

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOCIN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ  
RATLARIN KARACİĞER DOKULARINDAKİ  
OKSİDATİF HASAR ÜZERİNE *Ganoderma lucidum*  
POLİSAKKARİTLERİNİN ETKİSİ**

Arş. Gör. Hüseyin Avni EROĞLU

Fizyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Ebru BEYTUT

KARS-2013

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOCIN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ  
RATLARIN KARACİĞER DOKULARINDAKİ  
OKSİDATİF HASAR ÜZERİNE *Ganoderma lucidum*  
POLİSAKKARİTLERİNİN ETKİSİ**

Arş. Gör. Hüseyin Avni EROĞLU

Fizyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Ebru BEYTUT

2013-KARS

Bu Çalışma KAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: 2012-VF-25

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde Arş. Gör. Hüseyin Avni EROĞLU'nun Prof. Dr. Ebru BEYTUT danışmanlığında doktora tezi olarak hazırladığı “**Streptozotocin ile Diyabet Oluşturulmuş Ratların Karaciğer Dokularındaki Oksidatif Hasar Üzerine *Ganoderma lucidum* Polisakkaritlerinin Etkisi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi : 20.06.2013**

**Adı ve Soyadı**

**Başkan : Prof. Dr. Dursun Ali ÇINAR**

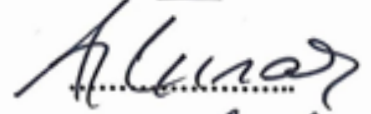
**Üye : Prof. Dr. Hidayet Metin ERDOĞAN**

**Üye : Prof. Dr. Ebru BEYTUT**

**Üye : Yrd. Doç. Dr. Metin ÖĞÜN**

**Üye : Yrd. Doç. Dr. Birkan TOPÇU**

**İmza**











Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../ 2013 gün ve ...../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimlerini aktararak ve öğrenimim süresince özveri ile bir yol gösterici görevi üstlenen değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Ebru BEYTUT'a, çalışmamın süresince her türlü yardım ve desteği veren Biyokimya ve Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üye ve elemanlarına, değerli dostum Dr. Hamit USLU'ya, patolojik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Hocam Doç. Dr. Serpil DAĞ'a, çalışmamı maddi yönden destekleyen Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Birkan TOPÇU ile diğer öğretim elemanlarına, çalışmalarım süresince emeği geçen herkese ve eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve varlığımı borçlu olduğum güzel ülkem Türkiye Cumhuriyeti Devleti'ne teşekkürü bir borç bilirim.

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b><math>^1\text{O}_2</math></b>	: Singlet Oksijen
<b><math>1\Delta\text{gO}_2</math></b>	: Singlet Oksijen Delta
<b><math>1\Sigma\text{gO}_2</math></b>	: Singlet Oksijen Sigma
<b>ABS</b>	: Absorbans
<b>ABTS</b>	: 3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid
<b>ADP</b>	: Adenozin difosfat
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CR3</b>	: Tamamlayıcı Reseptör Tip 3
<b>Cu</b>	: Bakır
<b>Cu-Zn SOD</b>	: Bakır-Manganez Süperoksit dismutaz
<b>DM</b>	: Diyabetes Mellitus
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>EDTA</b>	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
<b>Fe</b>	: Demir
<b>G6PD</b>	: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
<b>GLP</b>	: <i>Ganoderma lucidum</i> Polisakkaritleri
<b>GPx</b>	: Glutatyon Peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutatyon Redüktaz
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutatyon Peroksidaz
<b>GSSG</b>	: Okside Glutatyon
<b>GST</b>	: Glutatyon S-transferaz
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen&Eosin
<b><math>\text{H}_2\text{O}_2</math></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>HDL</b>	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
<b><math>\text{HO}_2^\cdot</math></b>	: Perhidroksil Radikali
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon Gama
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>LDL</b>	: Düşük Dansiteli Lipoprotein

<b>LOOH</b>	: Lipit Hidroperoksit
<b>MAPK</b>	: Mitojenle-Aktive Protein Kinaz
<b>M-CSF</b>	: Makrofaj Koloni Stimule Edici Faktör
<b>Mn-SOD</b>	: Manganez Süperoksit dismutaz
<b>NAD<sup>+</sup></b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
<b>NADP<sup>+</sup></b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Radikali
<b>OH</b>	: Hidroksil Radikali
<b>OSİ</b>	: Oksidatif Stres İndeksi
<b>PEPCK</b>	: Piruvat Karboksilaz ve Fosfoenolpiruvat Karboksikinaz
<b>R<sup>•</sup></b>	: Serbest Yağ Asidi Radikali
<b>ROO<sup>•</sup></b>	: Peroksil Radikali
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>STZ</b>	: Streptozotocin
<b>TAS</b>	: Total Antioksidan Seviye
<b>TCM</b>	: Traditional Chinese Medicine
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Seviye
<b>TÜRDEP</b>	: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışma Grubu
<b>VLDL</b>	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>XO</b>	: Ksantin Oksidaz

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>Sayfa No</b>
Şekiller Dizini	I
Tablolar Dizini	II
Grafikler Dizini	III
Resimler Dizini	IV
<b>1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER</b>	1
1.1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
1.2. DİYABETES MELLİTUS	2
1.2.1. TARİHÇESİ	3
1.2.2. DİYABETES MELLİTUS'UN SINIFLANDIRILMASI	3
I. Tip 1 Diyabet	3
II. Tip 2 Diyabet	4
III. Diğer Spesifik Tipler	4
IV. Gebelik Diyabeti	4
1.2.3. DİYABETES MELLİTUS VE OKSİDATİF STRES	5
1.2.3.1. DİYABETTE SERBEST RADİKAL ÜRETİMİ	6
1.2.3.1.1. Serbest Radikaller	6
1.2.3.1.2. Serbest Radikal Türleri	7
1.2.3.1.2.1. Süperoksit Radikali	7
1.2.3.1.2.2. Hidrojen Peroksit	7
1.2.3.1.2.3. Hidroksil Radikali	8
1.2.3.1.2.4. Singlet Oksijen	8
1.2.3.1.2.5. Perhidroksil Radikali	8
1.2.3.1.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları	9
1.2.3.1.3.1. Endojen Kaynaklar	9
1.2.3.1.3.2. Mitokondrial Elektron Transport Sistemi	9
1.2.3.1.3.3. Endoplazmik Retikulum ve Nükleer Membranda Membrana Bağlı Sitokromların Oksidasyonu	9
1.2.3.1.3.3.1. Ksantin Oksidazın (XO) Katalitik Döngüsü	9
1.2.3.1.3.3.2. Dihidroorotat Dehidrojenaz, Flavoprotein Dehidrojenaz, Aminoasit Oksidaz ve Triptofan Dioksijenaz Gibi Enzimlerin Katalitik Döngüsü	10
1.2.3.1.3.3.2.1. Araşidonik Asit Metabolizması	10

1.2.3.1.3.3.2.2. Aktive Olmuş Makrofajlar, Nötrofiller ve Eozinofillerden Fagositik Solunumsal Patlama	10
1.2.3.1.3.3.2.2.1. NADPH-Bağımlı Oksidaz	10
1.2.3.1.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Kaynakları	10
1.2.3.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri	11
1.2.3.1.4. Lipit Peroksidasyonu	11
1.2.3.1.5. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	12
1.2.3.1.6. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi	13
1.2.3.2. ANTIÖKSİDANLAR	14
1.2.3.2.1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar	14
1.2.3.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	14
1.2.3.2.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	15
1.2.3.2.1.3. Katalaz (CAT)	15
1.2.3.2.1.4. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD)	15
1.2.3.2.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR)	15
1.2.3.2.2. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar	16
1.2.3.2.2.1. C Vitamini (Askorbik Asit)	16
1.2.3.2.2.2. E Vitamini (Tokoferol)	16
1.2.3.2.2.3. A Vitamini ( $\beta$ - Karoten)	16
1.2.3.2.2.4. Biluribin	16
1.2.3.2.2.5. Glutasyon (GSH)	16
1.2.3.2.2.6. Ürik Asit	17
1.2.3.2.2.7. Melatonin	17
1.2.3.2.2.8. Flavonoidler	17
1.2.3.3. STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET	18
1.2.3.4. <i>Ganoderma lucidum</i>	19
1.2.3.4.1. <i>Ganoderma lucidum</i> 'un Sınıflandırmadaki Yeri	20
1.2.3.4.2. <i>Ganoderma lucidum</i> 'un Morfolojik Özellikleri	20
1.2.3.4.3. <i>Ganoderma lucidum</i> 'un Kullanım Alanları	21
1.2.3.4.4. <i>Ganoderma lucidum</i> 'un Kimyasal Yapısı	22
1.2.3.4.4.1. Triterpenler	22
1.2.3.4.4.2. Polisakkaritler	23
1.2.3.4.4.3. Sakkarit İçeren Fonksiyonlar	26
1.2.3.4.4.4. Steroidler	26



1.2.3.4.5. <i>Ganoderma lucidum</i> Ürünleri	26
1.2.3.4.6. <i>Ganoderma lucidum</i> 'un İmmunoregülatör Aktivitesi	27
1.2.3.4.7. <i>Ganoderma lucidum</i> ile Diyabet İlişkisi	30
<b>2. MATERYAL VE METOD</b>	32
2.1. Materyal	32
2.1.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	34
2.1.2. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	34
2.1.3. Histopatolojik İncelemeler	34
2.2. Metod	35
2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	35
2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
2.2.3. Kullanılan Cihazlar	36
2.2.4. Kullanılan Kitler	36
2.2.5. Kullanılan Diğer Malzemeler	36
2.2.6. Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	36
2.2.6.1. Sodyum sitrat çözeltisi	36
2.2.6.2. Streptozotosin çözeltisi	36
2.2.6.3. Fosfat Tampon Çözeltisi	37
2.2.6.4. <i>Ganoderma lucidum</i> Çözeltisi	37
2.2.7. <i>Ganoderma lucidum</i> Ekstraktının Hazırlanması	37
2.2.7.1. <i>Ganoderma lucidum</i> Polisakkaritlerinin Tayini	37
2.2.7.1.1. Molisch Deneyi	38
2.2.7.1.2. Polisakkaritlerin Hidrolizi Deneyi	38
2.2.8. Kan Glikoz Seviyelerinin Belirlenmesi	39
2.2.9. Lipit Seviyelerinin Belirlenmesi	39
2.2.10. Çalışmada Kullanılan Kitlere Ait Prosedürler	40
2.2.10.1. Total Oksidan (TOS) Test Kiti	40
2.2.10.2. Total Antioksidan (TAS) Test Kiti	41
2.2.11. Oksidatif Stres İndeksinin Hesaplanması	41
2.3. İstatistiksel Analiz	42
<b>3. BULGULAR</b>	43
3.1. Kontrol ve Deneme Gruplarının Kan Glukoz Düzeylerinin Değerlendirilmesi	43

3.2. Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanların Vücut Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	46
3.3. Serum Lipit Profili	47
3.4. Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreasın Total Oksidan Düzeyleri	52
3.5. Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreasın Total Antioksidan Düzeyleri	55
3.6. Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreasın Oksidatif Stres İndeksi	60
3.7. Korelasyon Analizleri	63
3.8. Histopatolojik Bulgular	63
3.8.1. Pankreas Dokusu	63
3.8.2. Karaciğer Dokusu	64
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	71
<b>5. ÖZET</b>	79
<b>6. ABSTRACT</b>	81
<b>7. KAYNAKLAR</b>	83
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	94

**ŞEKİLLER DİZİNİ****Sayfa  
No****Şekil 1.** Lipit peroksidasyonu

12

**Şekil 2.** Streptozotocinin Kimyasal formülü

18

<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> <i>Ganoderma lucidum</i> 'un sınıflandırmadaki yeri	20
<b>Tablo 2.</b> Deney hayvanlarına Verilen Rasyonun Bileşimi	33
<b>Tablo 3.</b> Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanlarının Açlık Kan Glukoz Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Grup İçi Değişimleri	44
<b>Tablo 4.</b> Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanlarının Açlık Kan Glukoz Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Gruplar Arası Değişimleri	45
<b>Tablo 5.</b> Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıklarının Grup İçi Günler Arası Değişimleri	46
<b>Tablo 6.</b> Deney Gruplarının Serum Total Kolesterol, HDL, LDL ve VLDL Kolesterol ile Trigliserit Sonuçları ile Pankreatik Amilaz Düzeyleri	47
<b>Tablo 7.</b> Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreas Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri	52
<b>Tablo 8.</b> Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreas Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri	55
<b>Tablo 9.</b> Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreas OSİ Değerleri	60

