

T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ  
SIÇANLARDA *ACHILLEA MİLLEFOLIUM*'UN  
(CİVANPERÇEMİ) DNA KORUYUCU ETKİSİ**

**Kübra GÜNEY KAYA  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Selim SEKKİN**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
VTF-17036 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN- 2018**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Kübra GÜNEY KAYA tarafından hazırlanan “Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda *Achillea millefolium*’un (civanperçemi) DNA koruyucu etkisi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: ...../...../.....

Üye (T.D.)

Üye

Üye

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün .....tarih ve .....sayılı oturumunda alınan .....nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde yardımcı olan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi (ADÜ) Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi, tez danışmanım Doç. Dr. Selim SEKKİN'e ve Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Cavit KUM'a tüm katkılarından dolayı teşekkür ederim. Çalışma sırasında yardımlarını esirgemeyen ADÜ Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim elemanları Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU ve Arş. Gör. Dr. Hande Sultan YALINKILIÇ ŞAHİNER'e, doktora öğrencileri Özge BARDAKÇI ve Mehmet Onur AK'a, çalışmanın istatistik analizlerinde katkısı olan ADÜ Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı öğretim elemanları Prof. Dr. H. Erbay BARDAKÇIOĞLU ve Arş. Gör. Mehmet KAYA'ya, her konuda desteğini esirgemeyen ADÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Bülent BOZDOĞAN'a ve çalışmanın biyokimyasal ölçümlerinde desteğini esirgemeyen ADÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Aslıhan BÜYÜKÖZTÜRK KARUL'a teşekkür ederim. ADÜ Deney Hayvanları Ünitesi sorumlu veteriner hekimi Dr. Serdar AKTAŞ'a, ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına, ayrıca her zaman ve her kararında bana destek olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
RESİMLER DİZİNİ .....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diabetes Mellitus.....	3
2.1.1. Diabetes Mellitus'un Tarihçesi.....	3
2.1.2. Diyabet Tanısı ve Sınıflandırılması.....	5
2.1.3. Hemoglobin A <sub>1c</sub> (HbA <sub>1c</sub> ) .....	8
2.1.4. Diyabette Deneysel Modeller .....	8
2.1.5. Streptozotosin .....	9
2.1.6. Diyabet ve Oksidatif Stres .....	10
2.1.7. Comet Assay.....	11
2.2. Civanperçemi ( <i>Achillea millefolium</i> ).....	12
2.2.1. Civanperçemi'nin Etnobotaniği.....	14
2.2.2. Civanperçemi'nin Kullanım Alanları .....	14
2.2.3. Civanperçemi Fitokimyası.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1. Gereç.....	18
3.1.1. Cihazlar.....	18

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	18
3.1.3. Civanperçemi Yağı.....	19
3.1.4. Deney Hayvanlarının Bakımı .....	20
3.1.5. Deney Gruplarının Oluşturulması .....	21
3.2. Yöntem .....	21
3.2.1. Deney Hayvanlarında Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	21
3.2.2. Deneyin Sonlandırılması .....	23
3.2.3.Comet Assay Yöntemi.....	23
3.2.4. Oksidan/Antioksidan Parametre Analizleri .....	28
3.2.4.1. Doku homejenizasyonu .....	28
3.3.4.2. Total protein .....	28
3.3.4.3. Süperoksit dismutaz (SOD) analizi .....	29
3.3.4.4. İndirgenmiş glutasyon (GSH) analizi.....	29
3.3.4.5. Malondialdehit (MDA) analizi .....	30
3.2.5. İstatistiksel Analiz .....	30
4. BULGULAR .....	31
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	37
KAYNAKLAR.....	38
EKLER .....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ADA</b>	: Amerikan diyabet birliği
<b>CP</b>	: Civanperçemi
<b>D</b>	: Diyabet
<b>DAPI</b>	: 4', 6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride
<b>D-CP</b>	: Diyabet-civanperçemi
<b>DM</b>	: Diabetes mellitus
<b>g</b>	: Gram
<b>GSH</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>IDA</b>	: Uluslararası diyabet federasyonu
<b>K</b>	: Kontrol
<b>K-CP</b>	: Kontrol-civanperçemi
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>LMPA</b>	: Düşük erime noktalı agar
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>mg</b>	: Miligram
<b>MÖ</b>	: Milattan önce
<b>MS</b>	: Milattan sonra
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>NaOH</b>	: Sodyum hidroksit
<b>NMA</b>	: Normal erime noktalı agar
<b>PBS</b>	: Fosfat tamponlu serum fizyolojik çözeltisi
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>STZ</b>	: Streptozotosin

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Streptozotosinin moleküler formülü ..... 10



## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> <i>Achillea millefolium</i> 'un tohum, kök, yaprak, çiçek görüntüsü .....	13
<b>Resim 2.</b> Streptozotosinin intraperitoneal uygulanması .....	21
<b>Resim 3.</b> Kuyruk veninden alınan kan örneğinin glukometre ile ölçümü.....	22
<b>Resim 4.</b> Civanperçemi yağı gavaj uygulaması .....	22
<b>Resim 5.</b> Hayvanlarda canlı ağırlığın takibi.....	23
<b>Resim 6.</b> Işık mikroskopta lenfosit sayımı için thoma lamı görüntüsü.....	25
<b>Resim 7.</b> Şale içersinde lizing solüsyonu ile kaplanmış lamalar .....	26
<b>Resim 8.</b> Elektroforez tankına lamaların yerleştirilmesi ve solusyon .....	26
<b>Resim 9.</b> Elektroforez aşaması .....	27
<b>Resim 10.</b> Şale içersinde yer alan lamalar .....	27
<b>Resim 11.</b> Comet Assay analizinin değerlendirilmesi .....	28



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Diyabetin tarihçesi .....	5
<b>Tablo 2.</b> Diabetes mellitus (DM) tanı kriterleri .....	6
<b>Tablo 3.</b> Diyabetin diğer spesifik tipleri .....	7
<b>Tablo 4.</b> <i>Achillea millefolium</i> 'un binomial sınıflandırması .....	14
<b>Tablo 5.</b> Comet Assay, antioksidan ve oksidan ve analizlerinde kullanılan cihazlar .....	18
<b>Tablo 6.</b> Comet Assay analizinde kullanılan kimyasal maddeler .....	19
<b>Tablo 7.</b> Oksidan ve antioksidan parametrelerin analizinde kullanılan kimyasallar .....	19
<b>Tablo 8.</b> Civanperçemi yağı fitokimyasal içeriği.....	20
<b>Tablo 9.</b> Sıçan yemi içeriği .....	20
<b>Tablo 10.</b> Deney grupları .....	21
<b>Tablo 11.</b> Comet Assay basamakları .....	25
<b>Tablo 12.</b> Glukoz düzeyinin gruplara göre değişimi .....	31
<b>Tablo 13.</b> HbA <sub>1c</sub> düzeyinin gruplara göre değişimi.....	31
<b>Tablo 14.</b> Canlı ağırlığın zamana ve gruplara göre değişimi.....	32
<b>Tablo 15.</b> Kuyruk momenti ve kuyruk yoğunluğunun gruplara göre değişimi .....	32
<b>Tablo 16.</b> Oksidatif stres parametrelerinin gruplara göre değişimi .....	33

## ÖZET

### STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA *ACHILLEA MİLLEFOLIUM* (CİVANPERÇEMİ)'UN DNA KORUYUCU ETKİSİ

Güney Kaya K. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2018.

Diyabet, kanda şekerin yükselmesine bağlı kronik metabolik bir bozukluk ile artmış bir oksidatif stres durumudur. *Achillea millefolium* (civanperçemi-CP) bitkisinin diyabet üzerine olan etkisine ilişkin çalışmalar olmasına karşın HbA<sub>1c</sub>, oksidatif stres ve DNA hasarına ilişkin çalışmaya rastlanmadı. Bu çalışmada civanperçemi yağının antidiyabetik, antioksidan ve DNA hasarını koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla 35 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Deneysel diyabet oluşturmak için 50 mg/kg streptozotosin periton içi yolla tek doz uygulandı. Sıçanlar diyabet grubu (D, n=9), diyabet-civanperçemi grubu (D-CP, n= 8), kontrol-civanperçemi grubu (K-CP, n=9) ve kontrol grubu (K, n=9) olarak dört gruba ayrıldı. *Achillea millefolium* yağı ve mısır yağı sıçanlara 400 mg/kg dozda, 28 gün gavaj yolu ile uygulandı. Çalışmanın 28. günü tamamlandığında sıçanlar anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir. Kalpten alınan kan örnekleri HbA<sub>1c</sub> analizi, DNA hasarı (Comet assay) ve glukoz parametresi için kullanıldı. Sıçanlardan oksidan (malondialdehit, MDA) ve antioksidan(süperoksit dismutaz, SOD ve glutatyon peroksidaz, GSH) parametreleri için karaciğer doku örneği alındı. Diyabetik gruplar arasında vücut ağırlığı, DNA hasarı, plazma glukoz düzeyi, SOD ve GSH değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmezken, HbA<sub>1c</sub> değerinde ise CP uygulanan diyabetik grupta (D-CP), CP uygulanmayan diyabetik gruba (D) göre düşük (P<0,001); MDA düzeyi ise yüksek (P<0,001) bulundu. Sonuç olarak civanperçemi yağının kan şekeri düzeyi üzerine etkisi tespit edilmiş, fakat diğer parametreler üzerine etkisi bulunamadı.

**Anahtar Kelimeler:** *Achillea millefolium*, antioksidan, civanperçemi, comet assay, diyabet, oksidan, streptozotosin.

## ABSTRACT

### DNA PROTECTIVE EFFECT OF ACHILLEA MILLEFOLIUM (YARROW) IN DIABETIC RATS TREATED BY STREPTOZOTOCIN

**Guney Kaya K. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences  
Pharmacology and Toxicology Program Master Thesis, Aydın, 2018.**

Diabetes is a chronic metabolic disorder due to the elevation of serum sugar level and increased oxidative stress. *Achillea millefolium* (yarrow-Y) plant has diabetic effects, but HbA<sub>1c</sub>, oxidative stress status and DNA damage is unknown. The aim of this study was to observe antidiabetic, antioxidant and DNA protective effects of yarrow oil. A single dose of 50 mg/kg streptozotocin was administered intraperitoneally to induce experimental diabetes in rats. For this purpose 35 Wistar albino male rats were separated into 4 group as diabetes group (D, n=9), diabetes-yarrow group (D-Y, n=8), control-yarrow group (C-Y, n=9) and control group (C, n=9). *Achillea millefolium* oil and solvent were administered to rats at a dose of 400 mg/kg, during the 28 day study period by gavage. Rats were sacrificed by cervical dislocation under anesthesia and cardiac blood samples were used for HbA<sub>1c</sub> analysis, DNA damage (Comet assay) and glucose parameters. Liver tissue samples were used for oxidant (malondialdehyde, MDA) and antioxidant (superoxide dismutase, SOD) and glutathione peroxidase, GSH). There was no significant change in body weights, DNA damage, plasma glucose, SOD, GSH values between diabetic groups as well as HbA<sub>1c</sub> level was significantly lower (P<0,001) in the diabetic group (D-Y) also MDA level was found statistically high (P<0,001). As a result, yarrow oil has effects on HbA<sub>1c</sub>, but no effect on examined parameters.

**Key Words:** *Achillea millefolium*, antioxidant, comet assay, diabetes, oxidant, streptozotocin, yarrow

# 1. GİRİŞ

Halk arasında şeker hastalığı olarak adlandırılan diabetes mellitus (DM) insülin salgısının yetersizliği, insülin etkisindeki problemler veya her ikisindeki bozukluklar sonucu görülen hiperglisemi ile karakterize bir metabolizma bozukluğudur (Holt, 2004; Ozougwu ve ark, 2013).

DM görülme sıklığı gelişmiş ülkelerde %10 iken gelişmekte olan ülkelerde %5 düzeyindedir. Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi (TURDEPI)'nin 2010 yılında yapmış oldukları çalışmada ülkemizde diyabet sıklığı 20 ile 80 yaş grubu arasında %7,2 olarak belirlenmiştir. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından yayınlanan Yedinci Diyabet Atlası'na göre 2015 sonu itibariyle 415 milyon diyabet hastasının olduğu, 2040 yılına kadar ise bu sayının %52 oranında artış göstererek 642 milyona ulaşacağı bildirilmektedir. Diyabet, Orta Doğu ve Kuzey Afrika bölgelerinde yaşayan yetişkinlerde yüksek prevalansa (%10,9) sahiptir. Batı Pasifik ülkeleri ise en fazla diyabet tanısı alan yetişkin sayısına ve en yüksek diyabet prevalansına sahip (%37,5) bölgelerdir. Diyabetli hastaların gelişmiş ülkelerde prevalansının yüksek olmasının nedeni yaşam koşullarının daha iyi hale getirilmiş olması, hareketsiz yaşam ve obezite artışıdır (Espino ve ark, 2011; Durna, 2015; IDF, 2015; Kharroubi ve Darwish, 2015).

DM sığır, at, koyun ve domuzlarda nadir olarak görülürken, köpeklerde daha sık görülür. Genelde 4-14 yaş grubu köpekler bu hastalığa maruz kalırlar. Dişi köpeklerde DM'nin görülme sıklığı erkek köpeklere oranla daha yüksektir. Kedilerde ise bu durum tam tersidir (Çelik ve Bal, 2002).

Bitkiler, tarih öncesi dönemlerde insanlarda acıyı azaltmak ve hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır. Sentetik ilaçların geliştirilmesinden önceki dönemlerde de tüm tıbbi terapilerin temelini oluşturmuşlardır. Bununla beraber bitkiler ilaç, beslenme, boyar madde, parfüm, kozmetik ürünleri ve diğer endüstriyel amaçlı birçok alanda kullanılmışlardır. Bitkisel ilaçların hastalıkların tedavisinde kullanılması düzenli olarak yapılan geleneksel bir tedavi olmuştur. Bitkiler tıp biliminde kullanılan önemli kaynaklar olup, çok sayıda ilaç bitkilerden elde edilmiştir (Fabricant ve Farnsworth, 2001; Djeridane ve ark, 2006; Trivedi, 2009; Najafi ve Deokule, 2010).

DM'nin tedavisinde yıllardır şifalı otlar kullanılmaktadır (Parildar ve ark, 2011). Çeşitli *Achillea* türlerinin farmasötik, kozmetik ve koku özelliklerinden yararlanılmıştır. Bu türlerin ekstraktları anti-inflamatuvar, analjezik ve antipiretik gibi farmakolojik aktivite sergilerler. Bunlar arasında *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) “civanperçemi” olarak bilinmektedir. Bu bitki yaraların tedavisi, kan akışının durdurulması, soğuk algınlığı, ateş, böbrek hastalıkları ve menstrual ağrı gibi geniş bir yelpazede yer alan hastalıkların tedavisi için kullanılmıştır (Yazdanparast ve ark, 2007). *Achillea millefolium* L. da dâhil olmak üzere *Achillea* L. cinsinin farklı kısımları anti-inflamatuvar, antioksidan, antispazmodik, antiseptik, antimikrobiyal, karaciğer koruyucu aktivite gibi çok sayıda farmakolojik özellikleri nedeniyle tıp dünyasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Cavalcanti ve ark, 2006; Santoro ve ark, 2007).

Yangılı ve spazmik gastrointestinal bozukluklarda, hepatobiliyer şikâyetler, kardiyovasküler ve solunum rahatsızlıklarının tedavisinde halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Dall'Acqua ve ark, 2011; Li ve ark, 2011). Meksika'da ve dünyanın farklı bölgelerinde, *A. millefolium* diyabet ve ilgili hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır (Petlevski ve ark, 2001; Ramirez ve ark, 2012; Akram, 2013). *A. millefolium* bileşenleri arasında monoterpenler, seskiterpenler, flavonoidler ve fenolik asit türevlerinin yer aldığı bildirilmiştir. Bunlar, bu türlerin kemotaksonomik işaretçisi olan seskiterpen laktonlarıdır (Dall'Acqua ve ark, 2011; Li ve ark, 2012; Koushyar ve ark, 2013).

Bu çalışmada sıçanlara periton içi yolla tek doz STZ uygulanarak deneysel diyabet modeli oluşturulmuştur. Diyabetik sıçanlara gavaj yoluyla uygulanan *Achillea millefolium* yağının antidiyabetik, DNA hasarı üzerine etkisi ve antioksidan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus

Eski yunanca kelime olan “diabetes” aşırı idrar çıkışı olarak ifade edilirken, “mellitus” ise anlamı bal olan “mel” kelimesinden türetilmiştir (Robertson ve Harmon, 2006). DM insülin sekresyonunun veya etkisinin yetersizliği sonucu protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik metabolizma hastalığıdır (Yenigün, 2001).

