduğu ve insülin seviyesinin azaldığı tespit edildi. Bu veri, STZ'nin pankreas beta hücrelerinde tahribata yol açarak insülin sentezini azalttığına, buna bağlı olarak kandaki glukoz miktarını arttırdığına işaret eder. Elde ettiğimiz bu sonuç, yukarıdaki literatürler ile örtüşmektedir. Diyabet ile birlikte *F. rigidula* ekstraktının 250 mg/kg uygulanan grupta istatistiki olarak anlam göstermeyecek şekilde AKŞ seviyesinin azaldığı ve insülin seviyesinin arttığı belirlendi ($p>0.05$). *F. rigidula* ekstraktının 500 mg/kg uygulanan grupta diyabet grubuna göre AKŞ seviyesindeki azalmanın ve insülin seviyesindeki artışın anlamlı olduğu, yinede kontrol grubu ile aralarında anlamlı bir fark olduğu görüldü ($P<0.05$). Diyabet ile birlikte glibenklamid uygulanan grupta diyabet grubuna göre AKŞ seviyesindeki azalmanın anlamlı olmadığı insülin seviyesindeki artışın ise anlamlı olduğu tespit edildi. *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında AKŞ ve insülin seviyeleri açısından fark olmadığı bulundu (Tablo 9).

Diyabetes mellitus'un patogenezi sürecinde karbonhidrat metabolizmasının yanında lipid ve lipoprotein metabolizmasında bozulmaktadır. Diyabet hastalarında hipertrigliseridemi ve hiperkolesterolemi oldukça sık karşılaşılan durumlardır (Kazemian ve ark., 2015). Kan lipidleri seviyesinden sorumlu olan başlıca lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz enzimleri, insülin hormonunun etkisi altındadır. İnsülin seviyesinde görülen değişikliklerde kan lipid profilinde de etkilenme olduğu görülmektedir. İnsülin seviyesindeki azalma ile lipoprotein lipaz aktivitesi azalır, endojen trigliseritlerin bağlı olduğu VLDL ile ekzojen trigliseridleri taşıyan şilomikronların parçalanması sekteye uğrar. Karaciğerde meydana gelen VLDL'nin yanısıra periferde şilomikron ve VLDL'nin parçalanmasında görülen azalma nedeniyle kan trigiliserid düzeyinde artma görülür. LDL, diğer lipoprotein türleri içerisinde yüksek oranda aterosjenik olma özelliğine sahiptir. HDL ise aterosiklorozu karşı koruyucu lipoprotein fraksiyonu olarak değerlendirilmektedir. HDL yapımında hepatik trigliserid lipaz aktivitesi önemlidir. Bu enzim HDL içinde bulunan trigliseridleri hidrolize eder. İnsulin, lipoprotein lipaz

aktivitesini artırdığı gibi hepatik trigliserid lipaz aktivitesini de artırır (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Diyabetin kan lipit profili üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda serum trigliserit, kolesterol ve LDL seviyelerinin arttığı, HDL seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir (Giribabu ve ark., 2014; Samarghandian ve ark., 2015). Bu sonuçlardan farklı olarak Karaca ve ark. (2010), diyabette trigliserit ve kolesterol seviyelerinin azaldığını bulmuşlardır. Apiaceae familyasından farklı bitkilerin, diyabet oluşturulan ratlarda, serum lipid profili üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Yusufoglu ve ark. (2015), deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda *Ferula duranii* kök ekstraktının verilmesiyle, diyabetle birlikte artan total kolesterol, trigliserit ve LDL seviyesinin azaldığını, bunun yanında diyabetle azalan HDL seviyesinde ise artma olduğunu tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Jalili-Nik ve ark., (2019) deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda *Ferula gummosa-oleo reçinesinin* verilmesiyle artan total kolesterol, trigliserit, LDL ve HDL seviyelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte Akhlaghi ve ark. (2012) *Ferula assafoetida* bitkisi ile yaptıkları çalışmada, diyabetli ratlarda trigliserid, kolesterol, HDL kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerinde önemli bir değişikliğin olmadığını tespit etmişlerdir.