<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Grafik 1.</b> Serum Total Kolesterol Düzeyleri	48
<b>Grafik 2.</b> Serum Trigliserit Düzeyleri	48
<b>Grafik 3.</b> Serum HDL Düzeyleri	49
<b>Grafik 4.</b> Serum VLDL Düzeyleri	50
<b>Grafik 5.</b> Serum LDL Düzeyleri	50
<b>Grafik 6.</b> Serum Pankreatik Amilaz Düzeyleri	51
<b>Grafik 7.</b> Serum Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri	52
<b>Grafik 8.</b> Eritrosit Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri	53
<b>Grafik 9.</b> Karaciğer Dokusunun Total Oksidan Seviyeleri	54
<b>Grafik 10.</b> Pankreas Dokusunun Total Oksidan Seviyeleri	54
<b>Grafik 11.</b> Serum Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri	56
<b>Grafik 12.</b> Eritrosit Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri	57
<b>Grafik 13.</b> Karaciğer Dokusunun Total Antioksidan Seviyeleri	58
<b>Grafik 14.</b> Pankreas Dokusunun Total Antioksidan Seviyeleri	59
<b>Grafik 15.</b> Serum Örneklerinin OSİ Değerleri	60
<b>Grafik 16.</b> Karaciğer Dokusunun OSİ Değerleri	61
<b>Grafik 17.</b> Pankreas Dokusunun OSİ Değerleri	62
<b>Grafik 18.</b> Eritrosit Örneklerinin OSİ Değerleri	62

**RESİMLER DİZİNİ****Sayfa  
No**

<b>Resim 1:</b> <i>Ganoderma lucidum</i> ' un Doğadaki Görüntüsü	21
<b>Resim 2:</b> Kontrol grubu rat pankreasının histolojik görünümü	65
<b>Resim 3:</b> GLP kontrol grubuna ait rat pankreasının histolojik görünümü	65
<b>Resim 4:</b> DK grubuna ait pankreasının histopatolojik görünümü	66
<b>Resim 5:</b> GLP 60 mg'lık gruba ait pankreasın histopatolojik görünümü	66
<b>Resim 6:</b> GLP 120 mg'lık gruba ait pankreasın histopatolojik görünümü	67
<b>Resim 7:</b> GLP 180 mg'lık gruba ait pankreasın histopatolojik	67
<b>Resim 8:</b> Kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü	68
<b>Resim 9:</b> GLP kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü	68
<b>Resim 10:</b> DK grubuna ait karaciğerin histopatolojik görünümü	69
<b>Resim 11:</b> GLP 60 mg/kg'lık gruba ait karaciğerin histopatolojik görünümü	69
<b>Resim 12:</b> GLP 120 mg/kg'lık gruba ait karaciğerin histopatolojik görünümü	70
<b>Resim 13:</b> GLP 180 mg/kg'lık gruba ait karaciğerin histopatolojik görünümü	70

## 1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

### 1.1. GİRİŞ ve AMAÇ

Glukoz, lipit ve protein oksidasyonunun neden olduğu diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur. Uzun süreli komplikasyonları ile önemli bir sağlık sorunu olan diyabet, kişinin yaşam kalitesini düşürmenin yanısıra uzun ve masraflı tedavisi ile de ülke ekonomisine yük oluşturmaktadır. Diyabette artan serbest radikaller; lipit, protein ve nükleik asitlerle etkileşime girerek lipit ve protein oksidasyonuna yol açar (2, 5, 13, 20). Protein oksidasyonu sonucu: enzim aktivitelerinde azalma, protein fonksiyonlarında kayıp, proteaz inhibitör aktivitelerinde azalma, protein agregasyonu, proteolize yatkınlık, reseptör aracılıklı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen reaktivitelerinde artış gibi önemli olaylar gerçekleşir (13, 49). Aynı zamanda protein oksidasyonu sonucu oluşan bu bozukluklar diyabet, katarakt, nefropati, Alzheimer, romatoid artrit ve sepsis gibi hastalıkların etiyolojisi ve ilerlemesinde önemli rol oynar (2, 4, 39). Artan serbest radikaller sadece lipit ve proteinlere zarar vermez aynı zamanda DNA'da oksidatif hasara da neden olur (19, 29 ). Serbest radikallerin anormal derece de yüksek olması ve aynı zamanda antioksidan savunma sisteminin bozulması; insülin direncinin gelişimine, artan lipit peroksidasyona ve hücrel organellerin hasarına neden olur (2, 11, 15, 65). Farklı yöntemler kullanılarak yapılan deneysel diyabet modellerinde en fazla kullanılan alloxan ve streptozotosin ile oluşturulan diyabet olduğu bilinmektedir. Mutajenik ve nitroz ajanlar olarak bilinen alloxan ve STZ, nöronlarda, endotelial hücrelerde ve pankreatik  $\beta$ -hücrelerde hasarları indüklerler. Keza, STZ-indüklü diyabet, hücrel hasardaki diyabetik komplikasyonların çalışılması için oldukça uygun deneysel bir modeldir. STZ, serbest oksijen radikallerini artırarak DNA'da kırıklara neden olmaktadır.

Son zamanlarda diyabet tedavisi için, tedavi edici ajanların (oral hipoglisemik ilaçlar) yan etkilerinden dolayı bitkisel ilaçlara ciddi anlamda bir yöneliş olmuştur. Geleneksel şifalı bitki ekstraktlarının birçoğu diyabet tedavisinde kullanılır. Bu bitkilerden biri olan *Ganoderma lucidum*; Çin, Kore ve Japonya' da yüz yıllar boyunca tıbbi bir ilaç olarak kullanılmıştır. "Ölümsüzlük Mantarı" olarak ta bilinen bu mantar türü Japonca'da Reishi, Çince'de Ling Zhi, olarak isimlendirilmiştir

Yapılan çalışmalar sonucunda deneysel olarak Diyabetes Mellitus oluşturulan hayvanlarda, *Ganoderma lucidum* ve bileşenlerinin kan glukoz seviyesini önemli bir oranda azalttığını belirtmektedir(45, 62, 78, 94, 115, 116). *Ganoderma lucidum*'un bu etkisini, pankreasın  $\beta$  hücrelerinin tahrip olmasını önleyerek insülin salgılanmasını uyararak; glukozun ince bağırsaklardan emilimini azaltarak ya da geciktirerek kan glukoz seviyesinin yükselmesini engelleyerek; hepatositlerde ATP konsantrasyonunu ve glikoneogenesisin sorumlu bir enzim olan Piruvat Karboksilaz ve Fosfoenolpiruvat Karboksikinaz'ın (PEPCK) moleküler düzeyde üretilmesini baskılayıp dolaylı olarak glukoz üretimini azaltarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir (62, 116).

Yaptığımız literatür araştırmalarında Tip 1 diyabetes mellituslu sıçanlarda *Ganoderma lucidum*'un etkisi ile ilgili oldukça sınırlı çalışma bulunduğu saptandı ve bu çalışmalarda *Ganoderma lucidum*'un oksidan- antioksidan sistemler üzerine etkisi ile ilgili farklı yorumlar bulunduğu tespit edildi. Ayrıca yaptığımız literatür taramasında diyabetes mellitusta karaciğerdeki oksidatif stres üzerine *Ganoderma lucidum*'un etkisi ile ilgili bir oldukça sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bu amaçla bu çalışma Tip 1 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda *Ganoderma lucidum*'un, kan glukoz, serum lipit profili, plazma, eritrosit ve dokularda total antioksidan (TAS) ve total oksidan düzeylerini (TOS) tespit etmek için planlanmıştır.

## 1.2. DİYABETES MELLİTUS

Diyabetes mellitus (DM), İnsülin salgılanması veya salgılanan insülin etkisinin tam ya da kısmi olarak yetersiz olmasıyla ortaya çıkan kronik hiperglisemi; karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasında bozukluklar ve bozuklukların neticesinde ortaya çıkan çeşitli komplikasyonlarla karakterize endokrin ve metabolik bir hastalıktır. Diyabetes Mellitus klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı gibi klasik belirtilerle ortaya çıkmakta, hastalığın ilerleyen dönemlerinde, anjiopati, kardiyomiyopati, nöropati, nefropati, ketoasidoz, hiperglisemik hiperosmolar nonketotik koma, nefropati, nöropati, ateroskleroz gibi komplikasyonlar gelişebilmektedir. Her yıl dünyada binlerce kişi bu komplikasyonlara bağlı olarak hayatını kaybetmektedir (5, 19, 101, 110).



### 1.2.1. TARİHÇESİ

Diyabetes Mellitus, ilk kez milattan 1500 yıl öncelerine ait Ebers papirüslerinde tarif edilmiş ve burada bol su içme ve bol idrardan bahsedilmektedir. Diyabetes, eski Yunanca'da "sifon" anlamına gelmektedir ve aşırı idrar yapılmasını ifade etmektedir. Mellitus ise yine eski Yunanca'da "bal" anlamına gelen "mel" kelimesinden türemiştir (39).

Milattan 150 yıl önce, Kapadokya'da Areteus, ilk defa "diabetes" adını kullanmıştır (39). Milattan sonra 9. yüzyılda islam hekimi Razi ve 10-11. yüzyıl islam hekimi İbn-i Sina, bu hastaların idrarlarının tatlı olduğundan ve susuzluk hissinden söz etmişlerdir. 18. yüzyılda William Cullen "Diabetes" kelimesinin yanına "Mellitus"u eklemiştir. 19. yüzyılda Claude-Bernard glikozun karaciğerde glikojen olarak depolandığını tespit etmiştir.

19. yüzyıl sonlarına doğru, Lacereaux klinik olarak diyabetin 2 tipini, zayıflarda görülen ve tedaviye dirençli ölümcül tip olarak değerlendirdiği "Diabete miagre" ve şişman diyabeti ileri yaşlarda izlenen ve diyet tedavisine yanıt veren "Diabete grass" olarak tanımlamıştır (39). Dünya'da 2000 yılında 151 milyon; Türkiye'de ise Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışma Grubu'nun (TÜRDEP) yaptığı çalışma ile 2.6 milyon diyabetli olduğu rapor edilmiştir (93).

### 1.2.2. DİYABETES MELLİTUS'UN SINIFLANDIRILMASI

Diabetes mellitusun bütün tipleri ya dolaşımdaki insülin yetersizliğinden ya da hedef dokuların insüline yanıt verebilirliğinin azalmasından (insülin rezistansı) kaynaklanmaktadır. Diyabetin başlıca 2 ana tipi olup DM' un etiyolojik sınıflandırılması aşağıda verilmiştir (4).

**I. Tip 1 Diyabet** ( $\beta$  hücre yıkımı, genellikle mutlak insülin eksikliğine yol açar)

A. İmmun aracılıklı

B. İdiyopatik

**II. Tip 2 Diyabet** (Ağır insülin direnciyle beraber relatif insülin eksikliği veya ağır insülin salgı bozukluğuyla beraber insülin direnci)

**III. Diğer spesifik tipler**

- A.  $\beta$ -hücre işlevinin genetik defekti
- B. İnsülin etkisinde genetik defekt
- C. Ekzokrin pankreas hastalıkları
  - a) Pankreatit
  - b) Pankreatektomi
- D. Endokrin hastalıklar
  - a) Cushing Sendromu
  - b) Akromegali
- E. İlaçlar veya kimyasallar
- F. İnfeksiyonlar
- G. İmmun aracılıklı diyabetin nadir formları
- H. Diyabet ile ilişkili diğer genetik hastalıklar
  - a) Down Sendromu
  - b) Klienfelter Sendromu
  - c) Turner Sendromu

**IV. Gebelik diyabeti**

### 1.2.3. DİYABETES MELLİTUS VE OKSİDATİF STRES

Diyabetes mellitus hastalığının patogeneğinde oksidatif stres önemli rol oynamaktadır. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde olduğu sürece, organizma serbest radikallerden etkilenmez. Diyabette reaktif oksijen türlerinin rolü 1980’li yıllardan beri geniş çapta araştırılan bir konu haline gelmiştir. Günümüzde çok sayıda araştırmacı serbest radikallerin DNA, protein, lipid ve hücrenin diğer bileşenleri üzerinde sebep olduğu oksidatif hasarı araştırmaktadır. Diyabetes mellitusun ve neden olduğu komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda; nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı (11) ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği belirtilmektedir (2, 12, 49).

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitenin, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve yağ dokusu gibi diğer dokulara oranla pankreas adacık hücrelerinde çok daha düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (2).

Pankreas’ın  $\beta$ -hücrelerinin oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu bilinir. Bununla birlikte  $\beta$ - hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı da ifade edilmektedir (2).