İnsülin direkt ve indirekt olarak glukoz metabolizmasını düzenler. Karaciğer, böbrek, kas ve yağ dokusundaki reseptörlere bağlanarak protein kinazların önemli olduğu düzenleyici proteinleri içeren sinyal yolunu aktive eder. Plazmada bulunan glukoz beslenme kaynaklarından, karaciğerdeki glukojenin parçalanmasından (glukojenoliz) veya karaciğer ve böbrekte laktat, piruvat, aminoasitler ve gliserol gibi diğer karbon bileşiklerinin (öncül maddeleri) glukoz oluşumunun (glukoneojenez) sonucu olarak meydana gelir (Zajac ve ark, 2009).

Diyabet, Hiperglisemik Hiperozomlar Durum (HHD) ve Diyabetik Ketoasidoz (DKA) benzeri akut komplikasyonların yanında kronik mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar nedeniyle ciddi sağlık problemlerine ve ölüme neden olabilmektedir. Diyabet hastalarında klinik bakımdan polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı gibi belirtiler gözlenir. Diyabetli kişilerde göz, böbrek, sinir, beyin damar hastalıkları ve kalp hastalıklarının oluşma riski daha fazladır (Yılmaz ve Demir, 2014; Kharroubi ve Darwish, 2015).

#### 2.1.1. Diabetes Mellitus'un Tarihçesi

Diabetes Mellitus hekimler tarafından antik Mısır'da yaklaşık 3500 yıldır bilinmektedir. MÖ 1500 yılından kalma Ebers papirüsü, 1862 yılında Mısır'ın güneyinde Thebes bölgesindeki bir mezarlıkta bulunmuş ve Mısırlı Geary Ebers'in adını almıştır. Papirüs aralarında şeker hastalığının da yer aldığı çeşitli hastalıkların tanımlarını içermektedir. Mısırlılar hastalığın tedavisi için buğdayın kaynatılması gibi çeşitli ilaçlar önermişlerdir. Hintliler diyabetin kalıtım, obezite, yerleşik yaşam ve diyet ile olan ilişkisini fark etmişlerdir. Şeker hastalığı için bir çare olarak benzoat ve silis içeren taze hasat edilmiş

hububat müstahzarlarını önermişlerdir. MS 5-6. yüzyılda Hint yazar Sushant tarafından ilk kez poliüri ile tatlı bir tat verici madde ilişkisi bildirilmiştir (Ahmed, 2002; Zajac ve ark, 2009).

Şeker hastalığının ilk klinik tanımlaması Aulus Cornelius Celsus (MS 30-MÖ 50) tarafından yapılmıştır. Sıklıkla "*Cicero medicorum*" olarak adlandırılan Celsus, sekiz ciltlik *De Medicina* adlı eserinde şeker hastalığının tanımından bahsetmiştir (Zajac ve ark, 2009).

MS 2. yüzyılda Roma ve İskenderiye'de Yunan doktoru olan Kapadokyalı Aretaeus (MS 81-138) günümüzde DM ve Diabetes Insipidus (DI) olarak adlandırdığımız hastalıkları ayıran ilk kişi olmuştur. Akut ve Kronik Hastalıkların Nedenleri ve Endikasyonları Üzerine Çalışma isimli araştırmasında şeker hastalığının ayrıntılı bir şekilde ele alındığını ve hastalığın başlangıcının akut hastalıkları, yaralanmaları ya da duygusal stresleri izlediğini not ederek çeşitli gözlemler yapmıştır. Aretaeus ve tanınmış Roma doktoru Galen, diyabetin seyrek görülen bir hastalık olduğunu gözlemlemiştir. Aslında Galen kariyerinin tamamında bu gibi iki durumla karşılaştığını belirtmiş, gelişimini böbrek zayıflığıyla ilişkilendirerek ona "idrarda ishal" (diare urinosa) ismini vermiştir. MS 5. yüzyılda iki Hint doktor olan Sushruta ve Charaka, iki diyabet türü arasındaki ilk ayrımı yapan kişiler olmuşlardır. Li Hsuan Çin'de 7. yüzyılda şeker hastalarının akciğer enfeksiyonlarına eğilimli olduğunu belirtmiş ve şeker hastalığının tedavisinde şaraptan kaçınılması gerektiğini ifade etmiştir. Bağdat halifelerinin mahkeme doktoru İbn-Sina (Batıdaki adıyla Avicenna MS 980-1037) diyabet hakkında detaylı bir açıklama içeren ayrıntılı bir tıbbi metin (*Canon Avicennae*) hazırlamıştır. Şekerli idrar ve artmış iştah gibi klinik özellikleri ile diyabetik gangren ve cinsel işlev bozukluğu gibi komplikasyonlar İbn-i Sina tarafından ayrıntılı olarak tanımlanmıştır (Ahmed, 2002; Zajac ve ark, 2009). Diyabetin tarihçesi Tablo 1'de özetlenmiştir (Zajac ve ark, 2009).

**Tablo 1.** Diyabetin tarihçesi (Zajac ve ark, 2009).

<b>Diyabetin Tarihçesi</b>	
MÖ 1500	Ebers Papirusta eski Mısırlı hekimler tarafından şeker hastalığına ilk atıf yapıldı
MÖ 230, Memphis'in Apollonius	Hastalığa diyabet adı verildi
MS 1. yy. Aulus Cornelius Celsus	Diyabetin ilk klinik tanımı yapıldı
MS 5. yy. Susruta ve Charaka, Hindistan	Tip 1 ve tip 2 DM arasındaki ilk fark bulundu
1776, Mathew Dobson, İngiltere	Diyabetik bireylerin idrarındaki tatlı tat verici maddenin şeker olduğunun tespit edildi
1788, Thomas Cowley,	Diyabet ve pankreas arasındaki ilk bağlantı kuruldu
1869, Paul Langerhans, Almanya	Pankreastaki küçük hücre kümelerinin keşfi, "Langerhans adacıkları" olarak adlandırıldı
1889, Oscar Minkowski, Joseph von Mehring, Almanya	Köpeklerde pankreasın çıkarılması diyabetin gelişmesine neden olduğu saptandı
1893, Edouard Laguesse, Fransa	Langerhans Adaları, anti-diyabetik madde kaynağıdır
1907, Georg Zuelzer, Almanya	Zuelzer tarafından üretilen pankreatik "acomatol", diyabetik köpeklerde glukozüriyi düşürdü ve kan pH'sını yükseltti
1921-1922, Frederick Banting, Charles Best, James Collip ve John J.R. Macleod, Kanada	Köpeklerin pankreas özleri glukozüriyi azalttığı gösterildi. Diyabetik hasta için rafine pankreatik ekstraktın ilk başarılı klinik kullanımı. Eli Lilly Company, insülinin ticari gelişimi üzerine çalışmalara başladı
1928, Almanya	Diyabet tedavisinde oral yoldan verilen sinaptin-guanidin türevleri keşfedildi
1939, C. Ruiz, L.L. Silva, Arjantin	Sülfonamid antibiyotiklerinin hipoglisemik özellikleri ilk kez gözlemlendi
1958, Frederic Sanger, Büyük Britanya	Sığır insülininin yapısal formülü için Nobel ödülü
1966, Minnesota Üniversitesi, ABD	İlk pankreasın nakli uygulaması gerçekleştirildi
1969, Dorothy Hodgkin, Büyük Britanya	Domuz insülininin üç boyutlu yapısının X-ışını kristalografisini kullanarak tanımlandı
1978, Robert Crea, David Goeddel, ABD	Rekombinant DNA teknolojisini kullanarak insan insülini üretildi
1993, Diyabet Kontrol ve Komplikasyonları Denemesi, ABD	Tip 1 diyabetin metabolik kontrolünün diyabetik komplikasyonların gelişimi ile ilişkisi tanımlandı
1998, Birleşik Krallık Prospektif Diyabet Çalışması, İngiltere	Tip 2 diyabetin metabolik kontrolünün diyabetik komplikasyonların gelişimi ile ilişkisi tanımlandı
2001, Diyabet Önleme Programı, ABD	Yüksek riskli popülasyonda diyet ve egzersizin tip 2 diyabet gelişim hızıyla ilişkisi tanımlandı
2003, İnsan Genomu Projesi	İnsan genomunun dizilimi yapıldı
2007, Diyabet için Birinci Genom Geniş Birlik Çalışmaları	Tip 2 diyabet ile ilişkili olarak yeni lokuslar tanımlandı

### 2.1.2. Diyabet Tanısı ve Sınıflandırılması

Diyabet, Amerikan Diyabet Birliği (ADA)'ne göre açlık gliseminin venöz plazmada en az ikisi birbiri ardından gelen ölçüm sonucuna göre 126 mg/dl ve daha üstünde olması olarak tanımlanmıştır (ADA, 2010). Gün içerisinde tokluk ve açlık durumu göz önüne alınmaksızın randomize şekilde venöz plazma glisemisinin 200 mg/dl ve üstünde olması; devamında aşırı susama, iştah artışı, sürekli idrara çıkma ve zayıflama gibi diyabetik semptomlar gösterme ile tanı konulabilmektedir (Yenigün, 2001; Bilous ve Donnelly, 2013). Diyabetes Mellitus'un tanısında kullanılan kriterler Tablo 2'de yer almaktadır (Yenigün, 2001).



**Tablo 2.** Diabetes Mellitus (DM) Tanı Kriterleri (Yenigün, 2001)

<b>DM Tanı Kriterleri</b>
1- Diyabetin semptomları ve randomize plazma glukoz düzeyi $\geq 200$ mg/dl
2- En az 8 saat tam açlık sonrası açlık plazma glukoz düzeyi $\geq 126$ mg/dl ( $\geq 7$ mmol/L)
3- Oral glukoz tolerans testinde 2. saat plazma glukoz değeri $\geq 200$ mg/dl (11,1 mmol/L)
4- HbA <sub>1c</sub> $\geq$ % 6,5

Diyabet, etiyolojisine göre 4 tipte sınıflandırılmıştır (Yenigün, 2001):

- 1- Tip 1 diyabet (pankreas  $\beta$  hücre yıkımlaması)
- 2- Tip 2 diyabet ( $\beta$  hücre insülin sekresyon ve insülin direnci bozukluğu)
- 3- Spesifik tipler (genetik sendromlar, ekzokrin pankreas hastalıkları, enfeksiyonlar, ilaç ya da kimyasallara bağlı diyabet)
- 4- Gestasyonel diyabet (gebelikte ilk defa görülen diyabet)

1- Tip 1 diyabette insülin yetersizliğinin temel nedeni  $\beta$  hücre adacıklarının T hücre aracılıklı yıkımıdır. Tip 1 diyabet kendi içerisinde Tip 1a (otoimmün), tip 1b (idiyopatik) ve fulminan tip 1 olarak üç tipe ayrılmaktadır. Tip 1 diyabetin klinik özellikleri arasında susama, kilo kaybı, ketoasidoz, C-peptit eksikliği sayılabilir; acil insülin replasmanının yapılması gerekir (Bilous ve Donnelly, 2013). Otoimmün şeker hastalığı, diyabet tanısı konan hastaların %5-10' unu oluşturur ve pankreasın  $\beta$  hücrelerinin tahrip edilmesi sonucunda oluşur. İdiyopatik diyabet ise otoimmün diyabetten daha az şiddetli ve otoimmüniteden kaynaklanmayan, kökeni bilinmeyen, tip 1 diyabetin seyrek bir formu olarak bildirilmiştir. Fulminan tip 1 diyabet, ilk olarak 2000 yılında tanımlanan tip 1 diyabetin ayırıcı bir şeklidir ve idiyopatik tip 1 diyabetle immün yetmezliği olmayan bazı ortak özelliklere sahiptir. Hipergliseminin başlangıcından hemen sonra ketoasidoz ile karakterizedir, yüksek glukoz seviyeleri ( $\geq 288$  mg/dl), endojen insülin sekresyonunun bir göstergesi olan serum C-peptidinin saptanamayan seviyeleri ile ilişkilidir (Imagawa ve ark, 2000; Abiru ve ark, 2002; Devendra ve ark, 2004; Daneman, 2006; Maahs ve ark, 2010).

2- Tip 2 diyabet insülinin metabolik etkilerine karşı hedef dokuların duyarlılıklarının azalmasına bağlı olarak gelişir. “İnsüline bağlı olmayan diyabet” olarak da adlandırılır. Tip 2 diyabetin klinik özellikleri arasında yorgunluk, susama, poliüri, ketoasidoz, kilo kaybı, sık enfeksiyona yakalanma, hipertansiyon, metabolik sendrom ve C-peptit saptanması sayılabilir (Barr ve ark, 2002).

3-Diyabete ait diğer spesifik tipler Tablo 3'te belirtilmiştir (Yenigün, 2001; Bilous ve Donnelly, 2013).

**Tablo 3.** Diyabetin diğer spesifik tipleri (Yenigün, 2001; Bilous ve Donnelly, 2013)

<b>Tipler</b>	
1-Beta hücre fonksiyonlarının genetik defekti Beta hücresinde genetik kusur sonucu MODY (maturity-onset Diabetes of the young) ve mitokondriyal diyabet oluşur. Genç yaşlarda ortaya çıkan erişkin tip diyabetir (Yenigün, 2001).	12. kromozom, HNF-1 alfa (MODY 3) 7. kromozom, glukokinaz (MODY 2) Mitokondriyal DNA Diğerleri
2- İnsülin etkisinde genetik defekt İnsülinin etkisindeki genetik kusurlara bağlı olarak oluşur sık görülmeyen diyabet tipleri arasındadır (Taylor, 1992).	Tip A insülin resistansı Leprechaunizm Rabson- Mendenhall sendromu Lipoatrophic diyabet Diğerleri
3-Endokrinopati Kortizol, glukagon, büyüme hormonu, epinefrin hormonları insülinin etkisine karşıt olarak etki eder ve bu hormonların aşırı salgısı sonucu akromegali, cushing sendromu, glukoganoma diyabete neden olabilir (Yenigün, 2001).	Akromegali Cushing sendromu Glukagonoma Diğerleri
4-Ekzokrin pankreas hastalıkları Pankreasa difüz olarak zarar veren herşey diyabete sebep olabilir. Kistik fibroz ve hemokatozis pankreasta patolojik olarak yaygın β hücreleri tahrip olarak insülin sekresyonu bozulur (Yenigün, 2001).	Pankreatit Travma Neoplazma Diğerleri
5-İlaç ya da kimyasallara bağlı Birçok ilaç insülinin salgısını bozar, bunlar diyabete neden olmaz fakat insülin direnci olan kişilerde diyabet oluşumunu hızlandırır (Pandit ve ark, 1993).	Vacor Pentamidin Nikotinik asit Tiroid hormonu Diazoksit Tiazidler Dilantin Alfa- interferon Diğerleri
6-Enfeksiyonlar Bazı virus enfeksiyonları ile diyabet arasında ilişki mevcuttur. Konjenital rubella hastalarında tip 1 diyabet görülmüştür (Karjalainen ve ark, 1988).	Konjenital rubella Sitomegalovirus Diğerleri
7- İmmun Diyabetin bilinmeyen formları Merkezi sinir sistemi otoimmün hastalığı olan Stiffman sendromunda yüksek düzeyde glutamik asit dekarboksilaz (GAD) antikollarının geliştiği hastaların her üçünden birinde diyabet oluşmaktadır (Solimena ve ark, 1990).	Stiff-man sendromu Anti- insülin antikoru Diğerleri
8- Diyabetle bazen birlikteliği olan genetik sendromlar Kromozomal anomalilerin olduğu genetik sendromlar diyabetin artmış sıklığı ile birlikte olup insülin yokluğuna bağlı olan diyabetir (Barrett ve ark, 1995).	Miyotonik distrofi Klinefelter sendromu Prader- Willi sendromu Porfiriya Huntington korea Diğerleri

4- Gestasyonel diyabet, hamilelik sırasında ilk kez görülen diyabettir Tedavisinde insülin kullanılsa da insüline bağımlı olmayan tiptedir (Yenigün, 2001).

### **2.1.3. Hemoglobin A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>)**

Diyabetik hastaların tedavisinde glikolize hemoglobin düzeyi artmaktadır. Yapılan klinik çalışmalarda HbA<sub>1c</sub>'nin diyabetik kontrolün güvenilir bir parametresi olduğu gösterilmiştir. HbA<sub>1c</sub> normal kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobinlerin en çok bulunanıdır ve diyabetik hastalarda kırmızı kan hücrelerinde üç misli oranında artar (Bunn, 1981).

HbA<sub>1c</sub> glikohemoglobin ana formudur. HbA<sub>1c</sub> fraksiyonu, kronik hiperglisemik diyabetik hastalarda anormal yüksektir ve glisemik kontrol ile pozitif korelasyon gösterir. Yapılan çalışmalarda Demir Eksikliği Anemisi (IDA)'nin HbA<sub>1c</sub> düzeylerini etkilediği bildirilmiştir (Coban ve ark, 2004).