Sunulan çalışmada, diyabet grubunda kolesterol, trigliserit ve HDL ve LDL düzeylerinin kontrollere kıyasla önemli şekilde arttığı belirlendi ($P<0.05$). Diyabet ile birlikte *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg ve glibenklamid uygulanan gruplarda kolesterol ve HDL seviyelerinin azaldığı, kontrol grubu ile istatistiki olarak fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). Trigliserit seviyesi açısından kontrol ve diyabet grupları ile *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg ve glibenklamid uygulanan gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulundu ($p>0.05$). Kontrol grubuna göre diyabet ve diyabet ile birlikte glibenklamid uygulanan gruplarda LDL düzeyinin önemli şekilde arttığı belirlendi ($P<0.05$). LDL seviyesi açısından Diyabet ile birlikte kontrol ve *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg uygulanan gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında kolesterol, trigliserit ve HDL ve LDL seviyeleri açısından fark olmadığı bulundu (Tablo 9).

STZ indüklenmiş diyabetli ratlarda oluşan serbest radikaller sonucu oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stres durumunda geçiş elementleri yardımıyla glikozdan ketoaldehit ve süperoksit radikali oluşur. Bunlardan sonra sırasıyla hidrojen peroksit ile hidroksil radikali meydana gelir (Abou Khalil ve ark., 2016). Serbest oksijen radikalleri sonucu lipid peroksidasyonu oluşur ve hücre fonksiyonları zarar görür. Lipid peroksidasyonu sonucu malondialdehit (MDA) oluşan ürünlerden bir tanesidir. MDA seviyesi oksidatif stres belirlemede önemli bir parametredir (Roy ve ark., 2016). Deneysel diyabet oluşturulmuş ratlarda ve diyabet hastalarında serbest oksijen radikalleri ile lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyojisinde ve ilerlemesinde önemli olduğu belirtilmiştir (Özdek, 2017). Apiacea familyasından *Cuminum cyminum* bitki ekstraktının, diyabetik rat pankreasında artan MDA seviyesini önemli oranda azalttığını, kontrol grubu MDA seviyesi ile arasında fark olmadığını tespit edilmiştir (Jagtap ve Patil, 2010). Yusufoglu ve ark. (2015), deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda *Ferula duranii* kök ekstraktının verilmesiyle pankreas ve karaciğer dokusunda artan MDA seviyesinin azaldığını bulmuşlardır. Özdek, (2017), *Diplotaenia turcica* kök ekstraktının verilmesiyle diyabetik ratların pankreas dokusunda artan MDA seviyesinin azaldığını tespit etmiştir.

Bu tez çalışmasında, yukarıdaki literatür sonuçlarını destekleyecek şekilde, diyabet oluşturulan grupta kontrol grubuna göre, pankreas dokusu MDA seviyesinin önemli şekilde arttığı gözlemlendi ($P<0.05$). Diyabet grubuna göre, diyabet ile birlikte *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg ve glibenklamid uygulanan gruplarda MDA seviyesinin önemli şekilde azaldığı, azalmanın en fazla *F. rigidula* ekstraktının 500 mg/kg uygulanan grupta olduğu, yinede kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Pankreas dokusunda MDA seviyesindeki bu önemli düşüşün, *F. rigidula* ekstraktının, diyabete bağlı gelişen oksidatif hasara karşı savunmada, antioksin özelliğine bağlı olarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında MDA seviyesi açısından fark olmadığı bulundu ($p>0.05$). Bu sonuç *F. rigidula* ekstraktının kullanılan dozlarda pankreas dokusunda oksidatif strese neden olmadığını gösterir (Tablo 10).