Protein oksidasyonu, XX. yüzyılın ortalarından beri araştırılmasına rağmen in-vivo oksidatif hasarın spesifik ve genel belirteçleri olarak protein oksidasyonu ürünlerinin sorumlu tutulması son yıllarda ortaya çıkmıştır. İn-vivo çalışmalar aynı zamanda oksidatif stres ve hiperglisemi arasında pozitif ilişki olduğunu da göstermişlerdir. Hidrojen peroksidin, bir reaktif oksijen ürünü olan  $\cdot\text{OH}$  radikaline dönüşmesiyle insülin reseptör sinyal sistemi üzerinde etkili olduğu ve insülin tarafından reseptör aracılığı ile düzenlenen sinyal transdüksiyon yollarında anahtar rol oynayabileceği de belirtilmiştir. Keza glikasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen ifadesini azalttığını ve  $\beta$ -hücre apoptozuna neden olduğunu gösteren çalışmalar bu görüşü destekler niteliktedir (2, 12, 13).

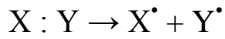
### 1.2.3.1. DİYABETTE SERBEST RADİKAL ÜRETİMİ

#### 1.2.3.1.1. Serbest Radikaller

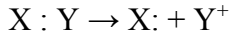
Son yörüngesinde, bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllere “serbest radikaller” adı verilmektedir. Bu çiftlenmemiş elektronlar molekülü çok kararsız hale getirmektedir. Serbest radikal, diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde reaktif bir yapı göstererek dış yörüngedeki elektronun ortaklanmasını sağlamaktadır (19, 29, 36).

Serbest radikaller genel olarak üç yolla meydana gelirler:

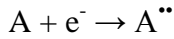
1- Kovalent bağlı bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesidir.



2- Kovalent bağlı bir molekülden tek bir elektron kaybı veya molekülün heterolitik bölünmesidir. Bu tipteki bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomların birinde kalır ve serbest radikal değil iyonlar meydana getirirler.



3- Normal bir moleküle tek bir elektron eklenmesi veya transferi ile oluşması.



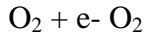
Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin fazla meydana gelişinin nedeni elektron transferinin sonucudur. Serbest radikallerin çoğu oksijenin indirgenmesi ile oluşmaktadır. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü, nötral, organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Serbest radikal oluşumunda,  $Cu^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $Mn^{+2}$  ve  $Mo^{+3}$  gibi bazı geçiş metalleri de önemli rol oynamaktadır (36).

### 1.2.3.1.2. Serbest Radikal Türleri

#### 1.2.3.1.2.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ )

Organizmada en çok üretilen radikal süperoksit radikaldir. İnsan vücudundaki pek çok molekül oksijenle direkt olarak reaksiyona girerek süperoksit radikali oluşturabilir. Bu şekilde Süperoksit radikali fizyolojik olarak oluştuğu gibi, yabancı mikroorganizmaları eradike etmek üzere, aktif fagositler tarafından koruyucu olarak ta üretilir (60).

Doğal bir oksijen molekülü çevresindeki herhangi bir molekülden bir elektron alarak süperoksit radikaline dönüşebilmektedir.



Mitokondrial elektron transport zinciri reaksiyonları, Fagositik hücrelerdeki “solunum patlaması” (respiratuar burst) ile, endoplazmik retikulumdaki sitokrom P-450 enzim sistemi süperoksit radikalının başlıca kaynaklarıdır (60).

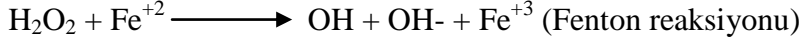
Süperoksit radikalının reaktivitesi çok yüksek olmamasına rağmen organizmada en çok üretilen radikaldir. Hidroksil radikaline göre daha düşük bir reaktiviteye sahip olduğu için açığa çıktığı hücre bölümünden daha uzak yerlere difüze olabilmektedir. Ancak bu difüzyon, hücre içinde bulunan SOD enziminin yüksek konsantrasyonu nedeniyle sınırlı kalmaktadır (5).



Hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyici özelliğinin olması Süperoksit radikalının asıl önemini artırmaktadır (19).

#### 1.2.3.1.2.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )

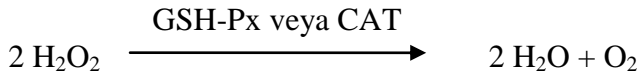
$H_2O_2$ 'nin bütün elektronları çiftlenmiş olduğundan gerçek bir serbest radikal değildir. Ancak  $Cu^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $Mn^{+2}$  gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşumuna yol açabildiğinden dolayı önemli bir oksidandır.  $H_2O_2$ , hidroksil radikali aracılığı ile DNA hasarı yapıcı etkisini göstermektedir.



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksit radikali ile de reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşumuna yol açabilmektedir.



Hidrojen peroksitin biyolojik önemi, süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici olan hidroksil radikalini oluşturması ve hidrofobik membranlardan kolayca diffüze olabilmesidir. İnsan hücrelerinden hidrojen peroksitin uzaklaştırılmasına katalaz ve peroksidaz aracılık etmektedir (50, 60).



#### 1.2.3.1.2.3. Hidroksil Radikali (OH)

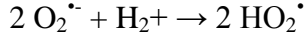
Hidroksil radikali biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü oksidandır. Reaktivitesi çok yüksek ve yarı ömrü çok kısa olduğu için komşu moleküllerle hızlıca reaksiyona girmektedir. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları önemli iki kaynağını oluşturmaktadır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Fenton reaksiyonunda Fe<sup>+2</sup> ile etkileşerek, Haber-Weiss reaksiyonunda ise Fe<sup>+2</sup> varlığında O<sub>2</sub><sup>-</sup> ile etkileşerek <sup>•</sup>OH radikalinin oluşumuna yol açar (59, 117).

#### 1.2.3.1.2.4. Singlet Oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

Singlet oksijen, yapısında çiftlenmemiş elektronu olmadığı için gerçek bir radikal değildir. Oksijen molekülünün daha reaktif bir türüdür, moleküler oksijenin enerji almasıyla oluşur. Singlet oksijenin delta (1ΔgO<sub>2</sub>) ve sigma (1ΣgO<sub>2</sub>) olmak üzere iki şekli vardır. Sigma (1ΣgO<sub>2</sub>) formu çok fazla enerjetiktir ve biyolojik sistemlerde hızla Delta (1ΔgO<sub>2</sub>) formuna dönüşmektedir (33).

#### 1.2.3.1.2.5. Perhidroksil Radikali (HO<sub>2</sub><sup>•</sup>)

Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde bir proton alarak perhidroksil radikalini (HO<sub>2</sub><sup>•</sup>) oluşturmaktadır (19).



### 1.2.3.1.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

#### 1.2.3.1.3.1. Endojen kaynaklar

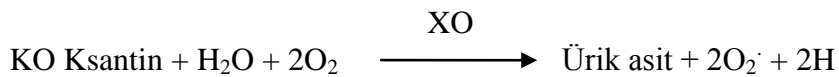
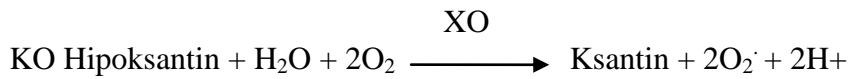
#### 1.2.3.1.3.2. Mitokondrial elektron transport sistemi

Organizmanın temel radikal kaynağı mitokondrial membranda yerleşen elektron transport zinciridir. Elektronların taşınımı sırasında bazı elektronlar “elektron taşıyıcılarından” ayrılarak direkt olarak oksijene geçer ve onu süperoksit radikaline indirgeyebilir (105).

#### 1.2.3.1.3.3. Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda membrana bağlı sitokromların Oksidasyonu

##### 1.2.3.1.3.3.1. Ksantin oksidazın (XO) katalitik döngüsü

Serbest radikaller, birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında da ortaya çıkabilir. Ksantin oksidaz bu enzimlerden biridir. Hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak bulunan ksantin oksidaz, pürinlerin yıkılım yolunda, hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında, elektron akseptörü olarak moleküler oksijenden ( $\text{O}_2$ ) daha çok  $\text{NAD}^+$  kullanılmaktadır. Oksijensizliğe bağlı olarak ADP'nin ATP'ye fosforilasyonunun yavaşladığı durumlarda, ADP yıkılmakta ve ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülmektedir (70).

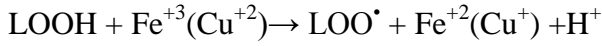
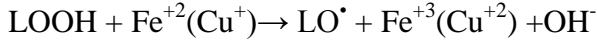


### **1.2.3.1.3.3.2. Dihidroorotat dehidrojenaz, flavoprotein dehidrojenaz, aminoasit oksidaz ve triptofan dioksijenaz gibi enzimlerin katalitik döngüsü**

#### **1.2.3.1.3.3.2.1. Araşidonik asit metabolizması**

Siklooksijenaz yoluyla prostoglandinlerin ve lipooksijenaz yoluyla lökotrienlerin oluşumunda, ara ürünler olarak hidroksil radikalleri ve peroksil bileşikleri meydana gelebilmektedir (21).

Geçiş metalleri lipit hidroperoksitlerinin [LOOH] parçalanmalarını ve lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederler.



#### **1.2.3.1.3.3.2.2. Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerden fagositik solunumsal patlama**

##### **1.2.3.1.3.3.2.2.1. NADPH-bağımlı oksidaz**

Bu enzim inflamatuvar medyatörlerin uyarılmasıyla aktive olmaktadır. Bu mekanizma “respiratuvar yanma” olarak adlandırılır ve oksijenin fazla kullanımıyla oluşmaktadır. NADPH’yi NADP<sup>+</sup>’a oksitlerken süperoksit radikali oluşur. Üretilen süperoksit radikalinden hidrojen peroksit meydana gelir. Ortaya çıkan hidrojen peroksit klor, brom veya iodidle myeloperoksidaz aracılığıyla reaksiyona girerek güçlü hipohalöz asitler ortaya çıkarırlar (26, 112).

##### **1.2.3.1.3.3.2. Ekzojen Serbest Radikal Kaynakları**

Yüksek oksijen konsantrasyonu (hiperoksi), iyonizan radyasyon, sigara, ksenobiyotikler; vücuda yabancı olan kimyasal maddeler (örn. ilaçlar, gıdalardaki katkı maddeleri, çevre kirliliğine neden olan maddeler-kimyasal karsinojenler) ekzojen serbest radikal kaynaklarıdır (105).



### 1.2.3.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri

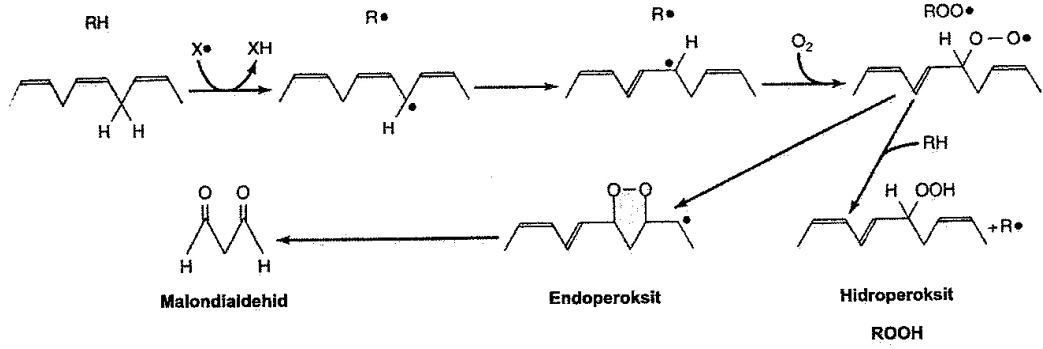
Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA ve karbonhidrat gibi önemli bileşiklerine etki etmektedirler. Serbest oksijen radikallerinin etkileri sonucunda hücre hasarı oluşmaktadır. Oluşan hücre hasarının, birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Diyabetes mellitus aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, Duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsisi, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, akut renal yetmezlik, Down sendromu, yaşlanma, retrolental fibroplazi, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi durumlarda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusudur (3).

### 1.2.3.1.4. Lipit Peroksidasyonu

Serbest radikallerin etkisine duyarlılıkları en yüksek olan lipitlerdir. Serbest radikallerin lipitler üzerine yaptığı en önemli etkisi, uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu üzerinedir. Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olarak tanımlanmaktadır. Doymamış yağ asidi oksidasyonu sonucu bir serbest yağ asidi radikali ( $R\bullet$ ) açığa çıkmakta ve bu yağ asidi radikali ( $R\bullet$ ) oksijen bağlanınca peroksil radikali ( $ROO\bullet$ ) oluşmaktadır. Bu peroksil radikalleri yüksek derece aktiftirler ve zincirleme olarak devam eden peroksidasyon reaksiyonlarına neden olmaktadır (19, 20, 33).