HbA<sub>1c</sub> 40 yıl önce diyabetli hastalarda "olağandışı bir hemoglobin" olarak tanımlanmıştır. HbA<sub>1c</sub> seviyesi hastanın diyabet hastası olup olmadığı ve yaklaşık son 3 aylık dönemde kan glukoz seviyesi hakkında bilgi vermektedir. HbA<sub>1c</sub>'nin test edilmesi, anlık kan şekeri yerine kronik glisemi ölçümü için kullanılmaktadır. 1988-2004 yılları arasında yapılan sekiz çalışmaya bakıldığında HbA<sub>1c</sub> konsantrasyonlarının %6,5'in üzerinde olması, kan glukoz konsantrasyonları olarak diyabetik retinopati gelişimi ile en azından güçlü bir korelasyona sahip olduğu bildirilmiştir (Emden, 2014).

### **2.1.4. Diyabette Deneysel Modeller**

Diyabet birçok hayvan türünde farmakolojik veya genetik manipülasyonlar ile oluşturulabilmektedir. Diyabet deneylerinin birçoğu kemirgenler üzerinde gerçekleştirilmektedir. Fare modellerinin iyi tanımlanmış 200'den fazla cins kökenli soyun bulunabilmesi, transgenik teknolojiler yoluyla spesifik genlerin silinmesi veya aşırı ekspresyonu nedeniyle en çok kullanılan modellerden birisi olduğu bildirilmiştir (Bliss, 2000; Fröde ve Medeiros, 2008).

1838 yılında Wöhler ve Liebig sonradan alloxan olarak adlandırılan bir pirimidin türevi sentezlemiş, 1943 yılında Shaw dunn ve Mclethie ilacın deney hayvanlarında pankreatik  $\beta$  hücrelerinin spesifik nekrozuna bağlı olarak şeker hastalığına neden

olabileceğini bildirmişlerdir. Ortaya çıkan insülinopeni “alloksan diyabet” olarak adlandırılan deneysel diabetes mellitus durumuna neden olmaktadır. Alloksan dialürük asitin indirgeme ürününün deney hayvanlarında diyabetojenik olduğu ve butilalloksan özdeş ultrastrüktürel değişiklikler gibi lipofilik alloksan türevleri şeklinde ortaya çıktığı belirtilmiştir (Lenzen, 2008).

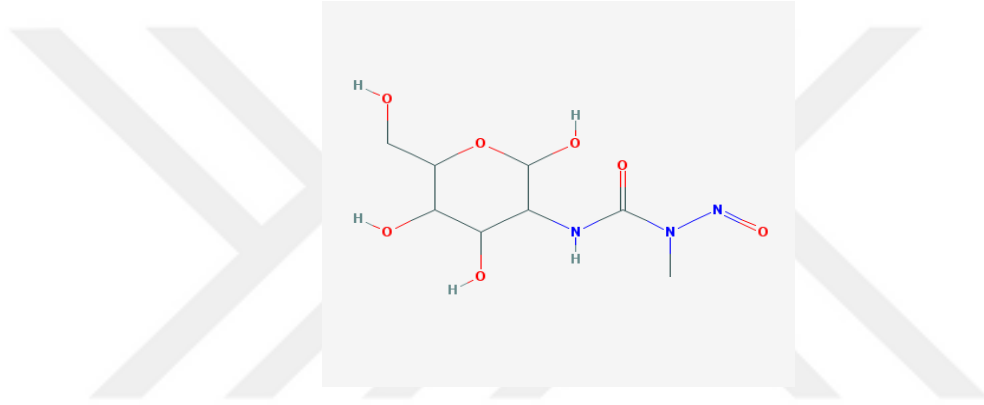
1996-2006 yılları arasında etnofarmakoloji alanında yayınlanan çalışmaların çoğunda streptozotosin (STZ) ile alloksan en çok kullanılan ilaçlardır ve bu modeller hastalığın çeşitli yönlerini incelemek için kullanışlıdır. Her iki ilaç da parenteral yoldan (damar içi, periton içi veya deri altı) uygulandığında diyabetojenik etkisini gösterir. Şeker hastalığının uyarılması için gerekli olan bu maddelerin dozu hayvan türüne, uygulama yoluna ve beslenme durumuna bağlıdır. Bu maddelerin uygulanan dozuna göre, tip 1 veya tip 2 DM ya da glukoz intoleransına benzer sendromlar indüklenebilir (Fröde ve Medeiros, 2008). STZ bütün organizmada olduğu gibi pankreasın  $\beta$  hücreesindeki değişikliklere neden olduğunun anlaşılması için deney hayvanlarında diyabetojenik bir madde olarak kullanılmıştır. STZ bir glukoz taşıyıcı (GLUT2) aracılığıyla  $\beta$  hücrelerine girer ve DNA'nın alkalizasyonunu neden olur. STZ'nin güçlü alkilleyici özelliği, toksisitesinin başlıca sebebidir (Mythili ve ark, 2004).

Sıçanlarda diyabet oluşturmak için kullanılan doz periton içi olarak 60-80 mg/kg, farelerde ise 150 mg/kg olduğu bildirilmiştir. Ölçülen kan glukoz seviyesi 200-300 mg/dl aralığı ve üzerinde ise hayvan diyabetik olarak kabul edilmektedir. Sıçanlarda dozun 40 mg/kg altında olması diyabet oluşması için yetersiz kalmaktadır (Erbaş, 2015). Temel ve arkadaşları 2015 yılında Wistar albino ırkı sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada STZ uygulamasını periton içi olarak 50 mg/kg (0,01 M sitrat tamponda çözülürülerek (pH 4,5) tek dozda uygulamışlardır.

### **2.1.5. Streptozotosin**

Streptozotosin (STZ) onkolitik, onkojenik, diyabetojenik etkenli dar spektrumlu bir antibiyotiktir. 1959 yılında *Streptomyces achromogenes* kültürü tarafından üretilen STZ, deney hayvanlarında diyabetin indüksiyonu ve pankreas neoplazmlarının tedavisi için kullanılmaktadır. STZ, karsinojen MNU'nun 2-deoksideoksiglukoz'un N-metil-N-nitrosourea türevi olup, pankreatik  $\beta$  hücrelerini seçici olarak yok eder; çünkü glukoz taşıyıcısı, sitotoksik grubun (MNU) adacıklara alımını kolaylaştırır. STZ ile indüklenen

diyabet mekanizması, poli (ADP-riboz) sentetazı aktive eden DNA'ya zarar verebilir ve bu da NAD1'in tükenmesine yol açar ve sonuçta proinsülin sentezinde bir düşüşe neden olur (Murata ve ark, 1999). Ortamdaki protein glukozilasyonu ek yıkıcı faktör olarak davranmaktadır. DNA tamir edileceği zaman (ADP-riboz) polimeraz (PARP) aşırı bir şekilde stimule edilir. Bu durumda hücrel NAD<sup>+</sup> seviyeleri ve ATP depoları azalır. Hücrel enerji depolarının sonunda bitmesiyle birlikte β hücrelerinde nekrozis şekillenir. STZ proteinleri de metillemesine rağmen, DNA metilasyonu β hücre ölümünün esas sorumlusudur fakat protein metilasyonunun STZ'ye maruz kalan β hücrelerindeki fonksiyonel kayba katkıda bulunmaktadır. STZ'nin moleküler formülü Şekil 1'de yer almaktadır (Pieper ve ark, 1999; WEB\_1).



**Şekil 1.** Streptozotocinin moleküler formülü (C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>) (WEB\_1)

### 2.1.6. Diyabet ve Oksidatif Stres

Biyolojik sistemlerde elektron alıcı moleküllere serbest radikaller denir. Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine de oksidanlar denir. Oksidatif stres, biyolojik sistemde kararlı durumdaki reaktif oksijen veya oksijen radikallerinin ölçüsü olarak tanımlanır. Serbest radikal oluşumuyla atılımı arasındaki denge önemlidir. Oksidatif stres oluşumu için serbest radikal oluşumunda artış veya atılımdaki azalma oluşması lazımdır. Yapılan bazı çalışmalarda iki diyabet tipinde de reaktif oksijen türlerinde (ROT) artış görülmüştür (Johansen ve ark, 2005; Matough ve ark, 2012). Diyabette oksidatif stresin kaynakları glukoz otooksidasyonu, redoks dengelerinde kaymalar, E vitamini benzeri düşük molekül ağırlıklı antioksidanların doku konsantrasyonlarının azalması ve SOD gibi antioksidan savunma enzimlerinin yeterli olmamasından kaynaklanır. Serbest radikaller ve oksidatif stres retinopati, nefropati, nöropati gibi diyabet komplikasyonlarının oluşumu ve

patogenezinde rol oynar fakat yol açtığı mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Oksidatif stresin kaynağı, mitokondriden sızan ROT'nin uyarılmasıdır. Bu olay pankreatik  $\beta$  hücrelerinin apoptozu ile tip1 diyabetin başlaması ile ilişkilidir. Diyabetin başlangıç mekanizması komplekstir. Çünkü oksidatif stres hiperglisemiye neden olabildiği gibi, hiperglisemi de oksidatif strese neden olabilir (Baynes, 1991; Eken 2017; Hamamcıoğlu, 2017).

Diyabette artmış serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal veya fonksiyonel değişimlere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır. Artan oksidatif stresin, diyabet komplikasyonlarının gelişmesine katkıda bulunabilir. Süperoksit, hidrojen peroksit ve lipid peroksitler gibi ara maddeler hidroksil radikali gibi daha reaktif türlerin öncüleridir. İnhibitörler, öncülerin birikmesini sınırlayan süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidazlar gibi enzimleri içerir. Transferrin, seruloplazmin ve albümin gibi proteinler oksidasyon reaksiyonlarının katalizörleri olan serbest geçiş metali iyonlarının konsantrasyonunu sınırlandırarak inhibitör olarak işlev görürler. Radikal toplayıcılar, hidrofilik ve lipofilik (membran) ortamlarda reaktif radikalleri yakalayıp hidroksil radikal hasarını sınırlar. Suda çözünebilir temizleyiciler arasında askorbik asit (C vitamini), glutatyon ve ürik asit bulunur; lipid-çözünür çekiciler arasında tokoferol (E vitamini) ve ubiquinol bulunur. Oksidatif stres düzeyini temsil eden serbest radikallerin akışı, biyolojik moleküllerin kimyasal modifikasyonuna neden olur. Ortaya çıkan hasar, hücre ve doku fonksiyonlarını etkileyebilir (Baynes, 1991; Memişoğulları, 2005; Mıcılı ve ark 2012; Özcan ve ark, 2015).

### **2.1.7. Comet Assay**

Genetik materyalin sağlıklı olarak nesilden nesile aktarılması için DNA'nın yapısının korunması önemlidir. DNA çeşitli reaktiflerin hedefi olan ve hasara duyarlılığı yüksek olan bir moleküldür. Hasar kendiliğinden oluşabileceği gibi çevresel faktörlerin etkisiyle de oluşabilmektedir. Ağır hasar oluştuğunda DNA hasarı kısa dönemde replikasyon, transkripsiyon ve protein sentezi inhibisyonuna, uzun sürede mutasyon ve kromozomal anomalilere neden olur (Dinçer ve Kankaya, 2010).

Tek hücre jel analizi ve mikrojel elektroforezi olarak da adlandırılan Comet analizi, ilk kez 1984 yılında tek hücrelilerde DNA hasarının doğrudan görüntülenmesi için mikroeletroforetik bir teknik olarak kullanılmıştır (Ostling ve Johanson, 1984). Bir

mikroskop üzerinde, ince bir agaroz jeli içinde asılı az sayıda ışınlanmış hücre lize edilmiş, elektroforez yapılarak DNA floresan bağlayıcı boya ile boyanmıştır. Elektrik akımı çekirdekli DNA'yı çekirdekten çekerek rahat ve kırık DNA fragmanları göç etmiştir. Elde edilen görüntüler daha sonra "kuyruklu yıldızlar (COMET)" olarak adlandırılmıştır. DNA hasarının boyutunu belirlemek için ölçülmüştür. Ostling ve Johanson elektroforez sırasında kuyruklu yıldızın başından kurtulan DNA'nın derecesinin ışınlama dozunun bir fonksiyonu olduğunu gözlemlemiştir (Fairbairn ve ark, 1994).

Comet analizi benzersiz tasarımı ve tek tek hücrelerdeki DNA hasarının derecesinin doğrudan belirlenmesini sağladığı için bir popülasyondaki tüm hücrelerin aynı derecede hasar gösterip göstermediğini belirler. Tedavi sırasında hücrelerin heterojen tepkisi, dirençli olabilen hücrelerin küçük popülasyonlarını tanımlamak mümkün olduğundan, spesifik tedavi protokollerine tümör cevabının tahmin edilmesinde yardımcı olabilir. Tek hücre jel testi ayrıca DNA hasarını incelemek ve çeşitli deney koşulları altında tamir etmek için kullanılmıştır (Fairbairn ve ark, 1994; Collins 2004).

## **2.2. Civanperçemi (*Achillea millefolium*)**

Civanperçemi dünyada yaygın olarak bulunan ve kullanılan şifalı bitkiler arasındadır. Binlerce yıldır yara ve bulaşıcı hastalıkların yanı sıra diğer pek çok rahatsızlık için kullanılmıştır (Applequist ve Moerman, 2011).

*Achillea millefolium* bitkisi (Resim 1), İngilizcede “yarrow”, Arapçada “shavella, huzambil” olarak adlandırılmaktadır. *Compositae* (*Asterace*) familyasının bir üyesidir. Ülkemizde civanperçemi amel otu, akbaş otu ve akbaşlı gibi isimlerle bilinir (Bayram ve ark, 2013). Genellikle boyu 30-60 cm uzunlukta, yaprakları tüylü ve parçalı olup daha çok gövdenin alt kısmında açısız olarak dizilmiş şekilde bulunan otsu çok yıllık bir bitkidir. *A. millefolium* deniz seviyesinden 3500 metre yükseklikte dahi yetişebilir. Dünyanın her yerine yayılım gösterirler. Avrupa, Asya ve Amerika'da 130 tür, Türkiye'de 25 tür ve İran'da 19 tür tespit edilmiştir. Bilinen en eski bitkisel kaynaklı ilaçlardan biridir. Güneşli ve sıcak ortamlarda, dar tarla yollarında, yol kenarlarında, çayırarda ve güneşli yamaçlarda kümeler halinde yetişir. Mayıs ve Ekim ayları arasında çiçeklenme gözlenir, çiçekler genelde beyazdır (Mitich, 1990; Hutchens, 1991; Mariott, 2010; Lakshmi ve ark, 2011; Akram, 2013; Ali ve ark, 2017).



**Resim 1.** *Achillea millefolium*'un tohum, kök, yaprak, çiçek görüntüsü (WEB\_2).

*Achillea* türlerinin birbirlerine benzemesi nedeniyle tür teşhisinin yapılması oldukça zordur. Bu nedenle taksonomik sorunların çoğu biyosistematik araştırmalar sayesinde çözülür. *A. millefolium*'un binomial sınıflandırması Tablo 4'te yer almaktadır. Diploid, tetraploid, hekzaploid ve oktoploid formları Avrupa'da yayılım gösterir. *A. millefolium* bitkisinin en çok bulunan türü  $2n=54$  kromozoma sahip hekzaploid formudur (Tyrl, 1975; Seçmen ve ark, 2008).



**Tablo 4.** *A. millefolium*'un binomial sınıflandırması (Seçmen ve ark, 2008)

<b>Alem</b>	<i>Plantae</i>
<b>Aile</b>	<i>Asteraceae (Compositae)</i>
<b>Cins</b>	<i>Achillea</i>
<b>Tür</b>	<i>A. millefolium</i>
<b>Binomial ismi</b>	<i>Achillea millefolium</i> L.

### 2.2.1. Civanperçemi'nin Etnobotaniği

Bitkilerin tıbbi özellikler içerdiği ve sağlığa yararlı olduğu bilindiği için, birçok bitki türü insan ve hayvan hekimliğinde kullanılmaktadır. Halk arasında “civanperçemi” olarak bilinen *A. millefolium* L. binlerce yıldır kullanılan tıbbi bitkilerden biridir. Troya savaşında (MÖ 1200) askerlerin kanayan yaralarını durdurmak ve yaraları iyileştirmek için kullanılmış olup, *Achillea* ismini Yunan efsanesi Achilles'ten almıştır. *Millefolium* ismi ise çok ince ve hassas ayrılmış yaprakları nedeniyle “çok yapraklı” anlamında kullanılmıştır (Chandler, 1982; Mitich, 1990; Nemeth ve Bernath, 2008).