Antioksidan enzimler, serbest radikalleri daha zararsız ya da etkisiz hale getirmek için kullanılır. Böylece metabolizmayı oksidatif strese karşı korurlar. Antioksidan savunma mekanizmasının ilk basamağını oluşturan SOD, hem sitozol hem de mitokondride süperoksit radikallerinin zararlı etkilerini azaltmak için H_2O_2 dönüşümünü katalizler. Diyabet oluşması sonucu serbest oksijen radikallerinin dismutasyonu SOD enzimi tarafından yapılır. Aynı zamanda bu serbest radikaller SOD enziminin protein yapısı üzerinde birtakım hasarlar meydana getirir (Gomathi ve ark., 2013). Bir hemoprotein olan CAT, önemli miktarda H_2O_2 'nin detoksifikasyonundan sorumludur. GSH-Px enzimi düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında daha etkilidir. CAT temel olarak hücre membranının hidrofilik kısımlarında etkili iken, GSH-Px enzimi daha çok sitozol ve mitokondride etkilidir. GSH, hücre içi enzimatik olmayan antioksidan maddedir. Peroksitler ve serbest radikallerle direk tepkimeye girerek, oksidatif stres sonucu oluşacak oksidatif hasarın oluşumunu engeller. GSH radikal kaynaklı hasara karşı koyarken, antioksidan enzimlere substrat olarak görev yapar ve bir radikal tutucusu gibi davranır. GSH'ın, H_2O_2 ve okside lipidler ile reaksiyona girerek okside glutatyon (GSSG) formuna geçişini sağlayan GSH-Px enzimi, oksidatif stresi baskılamada önemli rol oynar (Akkuş, 1995).

Yapılan çalışmalarda, pankreas dokusunda antioksidan madde seviyesi ve enzim aktiviteleri ile ilgili farklı sonuçlara rastlanmıştır. Yusufoglu ve ark. (2015) ve Özdek (2017), kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında, STZ indüklenmiş ratların pankreas dokusunda, GSH-Px, CAT, SOD enzim aktivitelerinin ve GSH seviyesinin azaldığını bildirmişlerdir. Yang ve Cherian (1994) ise sadece SOD aktivitesini değerlendirerek söz konusu enzim aktivitesinde herhangi bir değişikliğin olmadığını bulmuşlardır. Bir diğer çalışmada Shukla ve ark. (2007), kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında, STZ ile indüklenmiş ratların pankreas dokusunda, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir. Yine bu çalışmalarda; Yusufoglu ve ark. (2015) *Ferula duranii* kök ekstraktının, Özdek, (2017), *Diplotaenia turcica* kök ekstraktının kullanılması ile karaciğer ve pankreas dokusunda azaldığını belirttikleri GSH seviyesi ile SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinin önemli oranda arttığını tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise, diyabetle azalan pankreas dokusu SOD ve CAT enzim aktivitelerinin

Cetraria islandica ve *Pseudevernia furfuracea* bitki ekstraktlarının verilmesi ile etkilendiği belirtilmiştir (Çolak, 2012).

Bu araştırmada, kontrol grubuna göre, diyabet grubu pankreas dokusu CAT, GSH-Px, SOD, enzim aktiviteleri ve GSH seviyesinin önemli oranda azaldığı belirlendi ($P<0.05$). Bu sonuç, yukarıdaki çalışmaların verileri ile paralellik göstermiş, böylece diyabetli grupların pankreas dokusunda antioksidan seviye ve/veya enzim aktivitelerin azaldığı ortaya konulmuştur. Diyabet grubuna göre, diyabetle birlikte *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg ve glibenklamid uygulanan gruplarda, CAT, GSH-Px (500 mg/kg hariç), SOD enzim aktiviteleri ve GSH seviyesinin istatistiki bakımdan anlamlı şekilde arttığı ($P<0.05$), gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığı ($p>0.05$), yinede kontrol grubundan düşük olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Diğer taraftan, CAT, GSH-Px ve SOD enzim aktiviteleri artışında *F. rigidula* ekstraktının 250 mg/kg'nın daha etkili olduğu görüldü. Pankreas dokusunda antioksidan parametrelerdeki bu artış, *F. rigidula* ekstraktının serbest radikalleri süpürücü ve oksidatif strese karşı koruyucu etkisinden kaynaklanmış olabilir. *F. rigidula* ekstraktının 250-500 mg/kg uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında CAT, GSH-Px, SOD enzim aktiviteleri ve GSH seviyesi açısından fark olmadığı bulundu (Tablo 10).

STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda, histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemelerde önemli patolojik bulgulara rastlandığı bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda, pankreas Langerhans adacıklarında atrofi, beta hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz bulguları tespit edilmiştir (Bolkent ve ark., 2005; Coskun ve ark., 2005; Gomathi ve ark., 2013). Sunulan çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabet grubunda pankreas Langerhans adacıklarının boyutunun azaldığı ve yoğun nekrotik hücreler olduğu gözlemlendi. *F. rigidula* ekstraktı 250 mg/kg verilen grupta diyabet grubuna benzer şekilde pankreas Langerhans adacıklarının boyutunun azaldığı ve yoğun nekrotik hücreler olduğu tespit edildi. *F. rigidula* ekstraktı 500 mg/kg ve glibenklamid verilen grupların pankreas Langerhans adacığında orta derecede nekrotik hücreler olduğu görüldü. *F. rigidula* ekstraktı 250-500 mg/kg verilen grupların pankreas dokusunun normal histopatolojik yapıda olduğu belirlendi.