Lipid peroksidasyonu sonucunda meydana gelen lipid peroksitlerinin ( $ROOH$ ) yıkılımı geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Plazma membranı ve hücre içi organel lipid peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının tümüyle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar. Lokal olarak hidrojen peroksitten ( $H_2O_2$ ) Fenton reaksiyonu sonucu hidroksil radikali ( $OH\bullet$ ) oluşması zincir reaksiyonunu başlatabilir. Lipid peroksitleri ( $ROOH$ ) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler meydana gelir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. Malondialdehit (MDA) Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da

kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehyitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur(3).



Şekil 1. Lipit peroksidasyonu (79)

### 1.2.3.1.5. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Protein oksidasyonu, proteinlerin reaktif oksijen türevleri veya oksidatif stres ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu meydana gelmektedir. Protein oksidasyonu esas olarak  $\cdot\text{OH}$  ile başlamakta ve diğer taraftan oksidasyon sürecinde  $\text{O}_2$  ile birlikte  $\text{O}_2^{\cdot-}$  ve onun protonlanmış formu olan  $\text{HO}_2^{\cdot}$ 'in varlığı da gereklidir. Bu reaktif oksijen bileşikleri amino asitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile proteinin parçalanmasına neden olur. Proteinlerin, serbest radikal hasarından etkilenme düzeyleri aminoasit kompozisyonlarına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Sülfür ve doymamış bağ içeren moleküllerin serbest radikaller ile reaktivitesi oldukça yüksektir. Proteinler üzerinde serbest radikal hasarı sonucu sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller açığa çıkmaktadır (13, 29, 49, 95).

Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları olarak, enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, gen

transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (94).

#### **1.2.3.1.6. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi**

Serbest radikallerin, karbohidratlar üzerine önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve oksoaldehitler açığa çıkmaktadır (69). Açığa çıkan bu serbest radikallerin, hücrelerde meydana getirdiği harabiyetler nedeniyle diyabet, kronik kalp hastalığı, hipertansiyon, göz hastalıkları ve kanser gibi birçok hastalığa alt yapı hazırladığı düşünölmüştür(3).

### 1.2.3.2. ANTIOKSİDANLAR

Oksidatif hasarı önleyen, sınırlayan veya kısmen tamir eden moleküllere “antioksidanlar” denilmektedir (114). Antioksidanlar, doğal kaynaklı (endojen) ve ekzojen kaynaklı olmak üzere iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de sınıflandırılırlar. Antioksidanlar enzim veya enzim olmayan yapıda olabilmektedirler (36).

#### 1.2.3.2.1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar

##### 1.2.3.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksitin hidrojen peroksit'e dismutasyonunu katalize eden metallo enzimdir.



Süperoksit dismutaz enzimi, vasküler endotelde bulunan en önemli antioksidan enzimlerdendir. Bu enzim endotel hücreleri ile düz kas hücreleri arasında bol miktarda bulunmaktadır. Normalde damar yüzeyinde süperoksit radikallerini detoksifiye ederek lipid peroksidasyonunu ve ateroskleroz gelişimini önler (33, 60).

Oksijen kullanımının fazla olduğu dokularda SOD aktivitesi de fazladır. SOD insan vücudunda iki izomeri şeklinde bulunmaktadır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik, kofaktörleri bakır ve çinko olan izomer (Cu-Zn SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik, kofaktörü mangan olan izomerdirler (Mn-SOD). Etki mekanizmaları aynıdır fakat aktiviteleri üzerine pH'nın etkisi farklıdır. Her ikisi de pH: 7'de aktiftir fakat Cu-Zn SOD'un aktivitesi pH:5,5-10 aralığında sabitken, Mn-SOD, pH: 7'nin üzerine çıktığında aktivitesini kaybetmektedir (38, 68).

SOD gerçek bir detoksifiye edici enzim değildir. Çünkü reaksiyon sonucu ortaya çıkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toksik bir ajandır. Ancak bu reaksiyon, reaktif oksijen radikallerinin detoksifikasyonuna giden yolun ilk basamağını oluşturur. İkinci basamakta ise

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından suya dönüşümü sağlamaktadır(38).

#### 1.2.3.2.1.2. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

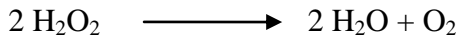
Glutatyon peroksidaz eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Hidrojen peroksit ve lipit hidroperoksitlerin redüksiyonunu katalizler.



Her iki reaksiyonda da GSH hidrojen vericisi olarak kullanılmaktadır. Selenyuma bağımlı GSH-Px, 4 selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir. %70'i sitozol, %30' u mitokondride bulunmaktadır. Enzimin karaciğer ve eritrositlerde aktivitesi oldukça yüksektir (33, 89, 114).

#### 1.2.3.2.1.3. Katalaz (CAT)

Oluşumunda dört tane "hem" grubu bulunan bir hemoproteindir. Bu enzimin görevi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i oksijen ve suya parçalamaktır.



Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde katalaz aktivitesi yüksektir (31).

#### 1.2.3.2.1.4. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD)

Pentoz fosfat yolunun oksidatif faz hız kısıtlayıcı enzimidir. Bu yol ATP üretmez fakat yağ asidi ve steroid biyosentezi gibi indirgeyici sentezler için NADPH üretmesi ve nükleik asit biyosentezi için 5 karbonlu üniteleri sağlaması gibi iki önemli görevi vardır. Bu görevlerinden dolayı selüler metabolizma ve oksidatif stres arasında anahtar rol oynamaktadır (28).

### **1.2.3.2.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR)**

Glutasyon redüktaz enzimi, NADPH varlığında GSSG (okside glutasyon)'nin tekrar redükte GSH'a dönüşümünü katalizleyerek antioksidan aktivitenin devamını sağlamaktadır (14).

### **1.2.3.2.2. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar**

#### **1.2.3.2.2.1. C Vitamini (Askorbik Asit)**

Prolin, lizin ve dopamin  $\beta$ -hidroksilaz enzimlerinin kofaktörüdür. Bu amino asitlerin hidroksilasyonunda ve kollajen fibrillerin sentezi için askorbik asit gereklidir. Askorbik asidin bir elektron oksidasyonu sonucu monodehidro askorbil radikali oluşur ve bu sırada reaksiyona girdiği radikali etkisiz hale getirir. Askorbik asidin radikalik formu, glutasyon sistemi tarafından askorbik aside tekrar dönüştürülmektedir (74).

#### **1.2.3.2.2.2. E Vitamini (Tokoferol)**

Mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre kısımlarında E vitamini konsantrasyonu yüksek oranlarda bulunmaktadır. Güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden korumaktadır (37).

#### **1.2.3.2.2.3. A Vitamini ( $\beta$ - Karoten)**

A vitamininin metabolik ön maddesi olan  $\beta$ -Karoten'in antioksidan etkisini, singlet oksijeni baskılama, süperoksit radikalini temizleme, düşük oksijen kısmi basıncında peroksit serbest radikallerin dokulara hapsedilmesinde görev alarak gösterdiği belirtilmiştir (80).

#### **1.2.3.2.2.4. Biluribin**

Bilirubin fizyolojik bir antioksidan olup plazma antioksidan aktivitenin %10 – 30'nu oluşturur. Zincir kırıcı ve süpürücü etkileri vardır (40).

#### **1.2.3.2.2.5. Glutasyon (GSH)**

Glutasyon ( $\gamma$ -glutamilsisteinil glisin), organizmada tiyol grubu içeren, düşük molekül ağırlıklı önemli bir tripeptiddir. Hücre içinde bulunan glutamik asit, sistein ve glisinden sentezlenmektedir (71).

#### **1.2.3.2.2.6. Ürik Asit**

Normal plazma konsantrasyonunda hidroksil, süperoksit, singlet oksijeni ve peroksil radikallerini temizlemektedir. Bakır ( $\text{Cu}^{+2}$ ) ve demir ( $\text{Fe}^{+3}$ ) iyonlarıyla oluşan oksidasyona karşı şelat yapı oluşturarak C vitamininin oksidasyonunu engellemektedir (41).

#### **1.2.3.2.2.7. Melatonin**

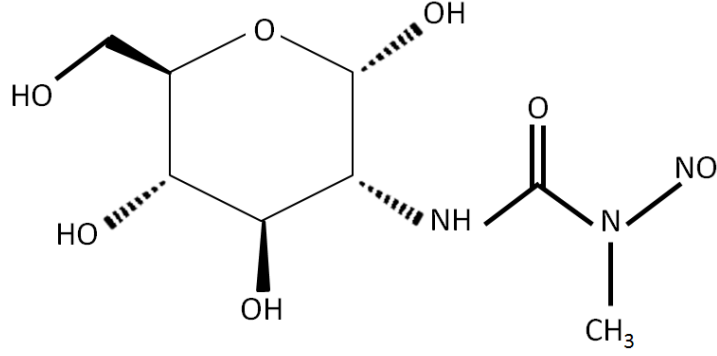
Hem lipofilik hem de hidrofilik özellikte olan melatoninin, kan-beyin bariyerini geçerek tüm doku ve hücreler tarafından kullanılabilir bir durumda olması önemini artırmaktadır. Antioksidan aktivitesi geniş bir dağılım göstermektedir. Yaşlanma ile birlikte üretimi azalmaktadır (1).

#### **1.2.3.2.2.8. Flavonoidler**

Bitkilerde bazı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Genellikle polifenolik bileşikler ve özellikle flavonoidler yüksek antioksidan özelliğine sahiptirler. Bunlar kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer patolojik hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılmaktadır (104).

### 1.2.3.3. STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET

Streptozotosin, deneysel hayvan çalışmalarında, insanlarda oluşan diyabete benzer bir diyabet oluşturmak için kullanılan N-nitroso türevi D-glukozamin yapısındadır. Oksidan maddeler meydana getirip langerhans adacıklarını seçici olarak tahrip ederek diyabeti başlattığı düşünülmektedir (2). Streptozotosin; toprakta bulunan streptomyces achromogenes isimli bir mikroorganizmanın metabolitidir ve ilk kez 1960'da izole edilmiştir. İlk zamanlarda antibiyotik, antitümöral ve karsinolojik özellikleriyle belirlenmiş, 1963 yılında köpek, kedi ve ratlarda diyabetojenik etkili bir madde olarak tanımlanmıştır. Streptozotosinin etken maddesi, 2-deoksi-D-glukozun C-2 pozisyonuna bağlı bir metilnitrozoüre yan zinciri içermektedir (12).



**Şekil 2.** Streptozotosinin Kimyasal formülü (61)



#### 1.2.3.4. *Ganoderma lucidum*

Popüler yenilebilir mantar *Ganoderma lucidum* (Fr) , Basidiomycota mantarlar, Çin, Kore ve Japonya' da yüz yıllar boyunca tıbbi bir ilaç olarak kullanılmıştır. "Ölümsüzlük Mantarı" olarak ta bilinen bu mantar türü Japonca'da Reishi, Çince'de ise Ling Zhi olarak isimlendirilmiştir. Geleneksel olarak, Reishi mantarı Çin'deki Taocu rahipler tarafından merkezli sakinlik sağlamak, meditasyon uygulamalarını geliştirmek, uzun ve sağlıklı bir yaşama ulaşmak için kullanılmıştır. Çin Kraliyeti, imparatorların kıyafetleri üzerinde ki Reishi mantarı figürleri, mantar desenli ipek halılar ve Reishi mantarı heykelleri ile Çin kültüründe bu mantarı ölümsüzleştirmişlerdir. Reishi mantarı aynı zamanda, Japon tıbbında önemli bir polipores olarak kabul edildikten sonra Japon kültüründe ayrı bir öneme sahip olmuştur. "Ölümsüzlük mantarı" , "on bin yıllık mantar" olarak bilinen *Ganoderma lucidum* (Reishi), Çin ve Japonya'nın geleneksel tıbbında, immünomodülatör ve adaptojenik özellikleri ile yüzyıllardır kullanılmaktadır. En kapsamlı Çin tıbbi ürünleri olarak yayınlanan eserde (Ben Cao Gang Mu" 1578 MS) Reishi en saygın bitki olarak 120 süper ot'un (pin Shang) en üstünde kabul edilmiştir. Bu otlar, ömrü uzattığı, yaşlanmayı önlediği ve enerjiyi artırıcı özelliklerinden dolayı, birçok hastalığın tedavisinde ilaç olarak kullanılmaktadır. (44, 63, 86, 97).

Son zamanlarda yapılan araştırmalar; *Ganoderma lucidum*'un antiallerjik, antioksidan, anti-tümöral, antiviral, kardiyotonik ve karaciğer koruyucu özellikleri olduğunu göstermiştir. Bu bitki yüzyıllardır Çin ve diğer Asya ülkelerinde alerji, bronşit, kronik hepatitis, ülser, hipertansiyon, hiperglisemi, yüksek kolesterol, tümöral hastalıklar, immünolojik bozukluklar, yangı ve kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (44, 63, 97).