*A. millefolium* bitkisi etnobotanik bakımdan “akbaşı, barsama otu, binbir yaprak otu, kanama otu, asker bitkisi, yara bitkisi” gibi isimlerle de ifade edilmektedir (Nemeth ve Bernath, 2008). Amerikan Sivil Savaşı'nda çok fazla kullanılması sonucu yara bitkisi olarak ifade edilmiştir (Angier, 2000). İlk defa Dioscorides tarafından kayıt altına alınmış olup Almanya, Çek Cumhuriyeti, Fransa ve İsviçre gibi ülkelerin farmakopesinde CP'nin tıbbi özellikleri tanımlanmıştır (Kremers, 1921; Cavalcanti ve ark, 2006).

### 2.2.2. Civanperçemi'nin Kullanım Alanları

Yerli Amerikalılar civanperçemini çeşitli amaçlar için kullanmışlardır. En çok kullanım alanları arasında abortif, analjezik, ateş düşürücü, baş ağrısı, boğaz ağrıları, boyun krampları, burkulmalar, dermatolojik hastalıklar (kurdeşen, diğer kaşıntılı cilt hastalıkları), diş ağrıları, hemoraji, hemoroid, karaciğer hastalıkları, kulak ağrısı, laksatif, ödemli doku, soğuk algınlığı, sindirim bozukluğu, stimulan, tonik, uyku bozukluğu, yara ve yanık tedavisi gibi durumlar sayılabilir (Chandler ve ark, 1982).

Bir çok toplum yara iyileştirici etki, emenagog (regli kanamasının uyarılması) etki, amenore (regli görülmemesi), anemi, antihelmentik, antiinflamatuvar, antispamolitik, antiviral, diüretik, dizanteri, dispepsi, diyaforetik, diyare, epilepsi, fistül, grip, hipertansiyon, histeri, kızamık, kızarıklık, kontraseptif, lökore, melankoli, menoraji, pnömoni, suçüçeği, stimulan, romatizma, tüberküloz, ülser ve üriner inkontinans gibi amaçlarla CP'yi sıklıkla kullanmışlardır (Chandler ve ark, 1982; Hutchens, 1991; Angier, 2000).

### 2.2.3. Civanperçemi Fitokimyası

Civanperçemi ile ilgili kimyasal analizler Hoffman'ın 1719 yılında bitkinin mavimsi renkte uçucu yağ elde etmesine dayanır. Miller 1916 yılında yazdığı makalede bitkinin asetik asit ve sineol isimli iki bileşüğinden bahsetmiştir (Chandler ve ark, 1982).

Civanperçeminin içeriğinde monotерpenler, seskiterpenler, sinarin ve flavanoidler bulunur. 1700'lü yıllarda *A. millefolium*'dan mavimsi uçucu yağ elde edildiğini birçok araştırmacı bildirmesine rağmen, Bley bu bitkiden ilk kez uçucu yağ elde eden araştırmacı olarak bilinmektedir (Chandler ve ark, 1982). Azulen ve kamazulenden dolayı uçucu yağın rengi mavidir (Graham, 1933; Geissman ve Griffin, 1971). *A. millefolium* uçucu yağının bileşimindeki değişikler bitkinin olgunlaşması, seskiterpenler ve artan miktarda monotерpen ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Civanperçemi uçucu yağ mevcut bileşeni 1,8-sineol, alfa kadinen, alo-osimen, alo-osimen izomer,  $\alpha$ -Pinen, azulene, borneol, bornil asetat, butirik asit, farnesen, furfural, furfural-alkol, humulen, izobutil asetat, izovalerik asit, kamazulen, kamazulen karboksilik asit, kamfor, karyofillen, kopaen, kumin aldehit, limonen, mentol, mirsen, öjenol, p-simen, sabinen, salisilik asitdir. (Rohloff ve ark, 2000; Nemeth ve Bernath, 2008).

Esansiyel yağ içerikleri bitkinin yetiştiği bölgeye göre farklı kimyasal profiller göstermektedir. Küba'da %20 oranında karyofilen oksit içerdiği, Rusya'da %46-74 oranında kamazulen ve  $\beta$ - karyofilen içerdiği bildirilmiştir (Pino ve ark, 1998; Orth ve ark, 1999). Estonya'da CP yaprak ve çiçeklerinin uçucu yağları incelendiğinde  $\beta$ -pinen %35,9-37,1 kemotipi içerdiği, ikinci ana bileşeni ise 1,8-sineol'dür, yağ sadece %0,2-0,4 oranında kamazulen içerdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada başka bir numunenin çiçekleri incelendiğinde kamazulen tip uçucu yağ üretimi %31,5, ikinci ana bileşen  $\beta$ -pinen %28,9 bulunmuştur. Aynı numunenin yaprak yağında  $\beta$ -pinen %30,3 kemotipi iken, kamazulen

%6,6 sadece üçüncü temel bileşendir. Kanada'da yapılan çalışmada *A. millefolium*'un çiçeğindeki kamazulen %26,7, üçüncü ana bileşendir (Mockute ve Judzentiene, 2003).

Kamazulen, guaiane tipi seskiterpen lakton matrisinde hidrodistilasyon sırasında oluşan bir üründür; buhar distilasyonunda, sıcaklık yüksek olduğunda, kamazulen içeriği artar (Adam ve Zapp, 1998). Orav ve ark'nın 2001 yılında yapmış olduğu çalışmada *A.millefolium* uçucu yağ eldesi GC ve GC/MS ile analizi yapılmış, 66 bileşen tespit edilmiştir. Yağ içeriği bileşenleri  $\beta$ -pinen (%14,9-29,2), sabinen (%2,9-17,6), 1,8-sineol (%6,9-18,3),  $\beta$ -karyofilendir (%3,3-6,2) -nerolidol (%0,5-6,4), guaiol (%0,3-11,8) ve kamazulendir (%0,1-13,3). Bunlar monoterpen fraksiyonu olup toplam yağın %41-61'ini oluşturmaktadır. Damıtılma süresinin 0,5-3 saatten başlayarak artması, yağın verimini arttırmıştır. Uçucu yağ veriminin ve kalitesinin genetik, iklimsel ve toprak koşullarına, bitki yaşına ve bitki örtüsüne, bitki anatomik kesimine ve hasat mevsimine bağlı olduğu bildirilmiştir (Chandler ve ark, 1982; Rohloff ve ark, 2000).

Monoterpenler, seskiterpenlere oranla *A. millefolium*'un uçucu yağının %90'ını oluşturan metabolitlerdir. Bununla birlikte, uçucu yağın bileşimindeki değişim, kemotip, ekotip, fenofazlar, yükseklik ve sıcaklık, fotoperiyod, nispi nem ve ışık şiddeti gibi çevresel koşullardaki değişiklikler ile ilgili çeşitli faktörlere bağlı olabilir. Genetik geçmiş, bitkilerin sekonder metabolitlerinin kimyasını etkileyen faktör olabilir (Zahara, 2014).

Flavonoidler, antioksidan özelliklerinden, çeşitli enzimleri veya hücre reseptörlerini modüle edebilme yeteneğinden kaynaklanan geniş biyolojik aktivite gösteren bir fitokimyasal grubu temsil eder. Flavonoidler çeşitli bitkiler tarafından yüksek oranda üretilen çeşitli fitokimyasal gruplardır. Hoerhammer, CP'deki flavonoidleri izole etmiş, spazmolitik aktiviteyi flavanoidlere bağlamıştır. Flavonoidler 1930'larda Albert Szent-Gyorgi tarafından antioksidan aktiviteye sahip bileşikler olarak keşfedilmiştir. CP'nin yapısında bulunan apigenin önemli flavonoidlerden olup, bitkinin kök, dal, yaprak kısımlarında yer alır. Boya, kozmetik ve gıda gibi alanlarda kullanımı mevcuttur (Chandler ve ark, 1982; Hodek ve ark, 2002; Benetis, 2008).

CP'nin içeriğindeki flavonoidler 5-Hidroksi-3,6,7,4'-tetrametoksiflavon, apigenin, apigenin glukozidleri, artemetin, flavanoid glukozidleri, izorhamnetin, katisin, kuersetin glukozid, luteolin, rutin (ramnozid) olarak sıralanabilir (Chandler ve ark, 1982).

Zanon 1846 yılında yaptığı çalışmada Achilleine isimli bir alkaloidin mevcut olduğunu bildirmiştir (Landers, 1958). Miller ve Chow 1954 yılında N-metil grubu ve bir karboksil amid fonksiyonuna sahip gliko alkaloid olarak achilleini formüle etmişlerdir. Ayrıca hidroliz direncinin bazik azot atomu ve karboksil amid grubunun yakınında olduğunu, çünkü asit hidrolizinin komşu bir amonyum iyonu tarafından engelleneceğini belirtmişlerdir. Glikoalkoloid olarak tanımlanmış bu bileşikle yapılan çalışmada kanama durdurucu bir ajan olduğunu tespit etmişlerdir. Ahilletin, ahisein, betain, betonisin (achillein), homostashidrin, kolin, moskatin, stachidrin, trigonellin civenperçeminin yapısındaki alkaloidlerdir (Chandler ve ark, 1982).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Cihazlar

Çalışmada, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi (ADÜ) Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda yer alan çeşitli cihaz ve malzemeler Tablo 5'te yer almaktadır. Ayrıca cerrahi makas, pens, mikrosantrifüj tüpleri (Isolab), eldiven (Isolab), polietilen enjektör 5, 10 ml (Beybi), insülin enjektörü (Beybi), lam, lamel, lam/lamel pensi (Isolab), beher glass (Isolab), değişik hacimlerde mikro pipetler ve pipet uçları, farklı boyutlarda deney tüpleri, balon joje gibi malzemeler kullanıldı. Dokular analiz edilinceye kadar -80°C dondurucuda (NU 9668E, Nuair, Japonya) muhafaza edildi.

**Tablo 5.** Comet Assay, antioksidan ve oksidan ve analizlerinde kullanılan cihazlar

Kullanılan Malzeme	Marka	Analiz
Glukometre	Countour TS, Bayer	Deney Hayvanları Aşaması
Sıçan besleme sondası (gavaj)	Harvard Apparatus	Deney Hayvanları Aşaması
Heparinli tüp	BD Vacutainer®	Deney Hayvanları Aşaması
Bağlı sirkülasyon soğutucu	Julabo FL300	Comet Assay
Güç kaynağı	Cleaver Scientific CS 300V	Comet Assay
Kesintisiz güç kaynağı	MGE Evolution 650	Comet Assay
Dijital pH metre	Denver model 225	Comet Assay, MDA, SOD, GSH
Hassas terazi	Shimadzu AX 120	Comet Assay, MDA, SOD, GSH
Su banyosu	Memmert WNB 10	Comet Assay, SOD,
Flöresan mikroskop	Leica DM 3000	Comet Assay
Flöresan mikroskopa bağlı dijital video kamera	Basler Vision Technologies	Comet Assay
Rotator	J.P. SELECTA, s.a. Fuse(A) 1	Comet Assay
Buzdolabı, derin dondurucu	Samsung RL62ZBSW	Comet Assay
Soğutmalı santrifüj	Hettich Universal R320	Comet Assay, MDA, SOD, GSH
Isıtmalı manyetik karıştırıcı	IKA RH Basic 2 ve Nüve MK 418	Comet Assay, MDA, SOD, GSH
10 ile 20 lam kapasiteye sahip yatay elektroforez tankı	Cleaver Scientific	Comet Assay
Vorteks	Nüve NM 110 ve IKA MS^3 Basic	MDA, SOD, GSH
Spektrofotometre	Shimadzu UV-1601, Kyoto, Japan	MDA, SOD, GSH
Teflon başlıklı homojenizatör	IKA Overhead Stirrer, Almanya	Doku Homojenizasyonu

##### 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmanın deneysel bölümünde kullanılan civanperçemi yağı gaz kromatografi analizi yapılmış olup hazır olarak temin edildi. Streptozotosin (Sigma S0130) sodyum sitrat

tamponda çözdürülerek uygulandı. Dokuların homojenizasyonunda potasyum dihidrojen fosfat (Sigma 04243), sodyum fosfat dibazik (Sigma S-9763), sodyum klorür (Sigma S-9625) ve potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104936) kullanılarak fosfat tampon hazırlandı. Çalışmada Comet Assay analizi için kullanılan kimyasallar Tablo 6’da yer alırken, karaciğer dokusunda oksidan ve antioksidan parametreleri için kullanılan kimyasallar Tablo 7’de yer almaktadır.

**Tablo 6.** Comet Assay analizinde kullanılan kimyasal maddeler

<b>Kimyasal Adı</b>	<b>Marka ve Kodu</b>
Düşük erime noktalı agar (LMA)	Sigma A9045, Tip VII
Histopaque-1077	Sigma 10771
Normal erime noktalı agar (NMA)	Sigma A7174, Tip VI-A
Trisma base	Sigma T1503
Trion x-100	Fluka 93443
PBS tablet (Mg <sup>+2</sup> -Ca <sup>+2</sup> free)	Sigma P4417
DAPI	Sigma D9542
Hidroklorik asit	Sigma 30721
Sodyum klorür	Sigma S9625
Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) disodyum tuzu	Sigma E-9884
Sodyum hidroksit	Sigma S5881
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Sigma D5879

**Tablo 7.** Oksidan ve antioksidan parametrelerin analizinde kullanılan kimyasallar

<b>Kimyasal Adı</b>	<b>Marka ve Kodu</b>	<b>Analiz</b>
Ksantin oksidaz	Sigma X-1875	SOD
Bakır klorür	Merck 818247	SOD
Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) disodyum tuzu	Sigma E-9884	SOD, GSH
Nitroblue tetrazolium	Sigma N-6876	SOD
Sodyum karbonat	Merck 818247	SOD
Sığır Albümini	Sigma A-7906	SOD
Etanol	Merck 100986	SOD
Kloroform	Merck 102444	SOD
Sodyum hidroksit	Sigma S5881	SOD
Ksantin	Sigma X-0626	SOD
Amonyum sülfat	Merck 101217	SOD
Trikoloro asetik asit	SigmaS-27242	MDA
Tiobarbiturik asit	Sigma T-5500	MDA
Hidroklorik asit	Sigma 30721	MDA
Glutasyon	Merck 104090	GSH
Metafosforik asit	Merck 100546	GSH
DTNB	Sigma D-8130	GSH
Sodyum sitrat	Sigma S-4641	GSH

### 3.1.3. Civanperçemi Yağı

CP yağı mısır yağı ile birlikte uygulandı; ayrıca mısır yağı CP uygulanmayan gruplara verildi. Gaz kromatografisi analizi (Primavera<sup>®</sup>) yapılmış olarak temin edilmiş olan civanperçemi yağı içeriği Tablo 8’de gösterilmiştir.

**Tablo 8.** Civanperçemi yağı fitokimyasal içeriği.

İçerik	% Oranı	İçerik	% Oranı
a-Pinen	1,59	Borneol	1,40
Sabinen	8,67	Terpinen-4ol	0,45
b-Pinen	11,00	a-Terpineol	0,71
b-Myrcen	0,81	Chrysanthenylacetat	0,87
Limonen	0,64	Lavandulolacetat	4,06
1,8-Sineol	2,71	Bornylacetat	0,45
Artemisiaketon	0,78	b-Bourbonen	0,76
g-Terpinen	0,48	b-Caryophyllen	7,72
Linalool	0,07	t-b-Farnesen	0,40
Kampher	0,56	a-Humulen	0,99
Lavandulol	1,77	Germacren D	8,02
d-Cadinen	0,70	iso-Spathulenol	0,83
Caryophyllenoxid	1,73	a-Bisabolol	0,19
Kamazulen	22,64	Viridiflorol	1,03

### 3.1.4. Deney Hayvanlarının Bakımı

Çalışmada on iki haftalık yaşta, ağırlıkları 220-257 g arasında değişen 35 adet erkek Wistar Albino soyu sıçan kullanıldı. Deney hayvanları, ADÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışmada sıçanlar hayvan refahı önerileri dikkate alınarak, her bir kafeste en fazla dört adet sıçan olacak şekilde, yem ve su kısıtlaması yapılmaksızın, deney hayvanları için özel üretilmiş Tablo 9'da yer alan analitik bileşenine sahip fare sıçan pellet yemi kullanıldı.