Bitkilerle yapılan deneysel çalışmalarda, değişik yollarla antihiperglisemik etkileri gösterilmiştir. Bu bitkiler, insülin sentezini arttırma, insülin direncini düşürme, bağırsaklardan glukozun absorblanması, hücrelerde glukozun daha fazla tüketilmesi,

pankreas hücrelerinde rejenerasyon gibi olayları tetikleme yoluyla kan glukoz seviyesinin azalmasına neden olabilirler (Attanayeke ve ark., 2015). *F. rigidula* ekstraktının antihiperglisemik etkisi pankreas Langerhans adacıkları üzerine iyileştirici etkisi ile ilişkilendirilebilir. *F. rigidula* ekstraktının antihiperglisemik özelliğinin, olası diğer yollar üzerinde etkileri, farklı çalışmalarla aydınlatılmaya ihtiyacı vardır.

Bu bilgilerden yola çıkarak, *F. rigidula* ekstraktının 500 mg/kg uygulanan dozunun, deneysel diyabet modelinde, pankreas dokusunda meydana gelen oksidatif stresi azaltması ve pankreas dokusu Langerhans adacıklarında bulunan beta hücrelerini iyileştirici etkisinin olması sebebiyle, klinik olarak kullanım olanaklarının araştırılmasının yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- Abou Khalil NS, Abou-Elhamd AS, Wasfy SI, El Mileegy IM, Hamed MY, Ageely HM. Antidiabetic and antioxidant impacts of desert date (*Balanites aegyptiaca*) and parsley (*Petroselinum sativum*) aqueous extracts: Lessons from experimental rats. J Diabetes Res. 2016; ID 8408326: 1-10.
- Abu-Zaiton AS. Anti-diabetic activity of *Ferula assafoetida* extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. PJBS. 2010; 13(2): 97-100.
- Adam B, Göker Z, Ardiçoğlu YH. Temel ve Klinik Biyokimya. Ankara: Atlas Yayıncılık; 2002.
- Aebi H. (1984). Catalase. In vitro. Methods Enzymol. 105: 121-126.
- Akhlaghi F, Rajaei Z, Hadjzadeh MAR, Iranshahi M, Alizadeh M. Antihyperglycemic effect of asafoetida (*Ferula assafoetida* oleo-gum-resin) in streptozotocin-induced diabetic rats. World Applied Sci J. 2012;17:157-62.
- Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyoterapik Etkileri. Konya: Mimoza Basım; 1995.
- Andrade-Cetto A. Hypoglycemic effect of *Smilax moranensis* root on N5-STZ diabetic rats. Pharmacology online.2011; 1: 111-15.
- Anonim. OECD guidelines for the testing of chemicals, Section 4 [Internet].2008 [Erişim Tarihi 1 Mart 2021]. Erişim adresi: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-425-acute-oral-toxicity-up-and-down-procedure_9789264071049-en.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of eocuproine: CUPRAC Method. J Agric Food Chem. 2004; 52: 7970-81.
- Arituluk ZC, Çankaya Tatlı İİ, Özkan Gençler MA. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of some *Tanacetum L.* (Asteraceae) taxa growing in Turkey. FABAD J Pharm Sci. 2016; 41:17-25
- Association, A. D. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2010; 33 (Supplement 1): S62-S69.
- Attanayake A, Jayatilaka K, Pathirana C, Mudduwa L. Antihyperglycemic activity of *Coccinia grandis* (L.) Voigt in streptozotocin induced diabetic rats. IJTK. 2015; 14(3): 376-81.
- Avcı V, Huyut Z, Altındağ F, Ayengin K, Alp HH. Thiol-disulphide homeostasis in ovarian torsion-detorsion: an experimental rat model. Journal of Clinical Obstetrics & Gynecology. 2020; 30(1): 1-7.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 2006; 99: 191– 203.
- Baldissera MD, Souza CF, Grando TH, Cossetin LF, Sagrillo MR, Nascimento K et al. Antihyperglycemic, antioxidant activities of tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*) in alloxan-induced diabetic mice, and identification of fatty acid profile by gas