Ölümsüzlük Mantarı'nın dünyadaki toplam üretimi 8 bin 500 ton/yıl civarındadır. Üretimin 5 bin ton kadarının Çin'de yapıldığı bilinmektedir. Güneydoğu Asya ülkelerinde, Japonya'da ve kısmen de ABD'nin güney eyaletlerinde üretimi yapılan bu mantarın ticari değerinin yıllık toplam 8.5 milyar dolar olduğu düşünülmektedir. Uluslararası piyasada ise gramı 1 dolara satılan, ekonomik değeri oldukça yüksek bir mantar türüdür.

Bugün milyonlarca insan, enerjilerini arttırmak, sindirimi kolaylaştırmak ve iyi bir uyku için her gün Ganoderma'yı kullanmaktadır. Bunun yanı sıra Ganoderma birçok sağlık probleminin tedavisinde ve hastalıkların önlenmesinde de kullanılmaktadır. Ganoderma hala tedavi desteği ve sağlık koruyucu bir ürün olarak tüm dünyada tüketilmektedir (6).

#### 1.2.3.4.1. *Ganoderma lucidum*'un Sınıflandırmadaki Yeri

*Ganoderma lucidum* mantarının bilimsel sınıflandırması Çizelge 1'de gösterilmiştir. *Ganoderma* türlerinin sınıflandırılmaları, nükleotid dizilerinin incelenmesiyle yapılmaktadır. Dünya çapında 250'den fazla *Ganoderma* türü tanımlanmıştır (90). Ama gerek tedavi amaçla yapılan deneylerde gerekse bu bitkiyi tanıtmak için yazılan kaynaklarda Reishiden bahsedildiğinde ilk akıllara gelen *Ganoderma lucidum* türüdür (102).

<b>Alem</b>	Fungi
<b>Filum</b>	Basidiomycota
<b>Sınıf</b>	Homobasidiomycetes
<b>Çeşit</b>	Polyporales
<b>Aile</b>	Ganodermataceae
<b>Cins</b>	<i>Ganoderma</i>
<b>Tür</b>	<i>G. lucidum</i> (Curtis) P. Karst

**Tablo 1.** *Ganoderma lucidum*'un sınıflandırmadaki yeri

#### 1.2.3.4.2. *Ganoderma lucidum*'un Morfolojik Özellikleri

*Ganoderma lucidum* genellikle meşe ve diğer sert ağaçlar üzerinde yetişmektedir. Meyvaları saplı, ikiye ayrılmış ya da böbrek şeklinde ve nadiren küreseldir. Meyvaları kalın, kuru ve gelişirken kenarları sarıdır. Olgunlaşma devresinde kenarları ön yüzde parlak kahverengiye döner. Meyvelerin kenarları genellikle ince ya da kesilmiş yapıda ve belirsizdir. Sapı kalın, siyah ve sonradan morumsu kahverengiye dönen bir görünümündedir. Bu mantarlar kahverengi, böbrek şeklinde ve nemli olduklarında parlak bir yüzeye sahiplerdir. Meyve kısımları geliştiğinde spor

üreten alt tabaka, hymenium, beyaz ve gözeneklidir. Kültür türü *Ganoderma lucidum* ' lar eşeysiz üretilmektedir (46, 47).



**Resim 1:** *Ganoderma lucidum* ' un Doğadaki Görüntüsü

#### **1.2.3.4.3. *Ganoderma lucidum* 'un Kullanım Alanları**

Traditional Chinese Medicine (Geleneksel Çin Tıbbı/ TCM) birçok Asya ülkesinde son 2 bin yıldır uygulanmaktadır. TCM'de besinler, hastalıkların önlenmesi, tedavisi ile sağlıklı yaşam ve sağlığın korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Reishi mantarı uzun zamandır TCM'de kronik bronşit tedavisi için kullanılmaktadır (77).

Doğu geleneğinde tedavi amaçlı kullanılan bazı *Ganoderma* ürünleri bitkisel ilaç formunda, bazıları ise gıda takviyesi şeklindedir. Aslında *Ganoderma lucidum* 'un meyveleri kalın, kuru ve sert bir yapıya sahiptir. Doğrudan yenilebilen mantarlar gibi etli bir yapıya sahip değildir. Bu nedenle de doğrudan yenilebilen mantarlar ile aynı grup içerisinde sınıflandırılmazlar.

Hayvan ve insan deneyleri ile etkinliği ve güvenilirliği test edilmiş etken bir maddeye sahip olan bu geleneksel ilaçlar piyasa satışlarında bu özelliklerinden dolayı ilaç olarak tanımlanmaktadır.

Sadece bir tane aktif bileşik içeren bu geleneksel ilaçlar hayvan ve insanlardaki kapsamlı çalışmaların kullanılması sayesinde etkili ve güvenli bir şekilde test edilmektedirler. *Ganoderma lucidum*, bir maddenin ilaç olarak nitelendirilebilmesi için gerekli olan özellikleri, dolayısıyla da izni sağlayamamakla birlikte Japonya'da 2005 yılından itibaren kanser ve bazı hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır.

*Ganoderma lucidum*, tam anlamıyla ilaç olarak kabul edilmese de 20 yılı aşkın bir süredir yürütülen deneysel çalışmalar ile farmakolojik etkinliği belirlenen *Ganoderma*'nın oldukça önemli bir biyoaktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Şuana kadar *Ganoderma*'nın bildirilen herhangi bir toksik ve yan etkisine rastlanılmamıştır. Keza, *Ganoderma* ilaçtan ziyade bitkisel bir ürün olarak kabul edilmektedir (109).

#### **1.2.3.4.4. *Ganoderma lucidum*'un Kimyasal Yapısı**

Reishi'nin farklı biyolojik aktivitelere sahip olması, yapısında alkaloid, aminoasit, peptid, inorganik element, steroid, yağ ve organik asit gibi farklı kimyasal bileşikleri içermesinden kaynaklanmaktadır. Bu kimyasal bileşikler içerisinde en önemli farmakolojik aktivitelere sahip triterpenler ve polisakkaritlerdir. 150'den fazla triterpen (81) ve 50'den fazla karsinostatik polisakkarit (52) bileşikleri izole edilmiştir (43).

Çalışmalar (43, 44, 96), *Ganoderma lucidum*'un aktif transkripsiyon faktörlerini inhibe ettiğini göstermiştir. Aynı zamanda elemental germanyum'un (Ge) da bu mekanizmayı güçlendirdiği belirtilmiştir.

##### **1.2.3.4.4.1. Triterpenler**

*Ganoderma lucidum*'dan ilk izole edilen triterpen bileşikler ganodermik asit A ve ganodermik asit B'dir (59). *Ganoderma lucidum*'dan 100'den fazla, yüksek oksijenli ve farmakolojik olarak aktif lanostone tipi triterpen izole edilmiş, yapısal benzerliklerine, biyolojik ve tıbbi etkilerine göre ise 10 gruba ayrılmışlardır (80, 96).

Triterpenlerden bazıları ise 20 yıl önce izole edilmiş ve ganoderik asitleri U, V, W, X, ve Y olarak isimlendirilmiştir (97).

Bu bileşikler *Ganoderma*'nın meyve, spor ve misellerinden izole edilmişlerdir. Kimyasal yapıları lanosterolden temel alan triterpenlerin sitotoksik, lipid düşürücü ve karaciğeri koruyucu özellikleri vardır. Bununla birlikte, trombosit agregasyonunu uyarıp, angiotensin konvertin çevirici enzimler ile histamin salgılanmasını baskıladıkları fikride ileri sürülmüş ancak bu mekanizmanın ne şekilde etki ettiği tam olarak açıklanmamıştır (81).

En az 100 farklı alkolde çözünen *Ganoderma* triterpenlerini ganoderik, ganoderenik, lusidenik ve ganolusidik gibi oldukça oksitlenmiş lanostane-türü triterpenoitleri içerdiği saptanmıştır. Bu triterpenoitlerin hipertansiyonu azaltıcı ve allerjik reaksiyonları önleyici özellikleri vardır (18). Bu mantar yetiştirme evresine ve yetiştiği çevreye bağlı olarak birçok farklı tedavi edici özelliklere sahiptir (52, 109).

Farklı biyoaktif özelliklere sahip olan triterpenler farklı biyolojik aktivite göstermektedirler (113).

Ayrıca, neovaskülarizasyonu uyarmaktan sorumlu olan triterpenoid fraksiyonunun anjiyogenez inhibisyonundan sorumlu olan ganoderik asit F olduğu tespit edilmiştir (97).

*Ganoderma lucidum* ve *Ganoderma tsugae* lipid peroksidasyon inhibisyonu üzerindeki antioksidan aktiviteleri yönünden de karşılaştırılmıştır. Antibakteriyel etkileri bulunan *Ganoderma lucidum* triterpenlerinin, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Corynebacterium diphteria*, *Eshericia coli*, *Klebsiella oxytuca*, *Phylococcus aeteus*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus pyogenes*, vb. toplam 15 bakteriye karşı etkili olduğu bildirilmiştir (88).

#### **1.2.3.4.4.2. Polisakkaritler**

Polisakkaritler, monosakkarit ünitelerinden oluşan biyolojik polimerlerdir. Monomerik birimleri aynı olanlara homo-polisakkaritler, farklı ünitelerden oluşanlara ise hetero-polisakkaritler denir. Bazen modifiye olmuş monosakkaritlerde monomerik birimler olabilir.

Fizikokimyasal özellikleri bakımından geniş bir dağılıma sahip olan biyolojik makro moleküllerin yapısal olarak farklı bir sınıfını oluşturmaktadırlar. Polisakkaritler, oluştukları temel monosakkarit bileşenlerine, aralarındaki bağlara ve bağların anomerik konfigürasyonuna, halka büyüklüğüne (furanoz veya piranoz), sıralanmalarına, mutlak konfigürasyonu (D- veya L-) ve herhangi bir süstitüentün mevcudiyetine göre sınıflandırılmaktadırlar. Zincir konformasyonu gibi tam yapısal özellikler ve molekül dışı etkileşimler polisakkaritlerin fizikokimyasal özelliklerini etkileyebilmektedir.

Bir polisakkaritte atomların en kararlı düzenlemesi hem molekül içi hem de molekül dışı güçlere bağlıdır. Düzenli olarak sıralanmış polisakkaritlerde, çoğunlukla, glukozidik bağlar etrafında şeker birimlerinin serbest dönme hareketinden doğan etkin sterik engellerden dolayı bulunabilecekleri konformasyon sayıları sınırlıdır. Bu konformasyonlar ve bağlanma türleri arasında da karşılıklı sıkı bir etkileşim vardır. Selüloz ve ksilan (xylan) gibi yapısal nişasta olmayan polisakkaritler uzunlamasına konformasyonu destekleyen yönlendirmeleri tercih ederler. Amilopektin gibi depo polisakkaritler ise geniş helikal konformasyonlarda bulunma eğilimindedir.

Fazla sayıda molekül içi hidrojen bağlarına sahip olan hidrofobik karakterdeki polisakkaritler su ile daha az etkileşime girerler. Moleküldeki diğer hidroksil gruplarıyla etkileşim göstermeyen karbonhidratlar 2 su molekülünün her biri ile etkileşen hidroksil (alkol) gruplarını içerirler. Aynı ya da komşu molekülün hidroksil grupları ile etkileşim polisakkaritlerin hidrasyonunu azaltır. Sulu çözeltideki etkileşimler, moleküller arası hidrojen bağlarını bozarak tercih edilen konformasyonu belirleyebilmektedir. Ayrıca moleküllerin su ile etkileşim düzeyi prosesin sıcaklık ve basıncı, dolayısıyla su moleküllerinin polaritesi, hidronyum ve hidroksil iyonlarının derişimi gibi etkenler polisakkarit molekülü ile hidrojen bağı yapabilme etkinliğini belirleyerek, mevcut proses koşullarında polisakkarit moleküllerinin yeni konformasyonlarının oluşmasına neden olmaktadır (55).