**Tablo 9.** Sıçan yemi içeriği.

İçerik	% Oranı	İçerik	% Oranı
Ham Protein	%23,00	A Vitamini	20,000 Iu/Kg
Ham Kül	%7,00	D3 Vitamini	3,000 Iu/Kg
Ham Selüloz	%4,7	E Vitamini	25 Mg/Kg
Ham Yağ	%3,8	Sodyum	%0,280
Kalsiyum	%0,9	Fosfor	%0,6

Polikarbon kafeslerde, 21±1 °C ortam sıcaklığına, %45-60 nem oranına, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık aydınlatma programına sahip ADÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan çalışma odasında sıçanlar yetiştirildi. Hayvanların ortama adaptasyonu için geçirilen iki haftalık süreden sonra deney grupları oluşturularak çalışmanın uygulama aşamasına geçildi. Çalışmada kullanılacak olan hayvan sayısı benzer çalışmalar, istatistiksel önem ve etik değerler göz önüne alınarak minimum düzeyde tutulmaya çalışıldı. Bu araştırma ADÜ Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'ndan 64583101/2016/102 numaralı onay alınarak yapıldı.

### 3.1.5. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışma başlamadan önce tüm hayvanların genel sağlık muayenesi ile kan şeker düzeyleri kontrol edildi. Deney gruplarının oluşturulmasında her grubun canlı ağrlık ortalamalarının birbirine yakın olmasına, diyabet gruplarında yer alacak olan sıçanların diyabet olmasına ve her gruptaki sıçan sayısının benzer olmasına dikkat edildi. Gruplar diyabet grubu (D), diyabet-civanperçemi grubu (D-CP), kontrol-civanperçemi grubu (K-CP) ve kontrol grubu (K) olarak adlandırıldı. Tablo 10’da deney grupları ve yapılan uygulama yer almaktadır.

**Tablo 10.** Deney grupları

Grup	n	Uygulama	Açıklama
Diyabet CP (D-CP)	8	STZ+ CP	Diyabetli sıçanlar, 400 mg/kg CP, gavaj yoluyla
Diyabet (D)	9	STZ	Diyabetli sıçanlar, mısır yağı, gavaj yoluyla
Kontrol CP (K-CP)	9	Kontrol+ CP	Sağlıklı sıçanlar, 400 mg/kg CP, gavaj yoluyla
Kontrol (K)	9	Kontrol	Sağlıklı sıçanlar, mısır yağı, gavaj yoluyla

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Deney Hayvanlarında Deneysel Diyabet Oluşturulması

İki haftalık uyum süresinin sonunda enjeksiyondan önce deneklerin başlangıç ağrlıkları (g) ve bazal kan glukoz değerleri (mg/dl) glukometre ile ölçüldü. Bazal kan glukoz değerleri için kuyruk veninden kan örnekleri alındı. Seçilen deneklere 0,5 ml sodyum sitrat (pH=4,5) tamponu içersinde taze olarak hazırlanan STZ çözeltilisinden 50 mg/kg canlı ağrlık olacak şekilde tek doz periton içi enjeksiyon yoluyla (Resim 3) verilerek deneysel diyabet oluşturuldu (Cetto ve ark, 2000).



**Resim 2.** Streptozotosinin periton içi uygulanması.



STZ enjeksiyonu yapılmış hayvanların içme suyuna 24 saat süre ile %5 oranında glukoz ilave edildi. Enjeksiyondan 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örnekleri glukometre ile ölçüldü (Resim 3) ve glukoz düzeyi 250 mg/dl üstünde olan denekler diyabet kabul edilerek deney grupları oluşturuldu.



**Resim 3.** Kuyruk veninden alınan kan örneğinin glukometre ile ölçümü.

STZ uygulamasından 72 saat sonra oluşturulan gruplara gavaj yoluyla (Resim 4) diyabet grubuna (D) 400 mg/kg mısır yağı, diyabet-civanperçemi grubuna (D-CP) 400 mg/kg CP, kontrol-civanperçemi grubuna (K-CP) 400 mg/kg CP ve kontrol grubuna (K) 400 mg/kg mısır yağı 28 gün boyunca, her gün aynı saatte ve aynı kişi tarafından verilmesine dikkat edilerek uygulandı (Takzare ve ark, 2011).



**Resim 4.** Civanperçemi yağı gavaj uygulaması.

Spontan iyileşmelerin belirlenebilmesi ve hayvanlarda canlı ağırlığın takip edilebilmesi için, her hafta aynı gün ve aynı saatte hayvanların canlı ağırlıkları (Resim 5) ve kan glukoz değerleri ölçüldü.



**Resim 5.** Hayvanlarda canlı ağırlığın takibi.

### 3.2.2. Deneyin Sonlandırılması

Çalışmanın sonunda deney hayvanları 5 mg/kg Ksilazin (Alfazyne®) ve 100 mg/kg Ketamin (Ketalar®) ile anestezi altına alınarak sakrifiye edildi. Deney hayvanları cerrahi işleme tabi tutularak karın boşluğuna ensizyon yapıldı. Açılan karın boşluğundan median hat boyunca craniale doğru ilerleyerek diyafram kesilerek göğüs boşluğuna girildi. Enjektör yardımıyla kalpten, glukoz, HbA<sub>1c</sub> değerlerinin ölçülmesi ve Comet Assay analizi için heparinli tüplere toplamda 5 ml kan alındı. Kan alındıktan sonra oksidan ve antioksidan parametrelerinin değerlendirilmesi amacıyla karaciğer bir bütün olarak çıkarıldı.

### 3.2.3. Comet Assay Yöntemi

Comet assay analizi için kullanılan solüsyonlar; Düşük erime noktalı agar çözeltisi (LMPA): 25 ml PBS de 125 mg LMPA çözdürüldü, cam tüplerde 5'er ml lik küçük hacimlere bölünerek +4 °C'de buzdolabında saklandı.

Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik Çözeltisi (PBS): 2 adet PBS tablet 200 ml distile suda çözdürüldü ve otoklavda sterilize edildikten sonra +4 °C'de buzdolabında saklandı.

Elektroforez Tampon Çözeltisi: 300 mM NaOH, 200 mM etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) tek tek stok hazırlanıp sonra karıştırıldı. 45 ml NaOH, 7,5 ml EDTA 1500 ml ye distile su ile tamamlandı. Tampon çözelti hazırlandıktan sonra buzdolabında soğutularak kullanıldı. Kullanılmadan önce pH kontrolü yapıldı (pH>13).

DAPI (4', 6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) çözeltisi: 100 ml distile suda 1 mg DAPI çözüldükten sonra 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine birer ml olarak aktarıldı ve 10 µl/ml'lik çözelti elde edildi. Elde edilen çözelti daha sonra kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.

200 mM EDTA Çözeltisi: 200 ml distile suda 14,89 g EDTA disodyum tuzu çözümlenerek pH 10'a ayarlandı ve oda sıcaklığında saklandı.

Lizing Stok Çözeltisi: 146,1 g NaCl, 37,2 g EDTA disodyum tuzu, 1,2 g Tris, 500 ml distile suda çözüldü. 10 g NaOH eklenerek pH 10'a ayarlandı. 890 ml ye distile su ile tamamlanmış 2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris içeren stok çözelti oda sıcaklığında saklandı. Kullanılacağı zaman lam taşıyıcı kutuda 178 ml stok lizing çözeltisi 2 ml Trion x-100 ve 20 ml dimetil sülfoksit ile karıştırılıp buzdolabında tutuldu.

Normal Kaynama Noktalı Agar Çözeltisi: 50 ml PBS içerisinde 500 mg NMA çözümlenerek, %1'lik NMA çözeltisi hazırlandı.

Nötralizasyon Tampon Çözeltisi: 750 ml distile suda 48,5 g tris tartılıp çözümlenerek pH 7,5'e ayarlandı. 1000 ml ye distile su ile tamamlandı ve oda ısısında saklandı.

Sodyum Hidroksit (NaOH) Çözeltisi (10N): 500 ml distile suda 200 g NaOH çözüldü.

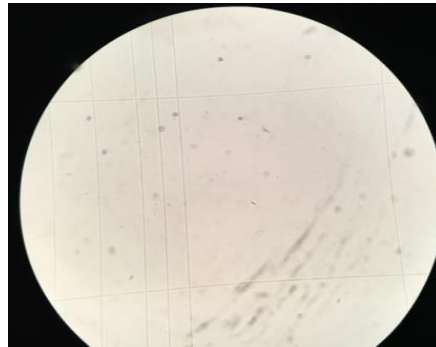
Sıçanlardan heparinli tüplere alınan kan örnekleri pıhtılaşmaları önlemek için rotator yardımıyla sürekli döndürüldü ve en fazla 2 saat içinde işlendi. Tablo 11'de Comet assayın yapılış basamakları yer almaktadır.

**Tablo 11.** Comet Assay basamakları.

1. Hücresel materyalin hazırlanması
2. Mikroskop lamlarının hazırlanması
3. Lizis aşaması
4. Alkali ortamda DNA süperkoil yapısının açılması
5. Elektroforez aşaması
6. Nötralizasyon aşaması
7. DNA'nın boyanması cometlerin görüntülenmesi
8. Comet sayımı ve DNA hasarının belirlenmesi

Hücresel Materyalin Hazırlanması: PBS'ten 1 ml alınarak üzerine 1 ml kan örneği ilave edildi, 1 ml Histopaque-1077 pastör pipeti yardımıyla cam tüpün dip kısmına eklendi. 2100 devirde 25 dk +4 °C'de santrifüj aşamasından sonra, içerisinde lenfosit barındıran bulutsu tabaka alındı. Alınan aradaki bulutsu tabaka farklı bir cam tüpe konularak 5 ml PBS solusyonu eklendi ve ardından 2100 rpm'de +4 °C'de 10 dk santrifüj yapıldı. Süpernatant atılıp dipte kalan pellet 5 ml PBS solüsyonu ile yıkanıp vortekslendi, 2100 rpmde +4 °C'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısım atıldı, dipte kalan pellet 500 µl freezing solüsyonu ilave edildi ve daha sonra değerlendirilmek üzere -80 °C'de mikrosantrifüj tüplerinde saklandı.

Mikroskop Lamlarının Hazırlanması: -80 °C'de mikrosantrifüj tüplerinde saklanan lenfositler 37 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 1 dk tutuldu. 1 ml içerisindeki toplam lenfosit sayısı thoma lamı ile ışık mikroskopunda (Resim 6) sayıldı.



**Resim 6.** Işık mikroskopta lenfosit sayımı için thoma lamı görüntüsü.

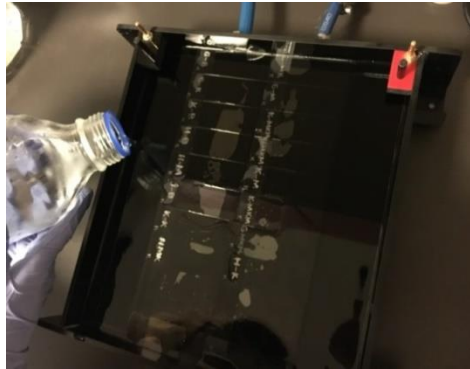
Sayılan lenfositler 1 jelde 15 000 hücre kalacak şekilde hesaplanarak sulandırıldı. PBS-lenfosit karışımından düşük erime noktalı agar (LMPA) ile karıştırıldı ve normal erime noktalı agar (NMA) ile kaplanmış lamların üzerine mikropipetle 75 µl alınıp, lam üzerine yayılıp üzeri lamelle kapatıldı. Lam buz kasetleri üzerinde donduruldu.

Lizis Aşaması: Lamlar buz kasetlerinde donduktan sonra lamel ayrılıp, lamlar şaledaki lizing çözeltisi içine konup (Resim 7), buzdolabında +4 °C’de bekletildi.



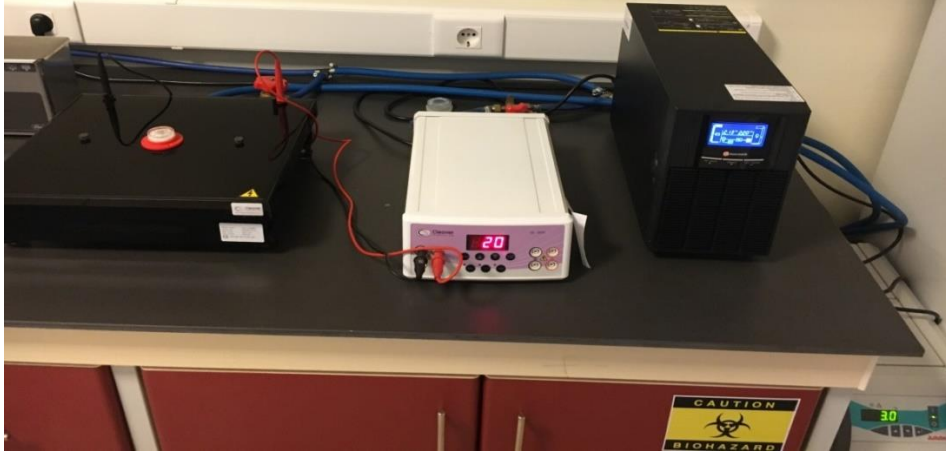
**Resim 7.** Şale içersinde lizing solüsyonu ile kaplanan lamlar.

Alkali ortamda DNA süperkoil yapısının açılması (Alkali unwinding): Bir gece buzdolabında bekletilen lamlar şaleden çıkarılarak elektroforez tankında bulunan tampon içerisine konuldu (Resim 8), burada DNA çift sarmal yapısının açılması için yüksek alkali ortamda 40 dk bekletildi.



**Resim 8.** Elektroforez tankına lamların yerleştirilmesi ve solüsyon.

Elektroforez Aşaması: Yüksek alkali ortamda DNA çift sarmal yapısı, 40 dk’nın sonunda tek zincire indirgenerek 25 volt, 300 mA’de 20 dk yürütüldü (Resim 9). Elektroforez tankları +4 °C’ye ayarlanmış sirkülasyonlu soğutucu ile soğutuldu.



**Resim 9.** Elektroferez görüntü.

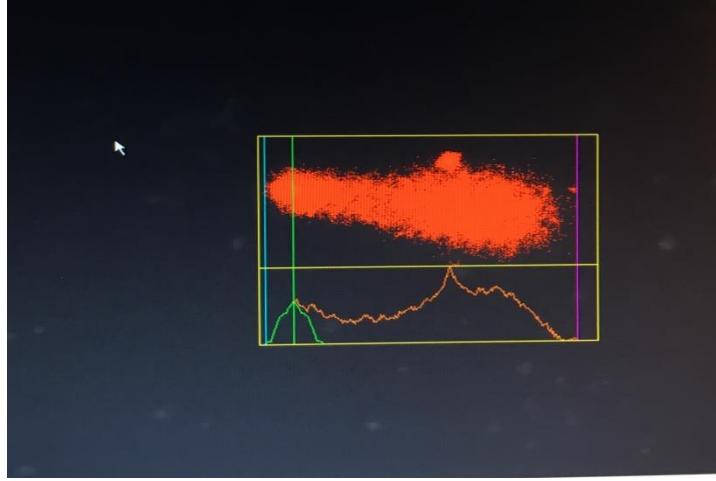
Nötralizasyon Aşaması: Elektroferez aşaması bittikten sonra, lamlar içersinde soğuk nötralizasyon tamponu bulunan şale içersisine alındı. Burada 10 dk bekletilip, işlem 2 kere tekrarlandı. Lamlar sırasıyla %50, %70 ve %90'lık alkolde 5'er dakika bekletilerek sabitlendi (Resim 10), karanlık ortamda kurutuldu ve kapalı ışık almayan kutuda saklandı.



**Resim 10.** Şale içersisinde yer alan lamlar.

DNA'nın boyanması ve Cometlerin görüntülenmesi: Değerlendirme aşamasında DAPI (4', 6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) her bir lama 75 µl damlatılıp, üzeri lamelle kapatıldı.

Comet sayımı ve DNA hasarının belirlenmesi: Lamlar, filtre ataçmanlı floresan mikroskobuna bağlı kameradan alınan canlı görüntü özel yazılımla (Perceptive Instruments, Comet Assay v4,3) değerlendirildi (Resim 11). DAPI ile boyanan slaytların üzerine lamel kapatılarak 20x10 büyütme flöresan mikroskop ile 100 adet hücre DNA görüntüsü değerlendirildi. Değerlendirme Comet Assay Perceptive Instruments-v4,3 bilgisayar yazılımı aracılığıyla gerçekleştirildi.



**Resim 11.** Comet Assay analizinden bir görüntü.

### **3.2.4 Oksidan/Antioksidan Parametre Analizleri**

#### **3.2.4.1. Doku Homejenizasyonu**

Karaciğer dokusu çözdürüldükten sonra 150 mM PBS (pH 7,4) içerisine alınarak durulandı. Teflon başlıklı homojenizatör (IKA Overhead Stirrer, Almanya) ile dokular buz kalıbında %10'luk PBS (pH 7,4) içerisinde 2000 devir ve 1 dk süreyle homojenize edildi. Homojenizatlar soğutmalı santrifüj cihazında (Hettich Zentrifugen, Mikro 200 R, Almanya) 7000 devirde 10 dk ve 4 °C'de santrifüj edildi ve süpernatantlar analizleri yapılmaya kadar -80 °C'de saklandı.