- chromatograph: New natural source to treat hyperglycemia. Biomed Pharmacoth. 2017; 270: 51-8.
- Bayraktar M. Oral hipoglisemikler. Türkiye Tıp Dergisi. 2001; 8: 35-44.
- Bayşu Sözbilir N, Bayşu N. Biyokimya. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2008.
- Baytop T. The rapy with medicinal plants in Turkey-Past and present (2nd edition). Istanbul: Nobel Medical Publication. 1999;241-44.
- Beutler E, Dubon O, Kelly BM. Improved method for the determenation of blood glutathione. J Lab Clin Med. 1963; 61: 882-8.
- Bhandari R, Singh M, Jindal S, Kaur IP. Toxicity studies of highly bioavailable isoniazid loaded solid lipid nanoparticles as per Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) guidelines. Eur Pharm Biopharm. 2021; 160: 82-91.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1958; 181: 1199-1200.
- Bolkent S, Akev N, Can A, Yanardag R, Okyar A. Immunohistochemical studies on the effect of *Aloe vera* on the pancreatic α -cells in neonatal streptozotocin-induced type-II diabetic rats. Egypt Biol. 2005; 7(1): 14-9.
- Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2002; 5(5): 561-8.
- Breimer LH. Repair of DNA damage induced by reactive oxygen species. Free Radic Res Commun. 1991; 14(3): 159-71.
- Bulut G, Tuzlacı E, Doğan A, Şenkardes İ. An ethnopharmacological review on The Turkish Apiaceae species. J Fac Pharm. 2014; 44(2): 163-79.
- Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. Periodontol 2000. 2007; 43(1): 160-232.
- Cinar AS, Bakar-Ates F, Onder A. *Seseli petraeum* M. Bieb.(Apiaceae) significantly inhibited cellular growth of A549 lung cancer cells through G0/G1 cell cycle arrest. An Acad Bras Ciên. 2020; 92(4).
- Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. Pharmacol Res. 2005; 51(2): 117-23.
- Çelikezen FÇ, Ertekin A. Ratlarda akciğer fibrozisinde lipid peroksidasyonu (MDA), antioksidan madde (glutatyon, seruloplazmin) ve bazı antioksidan vitamin (β - karoten, retinol) düzeylerinin incelenmesi. Van Vet j. 2008; 19(2): 17-20.
- Çiftçi Yegin S, Mert N. Deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanlarda Hba1c, Mda, Gsh-Px Ve Sod miktarlarının tayini. YYU Veteriner Fak. Derg. 2013; 24 (2): 51 – 54.
- Çolak S. Tıp 1 diyabet oluşturulan sıçanlarda liken ekstraktlarının pankreas üzerine etkileri (Doktora Tezi). Erzurum: Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 2012.
- Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. Prog Lipid Res. 2004; 43(3): 200-27.