Polisakkaritlerin hipoglisemik etkileri de bulunmaktadır (77, 113). Yapılan bir çalışmada (113), *Ganoderma lucidum*'un sıvı misel kültürlerinin yapısındaki glikoproteinler sayesinde (%28,8 karbohidrat, %17,2 protein) farelerin dayanıklı yüzme kapasitelerinde önemli bir artış sağladığı tespit edilmiştir. Ancak, *Ganoderma*

*lucidum*'un meyveleri ve diğer misellerinin herhangi bir iyileştirici etkileri belirlenememiştir (113). Keza, *Ganoderma lucidum*'un meyvelerinin, sıvı kültürlerinin ve misellerinin farklı fonksiyonları vardır. Polisakkaritlerin antitümoral etkileri bağışıklık sistemini güçlendirmelerinden kaynaklanmaktadır (109, 118). *Ganoderma lucidum* bileşiklerinin bu anti-tümöral etkilerini M-CSF ve TNF- $\alpha$  aktivasyonunu gerçekleştirerek yaptıkları düşünülmektedir. İmmun sistemin makrofaj ve lenfosit gibi çok sayıda hücre tiplerinden oluşan kompleks bir reaksiyon zinciri olduğu unutulmamalıdır. Sitotoksik T lenfositleri ve doğal katil hücreler; tümörlere, virüslere, parazitlere ve diğer zararlılara karşı önemli savunma mekanizması gösterirler (81).

*Ganoderma lucidum*'dan izole edilen polisakkaritlerin anti-tümöral etkilerini tespit etmek amacıyla farelere subkutan olarak sarkoma 180 asitleri verilmiş ve sonuç olarak kanser hücrelerinin yayılmasının ve kontrolsüz üremenin azaldığı ifade edilmiştir (97).

*Ganoderma lucidum* polisakkaritleri biyoaktivitelerini  $\beta$ -D-glukan olarak gösterirken, anti-tümöral aktivitelerini (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glukan şeklinde göstermektedirler.

$\beta$ -D-glukan biyoaktivitesine sahip *Ganoderma lucidum* polisakkaritleri tamamlayıcı reseptör tip 3 (CR3 reseptör) aracı olarak tavsiye edilmiştir. Ayrıca, *Ganoderma lucidum*'dan (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D glukan polisakkariti ile *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma japonicum* ve *Ganoderma tsugae*'dan da başka polisakkaritler izole edilmiştir. Bu sayede, *Ganoderma* türlerinden anti-tümör aktivitesi olan glukoronoglukan, mannogalaktoglukan, arabinoglukan ve glukogalaktan saptanmıştır. Ancak, *Ganoderma* türleri arasında en çok kullanılan mantar ve çalışılan tür *Ganoderma lucidum* olmuştur.

*Ganoderma lucidum*'un taze meyve gövdesinden izole edilen polisakkaritlerin interlökin IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , ve insan monosit makrofajlarında (IL-6) ve T-lenfositlerinde ki interferon (IFN)- $\gamma$  üretimini uyardıkları tespit edilmiştir. Keza, bu PS-G'den indüklenen sitokinlerin lösemik hücrelerinin yayılmasını engellediği belirtilmiştir. Bu polisakkaritlerin, fosfatidilinositol yolunun aktivasyonunu

sağlayarak faz-aracılı apoptozisi oluşturmakla birlikte insan nötrofillerinde anti-tümöral etki göstererek bağışıklığı güçlendirdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte bu polisakkaritin mitojenle-aktive protein kinaz (MAPK) ve protein kinaz C (PKC) uyararak nötrofillerin fagositik aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. Son olarak da *Ganoderma lucidum*'dan izole edilen polisakkaritler glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesini indükleyerek bir “chemopreventive” olarak etki gösterdikleri bildirilmiştir (97).

#### **1.2.3.4.4.3. Sakkarit İçeren Fonksiyonlar**

*Ganoderma lucidum*'un aminopolisakkarit fraksiyonunun (G009), kanser fizyopatolojisinde önemli rol oynayan reaktif oksijen türlerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Keza, G009, lipit peroksidasyonunu inhibe ederek hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonlarını inaktif eder. Bununla birlikte G009 oksidatif DNA hasarını azaltarak kemopreventif etki gösterir. *Ganoderma lucidum*'un suda çözünen formundan elde edilen bir fukoz içeren (A fucose-containing) glikoprotein fraksiyonunun, sitokin ekspresyonu ile dalak hücrelerinin proliferasyonunu uyardığı belirlenmiştir. Polisakkaritlerin biyoaktif fraksiyon çoğunluğu D-glukoz, D-mannoz ve D-galaktoz içermekle birlikte fukoz içeren glikopeptid fraksiyonunda bileşeni de tespit edilmiştir (97).

#### **1.2.3.4.4.4. Steroidler**

*Ganoderma lucidum*'un kolesterol ve ergosterol olmak üzere iki çeşit steroidi elde edilmiştir. *Ganoderma lucidum*'da izole edilen 20 farklı steroidin anti-aterosklerotik ve yağ yakıcı özellikleri de belirlenmiştir (52, 66).

*Ganoderma lucidum*'un 800 -2000 ppm düzeyinde bulunan organik germanyumunun germanyum bakımından çok zengin bir bitki olarak bilinen Ginsengteki germanyumdan 4–5 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Germanyumun inorganik formu zararlı iken organik formlarının çok faydalı olduğu bildirilmiştir. Çok güçlü bir antioksidan olan germanyumun bağışıklık sistemini güçlendirici, toksin atıcı, yaşlanmayı geciktirici özelliklerinin yanı sıra adaptojen özelliği sayesinde kanın pH'sını dengeleme, potasyum, kalsiyum, trigliserit, bilirubin ve ürik asit seviyelerini normalleştirme, tiroid bezinin çalışmasını düzenleme ve damar tıkanıklığını



engelleme gibi birçok faydası vardır. Bunun yanı sıra HIV virüsünün çoğalmasını engellediği de ifade edilmektedir (82).

#### **1.2.3.4.5. *Ganoderma lucidum* Ürünleri**

Hemen hemen her yerde bulunan *Ganoderma lucidum* ürünlerinin içerikleri aşağıda belirtildiği gibidir:

1. Fermentasyon tankında, sıvı kültürde geliştirildikten sonra kurutularak toz haline getirilen miseller,
2. Toz halindeki *Ganoderma lucidum* meyvelerinin kapsül ya da tablet formuna getirilenleri,
3. Yarı-katı besi ortamına inoküle edilen misel ve primordiyumları,
4. Fermentasyon tankında sıvı kültürde geliştirilen miselden hazırlanan sıcak su ekstraktları,
5. Belirli oranlarda sıcak su ya da alkol ile elde edilen ekstraktlarının birleştirilmesi ile elde edilen meyvaları,
6. Medikal etkisi hala tartışılan ancak son yıllarda önemli derecede ilerleme gösteren saf spor kapsülleri.

Net bilgi olmamakla birlikte mekanik metotlarla sporlarında değişiklik yapılabildiği bildirilmiştir. Yapılan bir araştırmaya göre; çimlenmemiş sporlar çimlenmişlere oranla daha fazla yağ ve şeker içerirken, çimlenmiş sporların çimlenmemişlere oranla daha fazla protein ve polisakkarit içerdiği belirtilmiştir. Yağ oranı yüksek olan çimlenmiş spordaki yağın kolayca oksitlenerek hoş olmayan bir koku yaydığı bunun da ürün kalitesini ve ürünün saklama süresini kötü etkilediği aşikardır. Bununla birlikte bu spor ekstraktlarının etkili bir karaciğer koruyucu olduğunda bildirilmiştir. Ayrıca, klinikte atrofik kas bükülmelerinin tedavisinde de kullanılmaktadır (63).

#### **1.2.3.4.6. *Ganoderma lucidum*'un İmmunoregülatör Aktivitesi**

*Ganoderma lucidum*'un, farmakolojik olarak suda çözünebilir polisakkaritlerinin birçoğunun anti-tümöral ve bağışıklığı uyarıcı (immunostimulandır) etkilere sahip olduğu bilinmektedir.

Bao ve ark. (2001), *Ganoderma lucidum* sporlarından izole edilen (1→3)- $\alpha$ -D-glukan ve türevlerinin, fizikokimyasal özellikleri ve bunların immunolojik aktivitelerini araştırmışlar, (1→3)- $\alpha$ -D-glukanın iyonik ve yüksüz altı farklı türevini (aminopropillen, hidroksetillen, sülfatlan, karboksimetillen, karboksimetillen ve sülfatlan çift ve benzilamitlenen-karboksimetillenmiş türevleri) sentezlemişlerdir (8).

Sentezlenen yapıların substitüsyon derecesindeki değişim, türevlerin yapısal ve fizikokimyasal özellikleri ile çeşitli kimyasal ve görüntüsel analizler aracılığıyla belirlenmiştir. Ayrıca bu türevlerin lenfosit artışı ve antikor üretimi üzerindeki etkileri ise invitro ve invivo çalışmalarla gösterilmiştir.

Bütün örneklerin yapısal ve fizikokimyasal özellikleri, lenfosit çoğaltma aktiviteleri ile fonksiyonel grup ve substitüsyon derecesindeki değişiklikleri belirlenmiştir. İmmunolojik çalışmalarda, bazı modifiye edilmiş türevlerin, lenfosit çoğaltımı ve antikor üretimi üzerinde güçlü uyarıcı etkilere sahip olduğunu ve bununla birlikte, substitüsyon derecesi düşük tutulan (SD<0.28) karboksimetil grupların girişinin immüno-uyarıcı aktivitenin gelişimi üzerinde en iyi etkiye sahip olduğunu göstermiştir (8).

*Ganoderma lucidum* bileşiklerinin anti-tümöral aktivitelerini M-CSF ve TNF- $\alpha$  düzeylerini arttırarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir. İmmun sistemin makrofaj ve lenfosit gibi çok sayıda hücre tiplerinden oluşan kompleks bir yapıdan oluştuğu unutulmamalıdır. Bunlardan sitotoksik T lenfositleri ve doğal katil hücreler; tümörlere, virüslere, parazitlere ve diğer zararlı etkenlere karşı önemli savunma mekanizması gösterirler (81).

Fungal immünomodülatör protein grubunu çeşitli mantar türlerinin oluşturduğu bilinmektedir. Bunlardan LZ-8 proteinini içeren *Ganoderma lucidum* (53); FIP-fve proteinini içeren *Flammulina velutipes* (56); FIP-vvo proteinini içeren *Volvariella volvacea*; (42) ve FIPgts proteinini içeren *Ganoderma tsugae* bu immünomodülatör mantarlar arasında bulunmaktadır. Bu protein grubunun sınıflandırılması, aminoasit sıralarındaki benzerliklerine ve bileşenler üzerindeki immunolojik etkilerine göre yapılmaktadır (56). *Ganoderma lucidum*'un miselinden izole edilen ve saflaştırılan

LZ-8 en yüksek immüno-modülatör etkisini 3,13mg/ml konsantrasyonda farelerin dalak hücrelerinde göstermiştir (53). Buna ek olarak fungal immüno-modülatör proteinlerin obez olmayan dişi genç diyabetik farelerde oto immün diyabeti baskılayabildiği de gösterilmiştir (54).

*Ganoderma lucidum* immüno-modülatör etkisini  $\beta$  hücreleri, T hücreleri, makrofajlar ve doğal katil hücrelerin aktivitelerini arttırarak gösterdiği belirtilmiştir (7).

*Ganoderma lucidum*'un güçlü terapik etkisinin özellikle biyoaktif bileşenleri olan triterpenoidler ve polisakkaritlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra elementel germanyum'un da bu mekanizmayı güçlendirdiği bildirilmiştir. Bu bileşenlerin insan metabolizmasındaki etki mekanizması tam olarak anlaşılacakla birlikte triterpenoidlerin antioksidant etkileri ile polisakkaritlerin ise immüno-lojik sistemi kuvvetlendirici etkileri ile tedaviye katkı sağladığı düşünülmektedir (44).

Bao ve ark, çalışmalarında (9, 10), *Ganoderma lucidum*'un immüno-modülatör etkilerinin yanı sıra detoksif etkilerinde olduğunu da ifade etmişlerdir. Bu detoksif etkisi sayesinde, karaciğer kanserinde hücre rejenerasyonuna yardım ettiği bildirilmiştir. Ayrıca *Ganoderma lucidum*'un immüno-modülatör ve hormon düzenleyici etkileri sayesinde organizmayı serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruduğu belirtilmiştir.