#### **3.2.4.2. Total Protein**

Oksidan/antioksidan parametrelerin hesaplanmasında parametre olarak kullanılır. Analiz için total protein kiti (Archem Diagnostic Ind. Ltd. Türkiye) kullanıldı. Kit içerisinde yer alan total protein ayırıcından 1 ml mikrosantrifüj tüplerine eklendi. Örnekler vortekslenildi ve her bir mikrosantrifüj tüplerine 10 µl eklendi. Ayrıca spektrofotometrede okumak için 1 adet standart ile 2 adet kör hazırlandı. Standart için 1 ml total protein ayırıcı ve 10 µl kit içerisindeki standart eklendi, kör için ise 1 ml total protein ayırıcı ve 10 µl distile su eklendi. Vortekslenen tüm örnekler 30 °C ve 10 dk süreyle inkübatörde inkübe edildi. Hemen ardından spektrofotometrede kuartz kuvvetlerde (100 QS-10.00 mm, Hellma)



köre karşı 546 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Sonuçlar SOD, GSH ve MDA hesaplanmalarında kullanıldı.

### **3.2.4.3. Süperoksit dismutaz (SOD) analizi**

SOD aktivitesi Sun ve ark (1988)'nin yöntemine göre yapıldı. Ksantin, ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüşürken meydana gelen süperoksit radikalleri nitro blue tetrazolium varlığında reaksiyona girerek formazon boyası yapar. SOD enzimi süperoksit radikallerini hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'e dönüştürdüğü için formazon oluşumu azalır ve buna bağlı olarak absorbans da azalır. SOD analizinde reaktif karışımı için 20 ml 10 kat sulandırılmış ksantin stok çözeltisi, 10 ml EDTA, 10 ml NBT, 6 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 3 ml sığır albümini eklenip karıştırıldı. Reaktif karışımı 49 ml olarak hazırlandı. Vortekslenen süpernatantlardan 0,5 ml mikrosantrifüj tüplerine aktarılarak üzerine 250 µl etanol ve 150 µl kloroform eklenerek +4 °C'de 12000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Cam tüplere 1225 µl reaktif karışımı ve 250 µl örnek ilave edildi. Spektrofotometrede kör için ise 1225 µl reaktif karışımı üzerine 250 µl distile su ilave edildi. Vortekslenen tüplerin üzerine 25 µl ksantin oksidaz eklenerek 25 °C'de su banyosunda 20 dakika inkübe edildi. Ardından 0,5 ml bakırklorür (CuCl<sub>2</sub>) ilave edilerek spektrofotometrede kuartz kuvetlerde köre karşı 532 nm dalga boyunda okunarak hesaplama yapıldı ve sonuçlar U/mg doku protein olarak gösterildi.

### **3.2.4.4. İndirgenmiş glutasyon (GSH) analizi**

GSH ölçüm ortamındaki disülfit bir kromojen olan DTNB (5,5'-ditiyobis, 2-nitrobenzoik asit) ve sülfidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. GSH bu kompleks oluşumunu katalizlediği için oluşan rengin şiddeti ile GSH aktivitesi arasında doğru orantı vardır. GSH seviyesi spektrofotometrik olarak Tietze (1969)'e göre analiz edildi. Analiz için kör, standart ve numune tüpleri hazırlandı. Standart tüpe 200 µl standart, numune tüpüne 200 µl örnek konulduktan sonra her iki tüpe 1,8 ml saf su ve 3 ml presipitasyon solüsyonu ilave edildi. Kör tüpe ise 2 ml saf su ve 3 ml presipitasyon solüsyonu konuldu. Hazırlanan karışımlara süzme işlemi uygulandıktan sonra süzülen kısımlardan 2 ml süpernatant alındı ve üzerine 8 ml fosfat solüsyonu ve 1 ml DTNB eklendikten sonra 4 dk içerisinde 412 nm'de okundu ve sonuçlar mg/g doku olarak hesaplandı.



### 3.3.4.5. Malondialdehit (MDA) analizi

GSH ölçüm ortamındaki disülfit bir kromojen olan DTNB (5,5'-ditiyobis, 2-nitrobenzoik asit) ve sülfidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. GSH bu kompleks oluşumunu katalizlediği için oluşan rengin şiddeti ile GSH aktivitesi arasında doğru orantı vardır. GSH seviyesi spektrofotometrik olarak Tietze (1969)'e göre analiz edildi. Analiz için kör, standart ve numune tüpleri hazırlandı. Standart tüpe 200 µl standart, numune tüpüne 200 µl örnek konulduktan sonra her iki tüpe 1,8 ml saf su ve 3 ml presipitasyon solüsyonu ilave edildi. Kör tüpe ise 2 ml saf su ve 3 ml presipitasyon solüsyonu konuldu. Hazırlanan karışımlara süzme işlemi uygulandıktan sonra süzülen kısımlardan 2 ml süpernatant alındı ve üzerine 8 ml fosfat solüsyonu ve 1 ml DTNB eklendikten sonra 4 dk içerisinde 412 nm'de okundu ve sonuçlar mg/g doku olarak hesaplandı.

### 3.2.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences 22) programı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram) ve analitik yöntemler (Shapiro-Wilk testi) kullanılarak incelendi. Varyansların homojenitesi ise Levene Testi ile belirlendi. Verilerin normal dağılıma uygunluğuna göre One-Way ANOVA yapıldı. Varyansların homojenitesinin olmadığı ve normal dağılıma uymayan durumlarda Kruskal Wallis testi yapıldı. İkişerli karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile yapılırken Bonferroni düzeltmesi kullanılarak değerlendirildi. Zamana göre değişen veriler için Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi uygulandı. Kullanılan etken maddenin zamana göre değiştiği durumlarda istatistiksel farklılığın hangi zamanda başladığının analizi *post hoc* olarak GLM prosedürlerinde Syntax menüsüne ekstra kodlama yapılarak belirlendi. Tanımlayıcı analizler normal dağılan değişkenler için standart hata kullanılarak verildi.  $P < 0,05$  önemli olarak kabul edildi (Hayran ve Hayran, 2011).

## 4. BULGULAR

Çalışma sonunda 28. gün kan plazma glukoz düzeyleri Tablo 12’de gruplara göre değişimi verildi. Glukoz düzeyleri diyabet gruplarında kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde ( $P<0,001$ ) yüksek bulundu.

**Tablo 12.** Glukoz düzeyinin gruplara göre değişimi.

Grup	n	Glukoz (mg/dl)
D-CP	8	314,25 ±56,83 <sup>a</sup>
D	9	382,00 ±65,76 <sup>a</sup>
K-CP	9	121,89 ±10,68 <sup>b</sup>
K	9	78,44 ±8,46 <sup>b</sup>
P		***

<sup>a, b</sup>: Aynı sütunda farklı harfler istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.  
\*\*\*:  $P<0,001$ . (Ortalama±Standart Hata)

Çalışma sonunda kan plazma HbA<sub>1c</sub> düzeyleri Tablo 13’te gruplara göre değişimi verildi. HbA<sub>1c</sub> düzeyleri diyabet gruplarında kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde ( $P<0,001$ ) yüksek bulundu. Fakat diyabet grupları arasında D-CP grubunun D grubuna oranla istatistiksel olarak önemli ( $P<0,001$ ) düzeyde düşük olduğu tespit edilmesine karşın kontrol gruplarına göre yüksek ( $P<0,001$ ) bulundu.

**Tablo 13.** HbA<sub>1c</sub> düzeyinin gruplara göre değişimi.

Grup	n	HbA <sub>1c</sub> (%)
D-CP	8	7,86 ±0,23 <sup>b</sup>
D	9	8,92 ±0,32 <sup>a</sup>
K-CP	9	4,33 ±0,03 <sup>c</sup>
K	9	4,88 ±0,43 <sup>c</sup>
P		***

<sup>a, b, c</sup>: Aynı sütunda farklı harfler istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.  
\*\*\*:  $P<0,001$ . (Ortalama±Standart Hata)

Sıçanlarda iki hafta süren adaptasyon sürecinin sonunda çalışmanın başlangıcından sonlandırılmasına kadar haftalık canlı ağırlık değişimleri ölçüldü. Gruplar arasında başlangıç ağırlıkları açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Canlı ağırlığın zamana göre değişimine (Tablo 14) bakıldığında haftalar arası değişimin tüm gruplarda anlamlı olduğu görüldü ( $P<0,001$ ). Kontrol gruplarına göre diyabetik gruplardaki sıçanların vücut ağırlığında azalma meydana geldiği ( $P<0,001$ )

görülürken kontrol gruplarında ise vücut ağırlığında artış meydana geldiği ( $P<0,001$ ) görülmektedir.

**Tablo 14.** Canlı ağırlığın zamana ve gruplara göre değişimi.

Grup	n	0. Hafta (g)	1. Hafta (g)	2. Hafta (g)	3. Hafta (g)	4. Hafta (g)	P
D-CP	8	243,13 ±3,34 <sup>A</sup>	208,88 ±8,67 <sup>BCb</sup>	195,13 ±9,85 <sup>Bb</sup>	206,63±8,43 <sup>Cb</sup>	204,38±10,71 <sup>BCb</sup>	***
D	9	241,33 ±4,32 <sup>A</sup>	209,44 ±3,58 <sup>Bb</sup>	209,56 ±6,79 <sup>Bb</sup>	215,67±7,94 <sup>Bb</sup>	207,44±10,83 <sup>Bb</sup>	***
K-CP	9	240,89 ±3,16 <sup>AC</sup>	256,33 ±4,62 <sup>BDa</sup>	245,89 ±3,87 <sup>CDa</sup>	255,33±4,08 <sup>Aba</sup>	263,89±5,29 <sup>ABa</sup>	***
K	9	239,89 ±3,90 <sup>B</sup>	263,22 ±4,98 <sup>Ca</sup>	254,67±4,62 <sup>BCa</sup>	278,33±5,39 <sup>Da</sup>	289,56±7,32 <sup>Aa</sup>	***
P		Ö.D.	***	***	***	***	

A, B, C, D : Aynı satırda farklı harfler istatistiksel anlamda farklılığı göstermektedir.

a, b : Aynı sütunda farklı harfler istatistiksel anlamda farklılığı göstermektedir.

Ö.D.: Önemli değil, \*\*\*:  $P<0,001$ . (Ortalama±Standart Hata)

Çalışma sonunda sıçanlardan alınan kan örneklerinden Comet analiz yöntemi ile lenfosit DNA hasar düzeyleri incelendi, genetik hasarın saptanmasında kuyruk momenti (Tail Moment), kuyruk yoğunluğunun (Tail Intensity) ortalama ve standart hataları hesaplandı. Tablo 15'te tüm gruplara ait elde edilen DNA hasar düzeylerine ilişkin kuyruk momenti ve kuyruk yoğunluğu değerleri yer almaktadır. Kuyruk momenti incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli ( $P<0,01$ ) fark bulundu. Diyabet grupları arasında fark yokken, kontrol grubu (K) ile diyabet grupları arasında fark bulundu. Kuyruk yoğunluğu incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli ( $P<0,001$ ) fark bulundu. Diyabet grubu (D) ile kontrol civanperçemi grubu (K-CP) arasında fark yokken, kontrol grubu (K) diyabet gruplarından farklı olarak tespit edildi.

**Tablo 15.** Kuyruk momenti ve kuyruk yoğunluğunun gruplara göre değişimi.

Grup	n	Kuyruk Momenti	Kuyruk Yoğunluğu (%)
D-CP	8	0,140±0,035 <sup>a</sup>	43,22±4,09 <sup>a</sup>
D	9	0,096±0,015 <sup>a</sup>	38,44± 2,93 <sup>ac</sup>
K-CP	9	0,080±0,018 <sup>ab</sup>	29,41± 3,75 <sup>bc</sup>
K	9	0,051 ±0,002 <sup>b</sup>	19,50 ±1,64 <sup>b</sup>
P		**	***

a, b, c : Aynı sütunda farklı harfler istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

\*\* :  $P<0,01$ , \*\*\* :  $P<0,001$ . (Ortalama±Standart Hata)

Çalışma sonunda sıçanlardan alınan karaciğer örneği CP kullanımına bağlı değişiklikler yönünden oksidan/antioksidan parametreler incelendi. Tablo 16 incelendiğinde SOD analizinde D-CP ile D grupları; K-CP ile K grupları arasında istatistiksel açıdan fark bulunmazken, kontrol grupları ile diyabet grupları arasında fark ( $P<0,01$ ) bulundu. GSH analizinde D-CP ile D grupları; K-CP ile K grupları arasında istatistiksel açıdan fark bulunmazken, kontrol grupları ile diyabet grupları arasında fark ( $P<0,001$ ) bulundu. MDA analizinde K-CP ile K grupları arasında istatistiksel açıdan fark bulunmazken, D-CP grubu ile D, K, K-CP grupları arasında; D grubu ile K ve K-CP grupları arasında fark ( $P<0,001$ ) bulundu.

**Tablo 16.** Oksidatif stres parametrelerinin gruplara göre değişimi.

Grup	n	SOD (U/mg protein)	GSH (mg/g protein)	MDA (nmol/mg protein)
D-CP	8	4,18 ±0,12 <sup>b</sup>	16,38 ±1,52 <sup>b</sup>	252,99 ±20,12 <sup>a</sup>
D	9	4,19 ±0,47 <sup>b</sup>	14,86 ±0,99 <sup>b</sup>	176,70 ±6,27 <sup>b</sup>
K-CP	9	5,42 ±0,33 <sup>a</sup>	29,07 ±3,30 <sup>a</sup>	148,44 ±6,66 <sup>c</sup>
K	9	5,82 ±0,69 <sup>a</sup>	38,32 ±3,80 <sup>a</sup>	136,65 ±4,70 <sup>c</sup>
P		**	***	***

<sup>a, b</sup>: Aynı sütunda farklı harfler istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.  
 \*\*:  $P<0,01$ . \*\*\*:  $P<0,001$ . (Ortalama±Standart Hata)

## 5. TARTIŞMA

Diyabetin sağaltımı amacıyla birçok bitki kullanılmıştır (Shirwaikar ve ark, 2004; Pari ve Latha, 2004; Rajasekaran ve ark, 2005; Sharma ve ark, 2008). Yapılan çalışmada ülkemizde ve dünyada görülme sıklığı hızla artan diyabetin CP bitkisinden elde edilen yağ kullanılarak tedavisi amaçlandı. CP'nin DNA hasarı, HbA<sub>1c</sub> düzeyi, glukoz düzeyi, oksidan ve antioksidan parametreler üzerine olan etkisi araştırıldı.

Bu çalışmada sıçanlarda deneysel diyabet oluşturmak amacıyla STZ kullanıldı. Yapılan birçok araştırmada da ̢ hücreleri için spesifik olan STZ deneysel diyabet oluştırmada kullanılmıştır (Cetto ve ark, 2000; Bolkent ve ark, 2000; Szkudelski, 2001; Rajasekaran ve ark, 2006). STZ, diyabetojenik özelliği insan tip 1 DM'yi taklit eden insülin yetmezliğine, hiperglisemiye, polidipsi, polireye ve pankreasta ̢-hücrelerinin selektif yıkımına neden olur (Wu ve Huan, 2008). STZ tip 1 ve tip 2 diyabet oluştırmada yaygın olarak kullanılmaktadır. Tip 1 diyabet oluştırmada 40-60 mg/kg tek doz uygulaması yapılmaktadır. STZ'nin 40 mg/kg'ın altında diyabetojenik etkisi yoktur (Szkudelski, 2001; Sekkin ve ark, 2015). Bu çalışmada tek doz olarak uygulanan ve daha önce diyabete neden olduğu gösterilmiş olan STZ 50 mg/kg dozda intraperitoneal olarak kullanıldı.

Dünyada diyabet de dâhil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan *A. millefolium*'dan potansiyel bir antidiyabetik ajan olarak tanımlanan bazı farmakolojik çalışmalar vardır (Saeidnia ve ark, 2011; Zolghadri ve ark, 2014; Chvez-Silva ve ark, 2018). Yapılan bu çalışmada glukoz düzeylerinde diyabet gruplarında (D ve D-CP), kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde (P<0,001) artış olmuş, bu artış pankreas ̢ hücre yıkımlanması olarak kabul edilmiştir. Elde edilen bulgu STZ'nin etki mekanizması (Lenzen, 2008; Tahara ve ark, 2008), STZ ile deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanlarla yapılan alışmalar (Sanders ve ark, 2001; Vardı ve ark, 2005; Daisy ve ark, 2010; Edremitlioğlu ve ark, 2011; Büyükleblebici ve Karagl, 2012) ile benzerlik göstermiştir. CP'nin glukoz üzerine olan etkisi sıçanlarda sınırlı kaldı ve anlamlı bir fark görülmedi.