- Duran A, Behçet L, Öztürk M. *Diplotaenia bingolensis* (Apiaceae), new species from East Anatolia, Turkey. Plant Syst Evol. 2015;301(1):467-78.
- Erkekoglu P, Giray BK, Basaran N. 3R principle and alternative toxicity testing methods. Fabad J Pharm Sci. 2011; 36(1): 101-17.
- Erol Ö. İnsülin kullanan diyabetlilerde bireysel izlem ile diyabet kontrolü ve hipoglisemi arasındaki ilişki (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2003.
- Ertaş A, Boğa M, Haşimi N, Yılmaz MA. Fatty acid and essential oil compositions of *Trifolium angustifolium* var. *angustifolium* with antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities. Iran J Pharm Res. 2015; 14(1): 233-41.
- Esmaili H, Esmailidehaj M, Zarch SE, Azizian H. Role of the potassium channels in vasorelaxant effect of asafoetida essential oil. Avicenna Phytomed. 2020; 10(4): 407.
- Farkhad NK, Farokhi F, Tukmacki A. Hydro-alcoholic extract of the root of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl can improve serum glucose and lipids in alloxan-induced diabetic rats. Avicenna J Phytomed. 2012; 2(4): 179-87.
- Ferrier DR. Biyokimya. İstanbul-Türkiye: Nobel Tıp Kitabevleri; 2015.
- Giribabu N, Kumar KE, Rekha SS, Muniandy S, Salleh N. *Chlorophytum borivilianum* root extract maintains near normal blood glucose, insulin and lipid profile levels and prevents oxidative stress in the pancreas of streptozotocin-induced adult male diabetic rats. Int J Med Sci. 2014; 11(11): 1172-84.
- Gomathi D, Ravikumar G, Kalaiselvi M, Devaki K, Uma C. Efficacy of *Evolvulus alsinoides* (L.) L. on insulin and antioxidants activity in pancreas of streptozotocin induced diabetic rats. J Diabetes Metab Disord. 2013; 12(1): 39-44.
- Gutteridge J. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. 1995; 41(12): 1819-28.
- Guyton Ac, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji, Nobel Matbaacılık, Missisipi. 2007.
- Gürdöl F, Ademoğlu E. Biyokimya. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2014.
- Hamamcıoğlu AC. Diyabette oksidatif stres ve antioksidanların rolü. Türk Diyabet Obezite Derg. 2017; 1(1): 1-7.
- İrer SV, Alper G. Deneysel diyabet modelleri. Türk Klinik Biyokimya Derg. 2004; 2(3): 127-36.
- Jagtap A, Patil P. Antihyperglycemic activity and inhibition of advanced glycation end product formation by *Cuminum cyminum* in streptozotocin induced diabetic rats. Food Chem Toxicol. 2010; 48(8) 2030-36.
- Jain PK, Ravichandran V, Sharma S, Agawal RK. The antioxidant activity of some medicinal plants. Turkish J Biology. 2008; 32(3): 197-202.
- Jalili-Nik M, Soukhtanloo M, Javanshir S, Yazdi AJ, Esmaeilzadeh M, Jafarian AH, et al. Effects of ethanolic extract of *Ferula gummosa oleo-resin* in rat model of streptozotocin-induced diabetes. RPS. 2019;14(2):138-45.
- Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. MAE Vet Fak Derg. 2016b; 1(1): 65-76.

- Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. MAE Vet Fak Derg. 2016a; 4(1): 50-9.
- Karaca T, Yoruk M, Yoruk IH, Uslu S. Effects of extract of green tea and ginseng on pancreatic beta cells and levels of serum glucose, insulin, cholesterol and triglycerides in rats with experimentally streptozotocin-induced diabetes: a histochemical and immunohistochemical study. J Anim Vet Adv. 2010; 9(1): 102-7.
- Kaval U, Tonçer Ö. Apiaceae lindley familyasına dâhil bitkilerin antibakteriyal, antifungal ve antiviral aktiviteleri üzerine bir derleme. Batman Üniv. Yaşam Bil. Derg. 2020; 10(2): 163-82.
- Kazemian M, Abad M, Reza Haeri M, Ebrahimi M, Heidari R. Anti-diabetic effect of *Capparis spinosa* L. root extract in diabetic rats. Avicenna J Phytomed. 2015; 5(4): 325-32.
- Kendirli A. Türkiye’ de yetişen tıbbi bitkilerden *F. rigidula* DC. üzerinde farmasötik botanik araştırmalar (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2019.
- Köse Ş, Ocak E. Antimicrobial and antioxidant properties of sirmo (*Allium vineale* L.), mendi (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.) and siyabo (*Ferula rigidula* DC). Gıda Derg. 2018; 43 (2) : 294-302.
- Krishnasamy G, Muthusamy K, Chellappan DR, Subbiah N. Antidiabetic, antihyperlipidaemic, and antioxidant activity of *Syzygium densiflorum* fruits in streptozotocin and nicotinamide-induced diabetic rats. Pharm Biol. 2016; 54(9): 1716-26.
- Kumar V, Jain P, Rathore K, Ahmed Z. Biological evaluation of *Pupalia lappacea* for antidiabetic, antiadipogenic, and hypolipidemic activity both in vitro and in vivo. Scientifica (Cairo). 2016; 1062430. doi: 10.1155/2016/1062430.
- Kurcer Z, Karaoglu D. Deneysel diyabet modellerinde alloksan ve streptozotosin kullanımı. Türk Endocrinol Metab. 2012; 16(2,): 34-41.
- Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y, Iwamoto Y, Kobayashi M, ve ark. Report of the committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract. 2002;55(1):65-85.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951; 193(1): 265-75.
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuena MA. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J Ethnopharmacol. 2000; 71: 109-14.
- Muslu L, Ardahan M, Günbayı İ. Tip II diabetes mellituslu hastaların psikososyal uyum sürecine ilişkin görüşleri: Fenomenolojik bir araştırma. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar. 2017; 9(1): 75-100.
- Mythili M, Vyas R, Akila G, Gunasekaran S. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. Microsc Res Tech. 2004; 63(5): 274- 81.
- Noriega-Cisneros R, Ortiz-Avila O, Esquivel-Gutiérrez E, Clemente-Guerrero M, Manzo-Avalos S, Salgado-Garciglia R, et al. Hypolipidemic activity of *Eryngium carlinae* on streptozotocin-induced diabetic rats. Biochem Res Int. 2012; 1-5. ID 603501.