*Ganoderma lucidum*'un meyve ekstraktlarının jelfiltrasyon kromatografisi ile saflaştırılması sonucu elde edilen polisakkaritlerden birisi heteroglukan (PL-1 ve PL-4) diğeri ise glukan (PL-3) olarak tanımlanmıştır. PL-1, PL-3 ve PL-4'ün molekül kütleleri sırasıyla,  $8,3 \times 10^3$ ;  $6,3 \times 10^4$  ve  $2,0 \times 10^5$  olarak belirlenmiştir. Asit hidrolizi, asetilasyon, periyodat oksidasyonu,  $^1H$ ,  $^{13}C$  ve  $2D$  NMR spektroskopisi, ESI-MS deneyleri ve GC-MS analizleri ile bu polisakkaritlerin yapısal özellikleri aydınlatılmıştır. Bu analiz sonuçlarına göre, PL-1'in 1,4- $\alpha$ -D-glukopiranozil zincirine sahip olduğu bildirilmiştir. Yan zincirdeki 1,6- $\beta$ -D-galaktopiranozil yapısı O-6'da glukoz, O-2'den dallanmış galaktoz kalıntısı terminal glukoz, 1,6-glukozil kalıntısı ve terminal ramnoz bir yapıya sahiptir. PL-3'ün 1,6-glukozil kalıntısının ana zincire O-6'dan bağlandığı, 1,3- $\beta$ -D glukopiranozil ana zincirinde dallanmış bir glukan olduğu, PL-4'ün ise, 1,3-, 1,4-, 1,6- $\beta$ -D-glukopiranozil ve 1,6- $\beta$ -D-

mannopiranozil içerdiği bildirilmiştir. Bu polisakkaritlerin farklı oranlarda hazırlanan karışımlarının T- ve B lenfosit üretimini arttırdığı, özellikle de yöntemleri ile PL-1'in farelerde immünomodülatör aktivite gösterdiği ifade edilmiştir.

Kromatografik ve elektroforetik yöntemler ile farklı Reishi türlerinden biyoaktif proteinler izole edilmiştir. Örneğin, *Ganoderma lucidum* misellerinden LZ-8' in, jel filtrasyonu (Sephadex G-75 kolonu) ve iyon değiştirme (DEAE-Sephadex A-25 kolonu) yöntemleri ile immünomodülatör proteini izole edilmiştir (53).

Nutrikötikaller olarak bilinen mantar türlerinden ekstrakte edilen *Ganoderma*'nın yüksek dozlarda dahi toksisitesi düşüktür. *Ganoderma* her ne kadar terapötik etkiye sahip olsa da tedavi edici ilaçlarla kıyaslanmamalıdır. Bitkisel tarzdaki nutrikötikallerin, ilaç olarak kullanılan farmakötiklerle birlikte tüketilmemesi gerekir. Tedavi edici özelliklere sahip olan farmakötikler, çoğunlukla hastalıkların iyileştirilmesinde kullanılmaktadır. *Ganoderma* tek bir kimyasal bileşikten ziyade, çok sayıda kompleks bileşiklerin kombinasyonundan oluşan bir yapıya sahiptir. Bu nedenle de *Ganoderma*'nın ilaç olarak değil de bitkisel bir ürün olarak düşünülmesi daha uygun olur. *Ganoderma*'nın güçlü immünomodülatör etkisinin bu kompleks yapıdan kaynaklandığı sanılmaktadır (18).

#### **1.2.3.4.7. *Ganoderma lucidum* ile Diyabet İlişkisi**

*Ganoderma lucidum*'un diyabette tedavi edici ve koruyucu etkileri ile ilgili çalışmalar yapılmakla birlikte bunların etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır.

*Ganoderma lucidum*'un gerek kurutulmuş meyva gövdesinden elde edilen ekstraktları ile gerekse belirli bir bileşenini ayırtmak suretiyle elde edilen ekstraktlarını diyabet üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığını araştırmak amacıyla birçok deneysel çalışma yapılmıştır(45, 78, 115). Yapılan bu çalışmalar sonucunda deneysel olarak diyabetes mellitus oluşturulan hayvanlarda *Ganoderma lucidum* ve bileşenlerinin kan glukoz seviyesini önemli bir oranda azalttığı belirtilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin pankreasın  $\beta$  hücrelerinin tahrip olmasını önleyerek insülin salgılanmasını uyardığı ifade edilmiştir (62). Ayrıca yapılan başka bir çalışmada ise *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin glukozun ince bağırsaklardan emilimini azaltarak ya da geciktirerek kan glukoz seviyesinin yükselmesini engelleyebileceği ileri sürülmüştür (116). Başka bir çalışma ise *Ganoderma lucidum*'un su ile yapılan ekstraksiyonlarının deneysel olarak oluşturulan diyabetes mellitus ta hepatositlerde ATP konsantrasyonunu ve glikoneogenesisinden sorumlu bir enzim olan Piruvat Karboksilaz ve Fosfoenolpiruvat Karboksikinaz'ın (PEPCK) moleküler düzeyde üretilmesini baskılayıp dolaylı olarak glukoz üretimini azalttığı belirtilmiştir (62).

Diyabette kullanılan ilaçların yan etkileri *Ganoderma*'nın kullanılması ile azaltılabilir. Diyabet hastalarının birçok ciddi hastalıklara yakalanma korkuları vardır. Bu hastalıklar arasında ateroskleroz, immun sistem zayıflığı, hipertansiyon, retinopati, nöropati, nefropati sayılabilir. *Ganoderma lucidum*'da bulunan kimyasal bileşiklerin en önemli özellikleri diyabet hastalarının şikayetlerini hafifletme ve bu hastalıklardan korumaktır.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Materyal

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK) Başkanlığı'nın 2011-40 sayılı izni ile yapıldı. Çalışmamızda her grupta 10 adet (275-345 g ağırlığında) olmak üzere toplam 60 adet 4-5 aylık erkek *Wistar Albino* cinsi rat kullanıldı. Hayvanlar  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklıkta, % 60-65 düzeyinde nemin ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsünün sağlandığı koşullarda, her gün altları temizlenen kafeslerde ve her kafeste 5 hayvan olacak şekilde ayrılarak *ad-libitum* olarak beslendi. Araştırmada kullanılan rasyonun bileşimi Tablo 1'de verilmiştir. Yemler, özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Uygulamalara 1 haftalık adaptasyon süresinden sonra başlandı ve uygulamalar her gün 17:00 ile 18:00 saatleri arasında yapıldı. Gruplar aşağıdaki gibi oluşturuldu.

1. **Kontrol Grubu (n=10):** Hayvanlar *ad-libitum* olarak beslendi. Bu gruptaki hayvanlara diğer gruplarla aynı standardı oluşturabilmek için çalışma süresince oral gavaj ile serum fizyolojik uygulaması yapıldı.
2. **Ganoderma lucidum Kontrol Grubu (n=10):** Streptozotosin uygulaması yapılmadan *ad-libitum* olarak beslendi ve çalışma süresince oral gavaj ile 180mg/kg *Ganoderma lucidum* uygulaması yapıldı. *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin yüksek dozlarında daha etkili bir antioksidan aktivite gösterdiği düşünüldüğünden dolayı bu dozda uygulama yapılmıştır.
3. **Diyabetik Kontrol Grubu (n=10):** 50 mg/kg Streptozotosin (STZ) (50 ml sitrik asit + 40 ml disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisinde (pH:4.5) çözüldü) Intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Bu gruptaki hayvanlara diğer gruplarla aynı standardı sağlamak için çalışma süresince oral gavaj ile serum fizyolojik verildi.

STZ uygulamasından üç gün sonra 8 saat süresince aç bırakılan ratların kuyruk veninden alınan kan ile açlık kan şekeri glukometre aracılığı ile ölçüldü ve 250 mg/dL düzeyinde açlık kan şekeri içeren hayvanlar Tip I diyabetli olarak kabul edildi.

- 4. Diyabet + 60 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakariti verilen Grup (n=10):** 50 mg/kg i.p. olarak STZ uygulaması sonucu diyabet oluşturulmuş ratlara 21 gün boyunca oral yolla 15%'lik DMSO da çözülmüş 60 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakariti verildi.
- 5. Diyabet + 120 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakariti verilen Grup (n=10):** 50 mg/kg i.p. olarak STZ uygulaması sonucu diyabet oluşturulmuş ratlara 21 ün boyunca oral yolla 15%'lik DMSO da çözdürülmüş 120 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakariti verildi.
- 6. Diyabet + 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakariti verilen Grup (n=10):** 50 mg/kg i.p. olarak STZ uygulaması sonucu diyabet oluşturulmuş ratlara 21 gün boyunca oral yolla 15%'lik DMSO da çözdürülmüş 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakariti verildi.

**Tablo 2.** Deney hayvanlarına Verilen Rasyonun Bileşimi

İÇERİK	%
Kuru madde	88
Ham protein	23
Ham selüloz	5
Ham kül	8
HCl'de çözülmüş kül	1
NaCl	1
Kalsiyum	1-1,3
Sodyum	0.5-0.6
Fosfor	0.9
Lizin	1.35
Metiyonin	0.45
Sistin	0.35
Vitamin A	15.000 IU/kg
Vitamin D <sub>3</sub>	3.300 IU/kg
Vitamin E	40 mg/kg
Vitamin B <sub>2</sub>	5 mg/kg
Vitamin B <sub>12</sub>	20 mcg/kg
Vitamin K <sub>3</sub>	5 mg/kg
Metabolik enerji	3.100 Kcal/kg

### **2.1.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

Deneysel aşamanın sonunda 0,4 ml/kg pentobarbital sodyum ile anestezi altına alınan hayvanlardan kan örnekleri intrakardiyak olarak alındı. Kan örneklerinin bir kısmı serum elde etmek için jelli tüplere, kalan kısmı ise plazmalarının çıkarılması için heparinli tüplere alındı. Jelli tüplere alınan kan örnekleri hiç bekletilmeden soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmek suretiyle serum örnekleri çıkarıldı. Yine heparinli tüplere alınan kan örnekleri de +4 °C'de 3000 rpm'de, 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Hazırlanan serum ve plazma örnekleri analizlere kadar -20 °C'deki derin dondurucuda muhafaza edildi.

### **2.1.2. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

Kan örneklerinin alınmasını takiben; karaciğer ve pankreas dokuları alındı. Alınan pankreas dokularının tamamı ile karaciğer dokularının bir kısmı histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Kalan doku örnekleri ise laktatlı ringer solüsyonu ile yıkandıktan sonra polietilen poşetlere sarılıp etiketlendi ve analizlere kadar -20 °C'deki derin dondurucuda saklandı.

Analizlerin hemen öncesinde analizlerde kullanılan kitlerin prosedürüne uygun şekilde karaciğer doku örneklerinden bir miktar tartılarak üzerine ağırlığının 9 katı fosfat tampon çözeltisi ilave edilerek (1/10 oranında) homojenizatör yardımı ile homojenize edildi. Daha sonra homojenize edilen doku örneklerinden santrifüj yardımıyla ayrılan homojenatlar polietilen tüplere alındı.

### **2.1.3. Histopatolojik İncelemeler**

Karaciğer ve pankreas dokuları tespit işleminden sonra rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Histopatolojik incelemeler için parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında alınan kesitler hematoxilen ve eozin ile boyanarak mikroskopik olarak incelendi.



## **2.2. Metod**

### **2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler**

### **2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

1. Streptozotosin (Sigma)
2. Pentobarbital sodyum (Sigma)
3. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma)
4. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Sigma)
5. Sodyum sitrat (Merck)
6. Serum fizyolojik
7. Etanol % 96 ( Silcom-pa)
8. Dietil Ether (Merck)
9. Aseton ( Merck)
10. α-Naftanol (sigma)
11. Sülfirik Asit ( Merck)
12. Etil Alkol (Merck)
13. İyot ( Sigma)
14. DMSO
15. Hematoksilen & Eosin boya

### **2.2.3. Kullanılan Cihazlar**

1. Spektrofotometre (Spectra Max)
2. Homojenizatör (Wigen Hauser)
3. Otoanalizör (Architect c16000)
4. Hassas Terazı (Shimadzu)
5. Deiyonize su cihazı (Nüve)
6. Soğutmalı santrifüj (Hettich)
7. Derin dondurucu (Beko)
8. Buzdolabı (Profilo)
9. Analitik terazı (Precisa)
10. pH metre (Thermo Orion)
11. Etüv (Nüve)

12. Vorteks (Heidolph)
13. Dispenser (Brand)
14. Ayarlanabilir otomatik pipetler (Mikrolit, Brand, Eppendorf, Gilson) (1, 10, 20, 100, 1000 µL)
15. Glikometre (Yasee)
16. Evaporatör (Heidolph- Heizbad HB digit)
17. Çalkalamalı Su Banyosu (Termal Laboratuvar Aletleri)

#### 2.2.4. Kullanılan Kitler

1. Total oksidan kiti (Rel-Assay-Gaziantep/Türkiye)
2. Total antioksidan kiti (Rel-Assay- Gaziantep/Türkiye)
3. Total Kolesterol, HDL-Kolesterol ve Trigliserit Test Kitleri (Abbot Diagnostic)

#### 2.2.5. Kullanılan Diğer Malzemeler

1. *Ganoderma lucidum* (Agroma Mantar Yetiştiriciliği Denizli/Türkiye)
2. Rat gavajı
3. Steril enjektör (5, 10 ml) (Hayat)
4. Steril insülin enjektörü (1 ml) (Hayat)
5. EDTA'lı kan tüpü (Venoject)
6. Jelli tüp (Vacutainer)
7. Eppendorf tüp (1,5, 2 ml) (Eppendorf)
8. Otomatik pipet uçları (10, 100 ve 1000 µl) (Isolab)
9. Dispenser uçları (0,1, 0,5, 1 ve 5 ml) (Eppendorf)
10. 96 kuyucuklu plate (Brand)

#### 2.2.6. Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

**2.2.6.1. Sodyum sitrat çözeltisi:** 0,294 g sodyum sitrat dihidrat ( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O = 294,1$  g/mol) alınarak deiyonize su ile hacim 100 ml'ye tamamlandı ve 1 Normal HCl ile pH'sı 4.5'a ayarlandı.