ADA (2010) yayınladığı kılavuzda HbA<sub>1c</sub>'nin %7'nin altında olmasını önermektedir. Çalışmada HbA<sub>1c</sub> düzeyleri diyabet gruplarında kontrol gruplarına göre oldukça yüksek (P<0,001) bulundu. HbA<sub>1c</sub> düzeyinin D-CP grubunda D grubuna oranla düşük (P<0,001) olduğu tespit edildi. Diyabet oluşturulmuş sıçanlarda CP yağının HbA<sub>1c</sub> düzeyine etkisini araştıran bir yayına rastlanmadı.

Bu çalışmada diyabet ve kontrol grupları arasında canlı ağırlıklar bakımından istatistiksel olarak farklılık tespit edildi. Diyabet gruplarında başlangıç ve son ağırlıklar arasında istatistiksel farkın (P<0,001) olduğu görüldü. Bu çalışmaya benzer şekilde diğer araştırmacılar da (Ulusoy ve ark, 1998; Zhang ve Tan, 2000; Kheyfets ve ark, 2010; Büyükleblebici ve Karagül, 2012) çalışma boyunca diyabet oluşturulmuş sıçanlarda aşırı susamaya bağlı fazla miktarda su tüketilmesi, hiperglisemi, normalden daha fazla oranda idrar yapma ile canlı ağırlık azalması gözlemlemiştirlerdir.

Çalışmada DNA hasarını görüntülemek amacıyla yapılan Comet analizi sonuçları değerlendirildiğinde diyabet grupları arasında fark yokken, kontrol gruplarının diyabet gruplarından farklı olduğu, diyabette DNA hasar düzeyinin arttığı saptanmış ve bu durumun diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görüldü (Dinçer ve ark 2003; Kushwaha ve ark, 2011; Sekkin ve ark, 2015). Kuyruk momenti incelendiğinde diyabet grupları arasında fark yokken, kontrol grupları ile diyabet grupları arasında istatistiksel fark (P<0,01) tespit edildi. Benzer şekilde, kuyruk yoğunluğu incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel fark (P<0,001) bulundu. Diyabet grupları arasında ve D ile K-CP grupları arasında fark yokken, K grubu ile diyabet grupları arasında istatistiksel fark bulundu. Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda DNA hasarında CP yağı etkinliğiyle ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanmadı. CP ile yapılan çalışmalarda az da olsa bitkinin toksik olabileceği ifade edilmiştir (Lakshmi ve ark, 2011). Araştırmada da CP yağı uygulanan gruplardaki DNA hasarındaki hafif artışın CP'nin toksisitesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Antioksidan özelliği olan bitkilerle ilgili araştırmaların sayısı son yıllarda artmaktadır. *A. millefolium* L. antioksidan özelliklere sahip şifalı bitkilerden biridir. *A. millefolium* L. esansiyel yağının oksidatif stres ve nitrik oksit üretimini engellediği tespit edilmiştir (Zolghadri ve ark, 2014). Diyabet ile ilgili yapılan çalışmalarda yer alan bitkilerin antioksidan özelliği olması oldukça önemlidir. Stresin etkisiyle kan glukozu artarak hiperglisemiye neden olmaktadır (Puvadolpirod ve Thaxton, 2000; Ortuno ve ark, 2002). Çalışmada elde ettiğimiz oksidan ve antioksidan değişimlere ilişkin bulgular kontrol (K) ve

diyabet (D) grupları karşılaştırıldığında görülen farklılığın, diyabete bağlı gelişen oksidatif stres kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Elde edilen bulguların diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür (Koca ve ark, 2008; Sekkin ve ark, 2015). Yapılan diğer bir çalışmada da diyabetik sıçanlarda plazma MDA düzeyleri yüksek; GSH, SOD ve katalaz düzeyleri ise düşük olarak tespit edilmiştir (Abou-Seif ve Youssef, 2004). Süperoksit dismutaz (SOD) önemli bir endojen antioksidan enzimdir ve birkaç biçimde bulunabilir. Proteinler bakır, çinko, manganez, demir veya nikel içerirler ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'ne karşı süperoksit radikallerini temizleyen ilk savunma sistemi olarak görev yaparlar (Sen ve Chakraborty, 2011). Yapılan bir çalışmada 15 günlük STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda karaciğer SOD antioksidan düzeyinde azalma olduğu bildirilmiştir (Anwar ve Meki, 2003). Çalışmamızda SOD analizi sonucuna göre diyabet grupları arasında bir farklılık görülmezken, kontrol grupları ile diyabet grupları arasında istatistiksel farklılık ( $P<0,01$ ) görüldü. GSH antioksidan savunmadan, hücre çoğalmasına kadar pek çok fonksiyonu olan önemli bir moleküldür ve karaciğer en yüksek miktarda GSH içeren organlardan biridir (Lu, 1999; Aloud ve ark 2018). Benzer şekilde bu çalışmada da sıçanlarda antioksidan savunmanın göstergelerinden GSH düzeyi ölçüldü. GSH düzeyi yönünden kontrol ve diyabetik sıçanlar arasında farklılık saptandı ( $P<0,01$ ) fakat CP yağı verilen sıçanlarda ise bir fark saptanmadı ( $P>0,05$ ). Bulguların bu konuyla ilgili yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir (Abou-Seif ve Youssef, 2004; Sekkin ve ark, 2015). STZ uygulanan diyabetik sıçanlarda karaciğer dokusunda MDA düzeyinin arttığı görüldü. Diyabet oluşturulduktan 28 gün sonra diyabetik sıçanlardan alınan karaciğer örneklerinde yapılan lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyi açısından D-CP ile D grupları ve diyabet ile kontrol grupları arasında fark ( $P<0,001$ ) olduğu tespit edildi. Bulguların diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir (Yılmaz ve ark, 2004; Demir ve Yılmaz, 2014; Sekkin ve ark, 2015; Ergenç ve ark, 2017). Araştırmada CP yağı uygulanan diyabetik (D-CP) gruptaki MDA düzeyindeki artışın CP'nin toksisitesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda karaciğerde oksidatif stres parametrelerinin değerlendirilmesinde CP yağı etkinliğiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmadı, araştırmamızın bulguları bu yönüyle değerlendirilmelidir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez kapsamında sıçanlara periton içi yolla tek doz STZ uygulanarak deneysel diyabet modeli oluşturularak, 28 gün süresince gavaj yoluyla uygulanan *A. millefolium* (civanperçemi) yağının antidiyabetik ve DNA hasarı üzerine etkisi ile antioksidan etkileri değerlendirildi.

STZ uygulanarak diyabet oluşturulan gruplarda CP'nin vücut ağırlığı koruyucu etkisinin yetersiz olduğu görüldü. Diyabet olan sıçanlarda DNA hasarı oluşmuş fakat istatistiksel olarak CP yağı uygulamasının herhangi bir etkisi tespit edilmedi ( $P>0,05$ ). Antioksidan parametlerden SOD ve GSH ile oksidan parametre MDA analizi sonucunda diyabetik ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan farklılık bulundu. HbA<sub>1c</sub> bakımından diyabet grupları kıyaslandığında CP verilen grupta HbA<sub>1c</sub> düzeyinde azalma görüldü. Diyabetik gruplar arasında kalpten alınan kan örneklerinde plazma glukoz düzeyinde CP uygulanmasına bağlı istatistiksel olarak bir farklılık bulunamadı. Elde edilen bulgulara göre CP'nin diyabet üzerine etkisinin uzun dönemde sadece kanda HbA<sub>1c</sub> düzeyinin düşürülmesine neden olduğu sonucuna varıldı.

CP ile yapılan çalışmaların *in vitro* olması, *in vivo* çalışmaların az olması ve konuyla ilgili yeterli sayıda çalışmanın olmaması gibi nedenlerle CP yağı ile tedavi mekanizmasını anlayabilmemiz için daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

**Abiru N, Kawasaki E, Eguch K.** Current knowledge of Japanese type 1 diabetic syndrome. *Diabetes/ Metabolism Research and Reviews* 2002, 18, 357-366.

**Abou-Seif MA, Youssef AA.** Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta* 2004, 346, 161-170.

**ADA,** American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010, 33, 62- 69.

**Adam KP, Zapp J.** Biosynthesis of the isoprene units of chamomile sesquiterpenes. *Phytochemistry* 1998, 48 (6), 953 -959.

**Ahmed AM.** History of diabetes mellitus. *Saudi Medical Journal* 2002, 23 (4), 373-378.

**Akram M.** Minireview on *Achillea millefolium* Linn. *The Journal of Membrane Biology* 2013, 246(9), 661-663.

**Ali SI, Gopalakrishnan B, Venkatesalu V.** Pharmacognosy, phytochemistry and pharmacological properties of *Achillea millefolium* L: A Review. *Phytotherapy Research* 2017, 31(8), 1140-1161.

**Aloud AA, Veeramani C, Govindasamy C, Alsaif MA, Al-Numair K.** Galangin, a natural flavonoid reduces mitochondrial oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Communications in Free Radical Research* 2018, 23, 29-34.

**Angier B.** Field Guide to Medicinal Wild Plants (10<sup>th</sup>), Stackpole Books. Mechanicsburg, PA, 2000, 314.

**Anwar MM, Meki AMA.** Oxidative stress in streptozotocine-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2003, 135, 539-547.

**Applequist WL, Moerman DE.** Yarrow (*Achillea millefolium* L.): a neglected panacea? a review of ethnobotany, bioactivity, and biomedical research. *Economic Botany* 2011, 65 (2), 209–225.

**Barr RG, Nathan DM, Meigs JB, Singer DE.** Tests of glycemia for the diagnosis of type 2 diabetes mellitus. *Annal of Internal Medicine* 2002, 137, 263-272.

**Barrett TG, Bunday SE, Macleod AF.** Neurodegeneration and diabetes: UK nation wide study of wolfrom (DIDMOAD) syndrome. *The Lancet* 1995, 346, 1458-1463.

- Baynes JW.** Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991, 40, 405-412.
- Bayram E, Sönmez Ç, Ekren S, Tatar Ö, Gürel A, Hayta Ş, Edreva A, Vitkova A, Konakchiev A.** *Achillea millefolium* L. grubuna ait türlerde verim, uçucu yağ ve chamazulene içeriğinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2013, 50(1), 87-96.
- Benetis R, Radušienė J, Jakštas V, Janulis V, Malinauskas F.** development of an rp-hplc method for the analysis of phenolic compounds in *Achillea millefolium* L. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2008, 31, 596-610.
- Bilous R, Donnelly R.** Diyabet el kitabı (4. Baskı), Dinççağ N, İstanbul Tıp Kitapevi, İstanbul, 2013, 9-16.
- Bliss M.** The Discovery of Insulin (25<sup>th</sup>). The University of Chicago Press, Chicago, USA, 2000, 321–1418.
- Bolkent Ş, Yanardağ R, Tabakoğlu- Oğuz A, Saçan Ö.** Effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. cicla) extract on pancreatic B cells in streptozotocin-diabetic rats: a morphological and biochemical study. *Journal of Ethnopharmacology* 2000, 73, 251-259.
- Bunn HF.** Evaluation of glycosylated hemoglobin in diabetic patients. *Diabetes* 1981, 30 (7), 613-617.
- Büyüklebici O, Karagül H.** Streptozotosin ile deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda kromun biyokimyasal etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 18(1), 21-26.
- Cavalcanti AM, Baggio CH, Freitas CS, Rieck L, de Sousa RS, Da Silva-Santos JE, Mesia-Vela S, Marques MC.** Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2006, 107, 277–284.
- Cetto AA, Wiedenfeld H, Revilla MC, Sergio IA.** Hypoglycemic effect of Equisetum myriochaetum aerial on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2000, 72, 129-133.
- Chandler RF, Hooper SN, Harvey MJ.** Ethnobotany and phytochemistry of yarrow, *Achillea millefolium*, Compositae. *Economic Botany* 1982, 36 (2), 203-223.

- Chávez-Silva F, Cerón-Romero L, Arias-Durán L, Navarrete-Vázquez G, Almanza-Pérez J, Román-Ramos R, Ramírez-Ávila G, Perea-Arango I, Villalobos-Molina R, Estrada-Soto S.** Antidiabetic effect of *Achillea millefolium* through multitarget interactions:  $\alpha$ -glucosidases inhibition, insulin sensitization and insulin secretagogue activities. *Journal of Ethnopharmacology* 2018, 15, 212-1-7.
- Coban E, Ozdogan M, Timuragaoglu A.** Effect of iron deficiency anemia on the levels of Hemoglobin A1c in nondiabetic patients. *Acta Haematologica* 2004, 112, 126-128.
- Collins AR.** The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Molecular Biotechnology* 2004, 26(3), 249-261.
- Çelik S, Bal B.** Köpek ve kedilerde diabetes mellitus: böbrek fonksiyon bozuklukları ve idrar taşı oluşumu ile ilişkisi. *Uludag University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine* 2002, 21, 43-48.
- Daisy P, Balasubramanian K, Rajalakshmi M, Eliza J, Selvaraj J.** Insulin mimetic impact of Catechin isolated from *Cassia fistula* on the glucose oxidation and molecular mechanisms of glucose uptake on Streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Phytomedicine* 2010, 17, 28-36.
- Dall'Acqua S, Bolego C, Cignarella A, Gaion RM, Innocenti G.** Vasoprotective activity of standardized *Achillea millefolium* extract. *Phytomedicine* 2011, 18, 1031-1036.
- Daneman D.** Type 1 diabetes. *The Lancet* 2006, 367 (9513), 847-858.
- Demir E, Yılmaz Ö.** Streptozotocinin neden olduğu tip-1 diyabette çam yağının karaciğer ve böbrek dokusundaki bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Karaelmas Science and Engineering Journal* 2014, 4(1), 43-51.
- Devendra D, Liu E, Eisenbarth GS.** Type 1 diabetes: recent developments. *British Medical Journal* 2004, 328 (7442), 750-754.
- Diñçer Y, Akcay T, Ilkova H, Alademir, Z, Ozbay, G.** DNA damage and antioxidant defense in peripheral leukocytes of patients with Type I diabetes mellitus. *Mutation Research*, 2003, 527, 49-55.
- Diñçer Y, Kankaya S.** DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 2010, 30 (4), 1365-1373.

- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 2006, 97, 654-660.
- Durna Z.** Diyabet Hemşireliği Derneği Kitabı, Diyabetin Sınıflandırılması ve Tanı Kriterleri (Bölüm 2), 2015, 11-18.
- Edremitlioğlu M, Andiç MF, Sayın DB, Korkut O, Kısa Ü.** Quercetin, a powerful antioxidant bioflavonoid, attenuates renal dysfunction in long-term experimental diabetes melitus. *Marmara Medical Journal* 2011, 24 (2), 88-99.
- Eken A.** Rat kan ve doku örneklerinde oksidatif stres parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine* 2017, 69-73.
- Emden M.** Glycated haemoglobin for the diagnosis of Diabetes. *Australian Prescriber*. *Australian Prescriber* 2014, 37, 98-100.
- Erbaş O.** Deneysel diyabet modelleri. *Florence Nightingale Bilim Tıp Dergisi* 2015, 1 (1), 40-42.
- Ergenç M, Özenoğlu S, Turan İ, Özaçmak VH, Özzaçmak HS.** diyabetik sıçanlarda melatonin uygulamasının karaciğer, böbrek, mide, pankreas ve göz dokularında oksidatif stres üzerine etkisi. *Turkish Journal of Diabetes and Obesity* 2017, 3, 117-123.
- Espino J, Pariente JA, Rodríguez AB.** Role of melatonin on diabetes-related metabolic disorders. *World Journal Diabetes* 2011, 2 (6), 82-91.
- Fabricant DS, Farnsworth NR.** The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives* 2001, 109, 69-75.
- Fairbairn DW, Rowe KC, O'Neil KL.** Video Enhanced Laser Scanning Microscopic Analysis of DNA Comet Formation. *Cell Biology International* 1994, 18 (3), 195-200.
- Fröde TS, Medeiros YS.** Animal models to drugs with potential antidiabetic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 2008, 115, 173-83.
- Geissman TA, Griffin T.** Sesquiterpene lactones, Acid-catalysed color reactions as an aid in structure determination. *Phytochemistry* 1971, 10, 2475-2485.
- Graham K.** On the non-preexistence of azulene in milfoil. *The Journal of American Pharmaceutical Association* 1933, 22(9), 819-824.

**Hamamcioğlu AC.** Diyabette Oksidatif Stres ve Antioksidanların Rolü. Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi 2017, 1, 7-13.

**Hayran M, Hayran M.** Sağlık araştırmaları için temel istatistik, Omega Araştırma, Ankara, 2011.

**Hodek P, Trefil P, Stiborová M.** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions* 2002, 139(1), 1-21.

**Holt RI.** Diagnosis, epidemiology and pathogenesis of diabetes mellitus: an update for psychiatrists. *The British Journal of Psychiatri* 2004, 184, 55-63.