- Özdek U. *Diplotaenia turcica* kök ekstraktının diyabetik rat pankreası lipid peroksidasyonu, antioksidanlar ve immunohistokimyası üzerine etkisi (Doktora Tezi). Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2017.
- Özenç B. *Fumaria officianis* 'in antioksidan aktivitesinin belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 2011.
- Pabbidi RM, Cao D-S, Parihar A, Pauza ME, Premkumar LS. Direct role of streptozotocin in inducing thermal hyperalgesia by enhanced expression of transient receptor potential vanilloid 1 in sensory neurons. *Mol Pharmacol*. 2008; 73(3): 995- 1004.
- Pari L, Majeed M, Rathinam A, Chandramohan R. Molecular action of inflammation and oxidative stress in hyperglycemic rats: Effect of different concentrations of *Pterocarpus marsupium* extract. *J Diet Suppl*. 2017; ID: 101249830: 1-19.
- Pimenov MG, Leonov MV. The asian umbelliferae biodiversity database (ASIUM) with particul arreference to South-West Asian taxa. *Turk J Bot*. 2004; 28: 139–45.
- Placer ZA, Cushman L, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biological fluids. *Anal Biochem*. 1966; 16(2): 359-64.
- Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci*. 2000; 25(10): 502-8.
- Roy V, Chenkual L, Gurusubramanian G. Mallotus roxburghianus modulates antioxidant responses in pancreas of diabetic rats. *Acta Histochemica*. 2016; 118(2): 152-63.
- Saldamlı İ. Gıda Kimyası. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları; 2007. 463-92.
- Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Samini F, Farkhondeh T. Chrysin treatment improves diabetes and its complications in liver, brain, and pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*. (2015); 94(4): 388-93.
- Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends Biochem Sci*. 2002; 27(9): 483-6.
- Server UN. Koroner arter hastalığı olan olgularda İnsülin direnci ve bozulmuş diyabetik glukoz toleransı sıklığının sağlıklı popülasyonla karşılaştırılması (Uzmanlık Tezi). İstanbul:T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi. 2006.
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010; 87 (1): 4-14.
- Shukla R, Padhye S, Modak M, Ghaskadbi SS, Bhonde RR. Bis (quercetinato) oxovanadium IV reverses metabolic changes in streptozotocin-induced diabetic mice. *Rev Diabet Stud*. 2007; 4(1) :33-43.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*.1999; 299: 152 –78.
- Ural A. Gestasyonel diabetes mellitus ve sağlıklı yaşam biçimi davranışları. *DÜ Sağlık Bil Enst Derg*. 2016; 6(2): 120-27.
- Yanardağ R, Bolkent Ş, Tabakoğlu-Oğuz A, Özsoy-Saçan Ö. Effects of *Petroselinum crispum* extract on pancreatic B cells and blood glucose of streptozotocin induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull*. 2003; 26(8): 1206-10.

Yang J, Cherian MG. Protective effects of metallothionein on streptozotocininduced diabetes in rats. Life Sci. 1994; 55(1): 43-51.

Yaqoob U, Nawchoo IA, Ahmad M. Phytochemical evaluation of various solvent extracts of the leaves, fruits and shoots of *Ferula jaeschkeana* vatke. Herb Med. 2016; 2 (3); 13.

Yusufoglu HS, Soliman GA, Abdel-Rahman RF, Abdel-Kader MS, Ganaie MA, Bedir E, et al. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of *Ferula duranii* in experimental type 2 diabetic rats. Int J Pharmacol. 2015; 11 (6): 532-41.

Zia-Ul-Haq M, Raza Shah M, Qayum M, Ercisli S. Biological screening of selected flora of Pakistan. Biol Res. 2012; 45(4): 375-9.



ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Van'ın Gürpınar ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Gürpınar'da tamamladı. Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesinde 2005-2009 yılları arasında Fizik eğitimini tamamladı. 2009-2010 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Fizik Bölümü Tezsiz Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu'nda 2012-2014 yılları arasında Tıbbi Görüntüleme Teknikleri bölümünde eğitimini tamamladı ve 2014'te Tıbbi Görüntüleme Teknikeri olarak kamu kurumunda göreve başladı. Daha sonra Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu'nda 2014-2018 yılları arasında Hemşirelik Bölümünde eğitimini tamamladı. 2018 yılında, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya (Veteriner Programı) Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Raporu

	VAN YÜHADYEK VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ VAN YUZUNCUYILUNIVERSITY (TURKEY) ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE	
Araştırmanın Adı <i>Research Title</i>	Deneysel diyabet oluşturulan ratlarda <i>Ferula rigudula</i> bitki ekstratının hiperglisemi hiperlipidemi ve pankreas dokusu oksidatif stres üzerine etkileri Effects of <i>Ferula rigudula</i> plant extract on hyperglycemia hyperlipidemia and pancreatic tissue oxidative stress in rats with experimental diabetes.
Araştırmacı(lar) <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü / Chief investigator : Dr.Öğr.Üyesi Uğur ÖZDEK
	Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s): Prof.Dr.Yeter DEĞER Ayhan BEYAZPOLAT
Araştırmanın Başlama Tarihi / Research Starting Date: 25.06.2020	
Araştırmanın Bitiş Tarihi / Research Completion Date: 26.11.2020	
Proje Süresi / Total Time of Project: 15 AY/ MONTH month	
Proje No / Project Number: 2020/06-14	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / Funding institution(s) (if available): YÜ-BAP	
Destek Şekli ve Miktarı / Type and amount of funding: TEZ PROJESİ (THESIS PROJECT) / 12.488,06 ₺	
Karar: Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 03 /12 /2020 tarih ve 2020/11-17 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. Decision: Final report of the research project detailed above was approved by Van Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 03/12/2020 (decision number 2020/11-17).	
BAŞKAN/CHAIR	
Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE/Member	ÜYE/Member
Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	Prof. Dr. Sıddık KESKİN
ÜYE	ÜYE/Member
Prof. Dr. Atilla DURMUŞ	Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ
ÜYE/Member	ÜYE/Member
Doç. Dr. Canser Yılmaz DEMİR	Dr. Öğr. Üyesi Oruç YUNUSOĞLU
ÜYE/Member	ÜYE/Member
Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN	Vet. Hek. Kerem OĞRAK
ÜYE/Member	ÜYE/Member
Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET

Ek 2. Tez Orijinallik Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



DOKTORA TEZİ ORJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Ferula Rigidula Bitki Ekstraktının Hiperlipidemi, Hiperlipidemi ve Pankreas Dokusu Oksidatif Sters Üzerine Etkileri			
İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları				
Kapak sayısı	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
13	2	51	1	75
İntihal taraması yapılan program			Taramanın yapıldığı tarih	Benzerlik oranı %
			10/02/ 2021	%8
*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:				
- Kabul ve onay sayısı hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç,				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihali içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabulettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Ayhan BETAZPOLAT İmza				

Öğrencinin Adı Soyadı	Ayhan BETAZPOLAT
Anabilim Dalı	Veteriner Biyokimya A.D.
Öğrenci No	18930001015
Programı	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Dr.Öğr.Üyesi Uğur ÖZDEK (Unvan, Ad Soyad, İmza)	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR Doç. Dr. Hamit Hakan ALP Sağlık Bil. Enstitüsü Müdür Yardımcısı (Unvan, Ad Soyad, İmza)
---	---