**Hutchens, A R.** Indian Herbalogy of North America, Shambhala Publications, Boston and London 1991, 275-276.

**IDF.** International Diabetes Federation, 7th Diabetes atlas, Karakas Print, 2015, 21-28.

**Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzawa Y.** A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. Osaka IDDM Study Group. *The New England Journal of Medicine* 2000, 342, 301-307.

**Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A.** Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology* 2005, 4,5.

**Karjalainen J, Knip M, Hyoty H, Linikki P, Ilonen J, Kaar M-L, Akerblom HK.** Relationship between serum insülin antibodies, işlet cell and antibodies and Coxackie-B4 and mumps virus-spesific antibodies at the clinical manifestation of type 1 diabetes. *Diabetologia* 1988, 31, 146-152.

**Kharroubi AT, Darwish HM.** Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal of Diabetes* 2015, 25 (6), 850-867.

**Kheyfets IA, Spasov AA, Voronkova MP, Dugina JL, Epstein OI.** Study of hypoglycemic activity of subetta and rosiglitazone on the model of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats. *Bulletin of Experimentl Biology and Medicine* 2010, 153, 54-56.

**Koca C, Altan N, Dincel AS, Kosova F, Şahin D, Arslan M.** Tip1 ve tip 2 diyabetik hasta serumlarında oksidatif stres ve leptin düzeylerinin incelenmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2008, 6 (3), 99-107.

- Koushyar H, Koushyar MM, Byrami G, Feizpour A, Golamnezhad Z, Boskabady MH.** The effect of hydroethanol extract of *Achillea millefolium* on  $\beta$ -adrenoceptors of guinea pig tracheal smooth muscle. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2013, 75(4), 400–405.
- Kremers RE.** The chemistry of the volatile oil of milfoil. A study of the application of modern organic chemistry to drug plant investigations. *Journal Of The American Pharmaceutical Association* 1921, 10 (4), 252- 261.
- Kushwaha S, Vikram A, Trivedi PP, Jena GB.** Alkaline, Endo III and FPG modified comet assay as biomarkers for the detection of oxidative DNA damage in rats with experimentally induced diabetes. *Mutation Research* 2011, 726, 242-250.
- Lakshmi T, Geetha RV, Anitha R, Aravind KS.** Yarrow (*Achillea millefolium* L.) a herbal medicinal with broad therapeutic use. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 2011, 9 (2), 136-141.
- Landers RM.** An improved isolation method for achilleine, an alkaloid from *Achillea millefolium* linne, Yüksekklisans Tezi, The University of Arizona, Arizona, 1958, 6-13.
- Lenzen S.** The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced Diabetes. *Diabetologia* 2008, 51, 216-226.
- Li Y, Zhang ML, Cong B, Wang SM, Dong M, Sauriol F, Huo CH, Shi QW, Gu YC, Kiyota, H.** Achillinin A, a cytotoxic guaianolide from the flower of Yarrow, *Achillea millefolium*. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 2011, 75, 1554–1556.
- Li Y, Zhu MC, Zhang ML, Wang YF, Dong M, Shi QW, Huo CH, Sauriol F, Kiyota H, Gu YC, Cong B.** Achillinin B and C, new sesquiterpene dimers isolated from *Achillea millefolium*. *Tetrahedron Letters* 2012, 53, 2601–2603.
- Lu SC.** Regulation of hepatic glutathione synthesis: Current concepts and controversies. *The FASEB Journal*, 1999, 13, 1169-1183.
- Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ.** Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America* 2010, 39, 481-497.
- Mariott M.** Medicinal Plants of the North Cascades, Master, Western Washington University and North Cascades Institute, 2010.

- Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J.** The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos University Medical Journal* 2012, 12 (1), 5-18.
- Memişoğulları R.** Diyabette serbest Radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005, 3, 30-39.
- Mıçılı SC, Ergür BU, Özoğul C, Sarıoğlu S, Bağrıyanık A, Tuğyan K, Pekçetin Ç, Sönmez Ü, Tekmen I, Erbil G, Akdoğan GG, Özyurt D, Buldan Z.** Deneysel hipertansiyon ve diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda böbreğin immunohistokimyasal olarak incelenmesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2012, 26 (2):91-101.
- Miller FM, Chow LM.** Alkoloids of *Achillea millefolium* L. isolation and characterization of Achilleine. *Journal of the American Chemical Society* 1954, 76, 1353-1354.
- Mitich LW.** Intriguing World of Weeds: Yarrow – the herb of Achilles. *Weed Technology* 1990, 4, 451-453.
- Mockute D, Judzentiene A.** Variability of the essential oils composition of *Achillea millefolium* ssp. *millefolium* growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology* 2003, 31 (9), 1033-1045.
- Murata M, Takahashi A, Saito I, Kawanishi S.** Site-specific DNA Methylation and Apoptosis: Induction by Diabetogenic Streptozotocin. *Biochemical Pharmacology* 1999, 57, 881-887.
- Mythili MD, Vyas R, Akla G, Gunasekaran S.** Effect of Streptozotocin on the Ultrastructure of Rat Pancreatic Islets. *Microscopy Research and Technique* 2004, 63, 274-281.
- Najafi S, Deokule S S.** Pharmacognostic study of *Tylophora dalzellii* Hook.f. *Journal of Medicinal Plant Research* 2010, 4 (5), 403-406.
- Nemeth E, Bernath J.** Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp.). *Current Pharmaceutical Design* 2008, 14, 3151-3167.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979, 95 (1), 351 - 358.
- Orav A, Kailas T, Ivask K.** Composition of the essential oil from *Achillea millefolium* L. from Estonia. *Journal of Essential Oil Research* 2001, 13, 4, 290-294.

- Orth M, Czygan FC, Dedkov VP.** Variation in essential oil composition and chiral monoterpenes of *Achillea millefolium* s.l. from Kaliningrad. *Journal of Essential Oil Research* 1999, 11, 6, 681-687.
- Ortuno J, Esteban MA, Meseguer J.** Effects of phenoxyethanol on the innate immune system of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) exposed to crowding stress. *Veterinary immunology and immunopathology*, 2002, 89, 29-36
- Ostling O, Johanson KJ.** Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1984, 123, 291-298.
- Ozougwu JC, Obimba KC, Belonwu CD, Unakalamba C.** The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Patophysiology* 2013, 4 (4), 46-57.
- Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z.** Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2015, 6 (3), 331-336.
- Pandit MK, Burke J, Gustafson AB, Minocha A, Peiris AN.** Drug- induced disorders of glucose tolerance. *Annals of Internal Medicine* 1993, 118, 529- 540.
- Pari L, Latha M.** Protective role of *Scoparia dulcis* plant extract on brain antioxidant status and lipidperoxidation in STZ diabetic male Wistar. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2004, 4 (16), 1-8.
- Parildar H, Serter R, Yesilada E.** Diabetes mellitus and phytotherapy in Turkey. *Journal of the Pakistan Medical Association* 2011, 61, 1116-1120.
- Petlevski R, Hadzija M, Slijepcevic M, Juretic D.** Effect of 'antidiabetis' herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2001, 75, 181- 184.
- Pieper AA, Verma A, Zhang J, Snyder SH.** Poly (ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death. *Trends in Pharmacological Sciences* 1999, 20, 171–181.
- Pino JA, Rosado A, Fuentes V.** Chemical composition of the leaf oil of *Achillea millefolium* L. Grown in Cuba. *Journal of Essential Oil Research* 1998, 10 (4), 427-428.



**Puvadolpirod S, Thaxton JP.** Model of physiological stress in chickens 2. Dosimetry of adrenocorticotropin. *Poultry science* 2000, 79, 370-376.

**Rajasekaran S, Ravi K, Sivagnanam K, Subramanian S.** Beneficial effects of aloe vera leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2006, 33, 232-237.

**Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S.** Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacological Reports* 2005, 57, 90-96.

**Ramírez G, Zavala M, Pérez J, Zamilpa A.** In vitro screening of medicinal plants used in México as antidiabetics with glucosidase and lipase inhibitory activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012, 1-6.

**Robertson RP, Harmon JS.** Diabetes, glucose toxicity, and oxidative stress: A case of double jeopardy for the pancreatic islet beta cell. *Free Radical Biology and Medicine* 2006, 41 (2), 177-184.

**Rohloff J, Skagen EB, Steen AH, Iverse TH.** Production of yarrow (*Achillea Millefolium* L.) in Norway: essential oil content and quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000, 48, 6205- 6209.

**Saeidnia S, Gohari AR, Mokhber- Dezfuli N, Kiuchi F.** A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea*. *DARU* 2011, 19 (3), 173-186.

**Sanders RA, Rauscher FM, Watkins JB.** Effects of quercetin on antioxidant defense in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 2001, 15, 143-149.

**Santoro GF, Cardoso MG, Guimaraes LGL, Mendonça LZ, Soares MJ.** Trypanosoma cruzi: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. And *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Experimental Parasitology* 2007, 116, 283- 290.

**Seçmen Ö, Gemici Y, Görk G, Bekat L, Leblebici E.** Tohumlu Bitkiler Sistematığı. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 2008, 335-338.

**Sekkin S, İpek ED, Boyacıoğlu M, Kum C, Karademir Ü, Yalınkılınç HS, Ak MO, Başaloğlu H.** DNA protective and antioxidative effects of melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Turkish Journal of Biology* 2015, 39, 932-940.

**Sen S, Chakraborty R.** The role of antioxidants in human health, oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy, American Chemical Society, India, 2011 (1), 1-37.

**Sharma B, Balomajumder C, Roy P.** Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic. *Food and Chemical Toxicology* 2008, 46, 2376-2383.

**Shirwaikar A, Rajendran K, Kumar CD, Bodla R.** Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethno- Pharmacology* 2004, 91, 171-175.

**Solimena M, Folli A, Aparisi R, Pozza G, De Camilli P,** Autoantibodies to GABA-nergic neurons and pancreatic beta cells in stiff- man syndrome. *The New England Journal of Medicine* 1990, 322 (22), 1555-1560.

**Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry* 1988, 34 (3), 497-500.

**Szkudelski T.** The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research* 2001, 50 (6), 537- 546.

**Tahara A, Matsuyama-Yokono A, Nakano R, Someya Y, Shibasaki M.** Hypoglycemic effects of antidiabetic drugs in streptozotocin-nicotinamide-induced mildly diabetic and streptozotocin-induced severely diabetic rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2008, 103, 560-568.

**Takzare N, Hosseini MJ, Hamideh Mortazavi S, Safaie S, Moradi R.** The effect of *Achillea millefolium* extract on spermatogenesis of male Wistar rats. *Human & Experimental Toxicology* 2011, 30 (4), 328-334.

**Taylor SI.** Lilly lecture: molecular mechanism of insulin resistance lessons from patients with mutations in the insulin receptor gene. *Diabetes* 1992, 41 (11), 1473-1490.

**Temel N, Cigremis Y, Gecer M, Akgoz M.** The Gene Expression of Antioxidant Enzymes in Streptozotocin-Induced Experimental Diabetes in Rat Liver Tissue. *Medicine Science* 2015, 4 (4), 2834- 2848.

**Tietze F.** Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Analytical Biochemistry* 1969, 27, 502-522.

- Trivedi PC.** Indian medicinal Plants, Aavishkar Publishers Distributors, India, 2009.
- Tyrl RJ.** Origin and Distribution Of Polyploid Achillea (Compositae) in Western North America. *Brittonia* 1975, 27 (2), 187-196.
- Ulusoy E, Cinel İ, Öztürk B, Memiş L, Memiş A, Çetinkaya M.** Diabetik ratlarda selenyumun spermatogenezzi koruyucu etkisi. *Ankara Patoloji Bülteni* 1998, 15(1), 25-28.
- Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlı A.** Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2005, 12 (3), 145-152.
- WEB\_1.** <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5300#section=Top>
- WEB\_2.** Modern Herbal by Mrs. M. Grieve. <https://www.botanical.com/botanical/mgmh/y/yarrow02.html>
- Wu KK, Huan Y.** Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols in Pharmacology* 2008, 40, 1-14.
- Yazdanparast R, Ardestani A, Jamshidi S.** Experimental diabetes treated with Achillea santolina: Effect on pancreatic oxidative parameters. *Journal of Ethnopharmacology* 2007, 112, 13-18.
- Yenigün M.** Her Yönüyle Diabetes Mellitus (2. Baskı) Nobel Tıp Kitapevi, Çapa İstanbul, 2001, 51-62.
- Yılmaz HR, Uz E, Yücel N, Altuntaş I, Özçelik N.** Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 2004, 18, 234-238.
- Yılmaz Ö, Demir E.** Streptozotocin ile Tip-1 diyabet oluşturulan sıçanlarda acı badem yağının serum ve eritrositlerdeki bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2014, 18, 13-21.
- Zahara K, Tabassum S, Sabir S, Arshad M, Qureshi R, Amjad MS, Chaudhari SK.** A review of therapeutic potential of Saussurea lappa an endangered plant from Himalaya. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2014, 7, 60-69.
- Zajac J, Shrestha A, Patel P, Poretsky L.** The Main Events in the History of Diabetes Mellitus: Principles Diabetes Mellitus (2nd) New York, 2009, 3-19.

**Zhang XF, Tan BKH.** Effects of an ethanolic extract of *Gynura procumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Medical Journal* 2000, 41 (1), 9-13.

**Zolghadri Y, Fazeli M, Kooshki M, Shomali T, Kairmaghayee N, Dehghani M.** *Achillea millefolium* L. hydro- alcoholic extract protects pancreatic cells by down regulating  $\alpha$ -1 and inos gene expression in diabetic rats. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine* 2014, 3 (4), 255-262.



# EKLER



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 30 Haziran 2016

**Oturum** : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2016 Yılı V. Oturumu  
**Sayı** : 64583101/2016/102  
**Proje Başlığı** : Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda Achillea millifolium'un (Civanperçemi) DNA koruyucu etkisi.  
**Proje Yürütücüsü** : Doç. Dr. Selim SEKKİN  
**Proje Ekibi** : Kübra GÜNEY

**Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:**

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması

İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması

Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması


**Hayvan Çalışması** : İnsanlarda araştırma  
İnsan olmayan primatların kullanılması  
Transgenik hayvanların kullanılması  
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

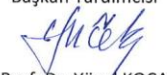
**Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.**

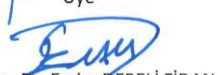
  
Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN  
Başkan

  
Prof. Dr. Tuğhan DOST  
Başkan Yardımcısı

  
Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ  
Üye


  
Prof. Dr. Deniz ÇOBAN  
Üye

  
Prof. Dr. Yücel KOCA  
Üye

  
Yrd. Doç. Dr. Evrim BERELİ FİDAN  
Üye

  
Vet. Hek. Atilla Muhtar  
UÇMAKLIOĞLU  
Üye

  
Vet. Hek. Serdar AKTAŞ  
Üye

  
Yurdagül ALTINBAŞ  
Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

## ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : GÜNEY KAYA KÜBRA  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : YENİMAHALLE/05.05.1992  
**E-mail** : kguney0592@gmail.com  
**Yabancı Dil** : İngilizce

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2014

### İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2015-...	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Rekombinant DNA Ve Rekombinant Protein Uygulama Ve Araştırma Merkezi	Araştırmacı

### AKADEMİK YAYINLAR

#### 2. PROJELER

B. BOZDOĞAN, İ. DABANOĞLU, GÜNEY KAYA K. Eksfoliatif Toksin Genlerinin Klonlanması ve Toksin Ekstraktının Psoriasis Oluşturulmuş Farelerdeki Etkisinin Araştırılması, TÜBİTAK, 1005 - Yeni Fikirler ve Ürünler, Burslu, 2017.

B. BOZDOĞAN, E. ORYAŞIN, GÜNEY KAYA K. İzogenik Kosullarda Erm Metilazlarının 23s Rrna Üzerindeki Metilasyon Noktalarının Belirlenmesi, 1001 - Araştırma, Burslu, 2018.

### 3. BİLDİRİLER

#### A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

K. GÜNEY KAYA, İ. DABANOĞLU, E. ORYAŞIN, O. AKTEPE, U. ASLAN, G. ASLANOĞLU, A. Y. ÇOBAN, S. A. COSKUNER, H. GÜDÜCÜOĞLU, N. KARABİBER, S. ÖNCÜ, M. T. OTGUN, N. ÖZKÜTÜK, M. ÖZYURT, A. G. ŞENER & B. BOZDOĞAN, Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) Şuşlarında Eksfoliatif Toksin A, B, D, Toksik Şok Sendromu Toksin Ve Panton-valentine Leukosidin (pvl) Genlerinin Araştırılması, Sözlü Sunum, 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, 29 Haziran 2017, 01 Temmuz 2017.