**2.2.6.2. Streptozotosin çözeltisi:** Hazırlanan sodyum sitrat tamponundan 21 mg/1 ml olacak şekilde alınarak içerisinde STZ çözdürüldü. STZ çözeltisi ışık altında bozulabileceği ve ısıdan etkilenebileceği için hazırlandığı tüpün üzeri alüminyum

folyo ile sarılıp enjeksiyon süresince içi buz dolu beher içinde muhafaza edildi ve taze bir şekilde hayvanlara uygulandı. Diyabet oluşturulacak hayvanlara, 1 ml'lik insülin enjektörü ile hayvanların ağırlıklarına göre kg'a 50 mg olacak şekilde i.p. olarak tek doz şeklinde enjekte edildi. Kontrol grubu hayvanlara ise yalnızca sodyum sitrat çözeltisi enjekte edildi.

**2.2.6.3. Fosfat Tampon Çözeltisi:** 14.126 g Disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$   $M_A=141.96$  g/mol) ile 4.535 g potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $M_A=136.09$  g/mol) terazide tartıldı. Tartılan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ayrı ayrı 500'er ml distile su ile çözdürülerek hazırlandı. Daha sonra bu iki çözelti birbirine eşit oranda karıştırılmak ve pH'sı 6.8'e ayarlanmak suretiyle fosfat tamponu elde edildi.

**2.2.6.4. *Ganoderma lucidum* Çözeltisi:** Belirlenen gruplara verilecek olan *Ganoderma lucidum* polisakkaritleri % 15'lik DMSO içerisinde çözülmek ve günlük hazırlanmak suretiyle hayvanlara oral gavaj yoluyla verildi.

**2.2.7. *Ganoderma lucidum* Ekstraktının Hazırlanması:** *Ganoderma lucidum* mantarları kurutulmuş halde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından 5996 sayılı gıda ve yem kanununa göre TR-20-K-0000062 kayıt numarasıyla 29.12.2011 tarihinde üretim izni verilmiş olan Agroma Mantar Yetiştiriciliği (Denizli/Türkiye)'nden temin edilmiştir. Kurutulmuş *Ganoderma lucidum* meyve gövdeleri (6 kg), öğütülüp 120 L sıcak suda çalkalamalı su banyosunda  $60^\circ\text{C}$  de 14 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda filtre kağıdı ile süzdürüldü. Filtrasyondan sonra sonuç hacmi 60 L olarak belirlendi. Bu konsantrasyona 90 L etanol ilave edilerek polisakkaritler tespit edildi. Bu çözelti 4 saat boyunca  $+4^\circ\text{C}$ ' de bekletildi. Daha sonra 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek yüksek ağırlıklı moleküllerin çöktürülmesi sağlandı. Daha sonra süpernatant kısmı alınarak 1/3 (v/v, solüsyon/etanol) oranında etanol ilave edilerek  $+4^\circ\text{C}$ ' de 4 saat bekletildi. Tekrardan aynı şartlarda santrifüj işlemi yapılarak bu sefer sıvı kısım uzaklaştırıldı. Kalan katı kısım, sırasıyla etanol, aseton ve dietil eter ile yıkanmasını takiben evaporatör yardımıyla, yıkamada kullanılan kimyasal maddeler buharlaştırıldı. Sonuç olarak, kahverengimsi toz halinde *Ganoderma lucidum* polisakkaritleri elde edildi (85).

**2.2.7.1. *Ganoderma lucidum* Polisakkaritlerinin Tayini:** Elde edilen ekstraktta polisakkarit varlığının belirlenmesi için Molisch deneyi ve polisakkaritlerin hidroliz deneyi belirtildiği şekilde yapıldı. Yapılan bu testler pozitif sonuç verdi.

#### **2.2.7.1.1. Molisch Deneyi**

**Prensip:** Yoğun sülfirik asit glukozidik bağları hidrolize ederek monosakkarit birimlerini oluşturur. Bunlarda yapılarından H<sub>2</sub>O moleküllerini kaybederek furfural ve türevlerini verirler. Oluşan bu ürün sülfonlanmış  $\alpha$ -Naftol ile birleşerek menekşe renkli kompleksleri şekillendirir. Bu reaksiyon yoğun sülfirik asitle furfural veren karbonhidrat ve diğer organik bileşiklerin varlığını tayinde genel bir tanıma reaksiyonudur.

#### **Ayıraçlar:**

1. Yoğun sülfirik asit
2.  $\alpha$ -Naftolun % 5' lik etanolde taze hazırlanmış solüsyonu (Molisch ayıracı)
3. Glukoz çözeltisi

**Yapılışı:** 2 ml glukoz çözeltisi üzerine birkaç damla Molisch ayıracı koyularak karıştırıldı. Tüp eğik tutularak 1-2 ml sülfirik asit dikkatle tabak yaptırıldı. Tüpteki sıvı ile temas yüzeyinde menekşe veya kırmızı renk görülmesi ortamda karbonhidrat olduğunu gösterdi (76).

#### **2.2.7.1.2. Polisakkaritlerin Hidrolizi Deneyi**

**Prensip:** Polisakkaritler sadece bir adet redükleyici uca sahiptir. Yapısındaki diğer rezidülerin ise redükleyici özelliği yoktur. Asit ile hidrolize edildiği zaman yapılarını oluşturan monosakkaritlere ayrıştırılır ve oluşan bu ara yapılar deneysel olarak gösterilmiş olur.

#### **Ayıraçlar:**

1. *Ganoderma lucidum* ekstraktı
2. Yoğun HCl
3. 5 N NaOH
4. İyot solüsyonu

5. Fehling A
6. Fehling B
7. Benedict ayracı

**Yapılışı:** Yaklaşık 20 ml *Ganoderma lucidum* ekstraktı solüsyonu alınıp, kaynatıldı. Üzerine 20 damla yoğun HCl ilave edildi. Kaynatmaya yavaşça devam edildi. Her dakikada bir 0.5 ml nişasta solüsyonu alınıp iyot ile muamele edildi. Ayrıca yine her dakikanın sonunda alınacak 3 damla nişasta solüsyonu ile Benedict veya Fehling deneyleri yapıldı. İyot ile muamele edilip renk elde edilemeye kadar ve Benedict veya Fehling testi pozitif sonuç verinceye kadar işleme devam edildi. Bu yaklaşık 6-10 dakikalık bir süre tuttu. İyot ile muamele edilen safhalarda amilodekstrin, eritrodekstrin ve akrodekstrin oluşumlarının mutlaka görülmesi gerekir. Hidrolizin tamamlandığı ise yapılacak Fehling ve Benedict deneyleri ile onaylandı. Hidroliz neticesinde oluşacak serbest monosakaritler bu testlerde pozitif sonuç verdi (76).

#### **2.2.8. Kan Glikoz Seviyelerinin Belirlenmesi**

Çalışmaya başlamadan önce (sıfırinci günde) 8 saat aç bırakılan hayvanlarda kuyruk veninden alınan kan örneklerinden Yasee marka glukometre (GLM-76, Taiwan) kullanılarak açlık kan glikoz seviyeleri belirlendi. Daha sonra STZ uygulamasının 3. gününde yine 8 saat açlık sonrası kan glikoz seviyeleri ölçülerek seviyeleri 250 mg/dL ve üzerinde olanlar çalışmaya dahil edildi. STZ uygulamasının 3. gününden itibaren 21 gün boyunca madde verildi. Madde verildiği süre içinde 7, 10, 15 ve 21. günlerde 8 saatlik açlık sonrası kan glukoz seviyeleri belirlendi.

#### **2.2.9. Lipit Seviyelerinin Belirlenmesi**

Deneme ve kontrol grubunu oluşturan sıçanların serum lipit düzeylerinin ölçülmesinde Architect c16000 (Abbott Diagnostics - USA) marka klinik kimya otoanalizörü kullanıldı. Serum lipitlerinden; Total Kolesterol, HDL-Kolesterol, Trigliserit ve Pankreatik Amilaz düzeyleri Abbott Diagnostic marka kitler kullanılarak ölçüldü.

LDL ve VLDL kolesterol seviyeleri ise aşağıda verilen formül (Friedewald Formülü) ile hesaplandı.

$$\text{VLDL} = \text{Trigliserit} / 5$$

$$\text{LDL} = \text{Total kolesterol} - (\text{HDL} + \text{Trigliserit} / 5) \text{ (30).}$$

## 2.2.10. Çalışmada Kullanılan Kitlere Ait Prosedürler

### 2.2.10.1. Total Oksidan (TOS) Test Kiti

**Testin Prensi:** Örnekte bulunan antioksidanlar ferröz iyon-o-dianisididine komplekslerini ferrik iyona oksitlerler. Bu esnada ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenele orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır (24).

**Testin Yapılışı:** Kit içeriğinde yer alan standart 2 solüsyonundan 50 µL alınarak 10 ml deiyonize su ile karıştırılarak vortekslendi. Daha sonra bu ilk solüsyondan 50 µL alınarak yeniden 10 ml deiyonize suyla karıştırılıp vortekslendi. Bu şekilde standart 2 solüsyonu deiyonize su ile 40.000 kez dilüe edilmiş oldu. Sonuç olarak hazırlanan solüsyonun konsantrasyonu 20 mikromolar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oldu.

- 500 µL Reagent 1
- 75 µL (Standart 1, Standart 2 ve örnek)
- 530 nm dalga boyunda ilk absorbans
- 25 µL Reagent 2
- 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
- 530 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar belirlendi.

Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı.

### Sonuçların Hesaplanması:

$$\text{Sonuç} = [ \Delta \text{ABS Örnek} / \Delta \text{ABS Standart 2} ] \times 20 [ \text{Standart 2 değeri} ]$$

$$\Delta \text{ Örnek Absorbansı} = ( \text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı} )$$

$$\Delta \text{ Standart 2'nin Absorbansı} = ( \text{Std 2'nin 2. Absorbansı} - \text{Std 2'nin 1. Absorbansı} )$$

Standart 2 Değeri = 20  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L

Değerler  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv. / L cinsinden verildi.

### 2.2.10.2. Total Antioksidan (TAS) Test Kiti

**Testin Prensi:** Bu ölçüm yönteminde 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid) radikali (ABTS radikali) kullanılmaktadır. ABTS radikali, antioksidan konsantrasyonuna ve antioksidan kapasiteye göre koyu mavi-yeşil rengini kaybetmektedir. Bu yöntemin esası hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün  $\text{ABTS}^+$  molekülüne okside olmasına dayanmaktadır (25).

#### *Testin Yapılışı:*

- ✓ 500  $\mu\text{L}$  Reagent 1
- ✓ 30  $\mu\text{L}$  (Standart 1, Standart 2 ve örnek)
- ✓ 660 nm dalga boyunda ilk absorbans
- ✓ 75  $\mu\text{L}$  Reagent 2
- ✓ 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
- ✓ 660 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar elde edildi.

Prosedürü pleyt'e uyarlamak için reagent miktarları eşit oranda azaltıldı.

#### **Sonuçların Hesaplanması:**

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta \text{ABS Std 1}) - (\Delta \text{ABS Örnekte})]}{[(\Delta \text{ABS Std 1}) - (\Delta \text{ABS Std 2})]}$$

$$\Delta \text{ABS Std 1} = (\text{Standart 1'in 2. Absorbansı} - \text{Standart 1'in 1. Absorbansı})$$

$$\Delta \text{ABS Std 2} = (\text{Standart 2'in 2. Absorbansı} - \text{Standart 2'in 1. Absorbansı})$$

$$\Delta \text{Örnek Absorbansı} = (\text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı})$$

Sonuçlar Trolox equivalent / L cinsinden verildi.

### **2.2.11. Oksidatif Stres İndeksinin Hesaplanması**

Total oksidan seviyenin (TOS) total antioksidan seviyeye (TAS) bölünmesiyle Arbitrary Unit (AU) cinsinden Oksidatif stres indeksi (OSİ) seviyeleri belirlendi.

$$\text{OSİ} = \text{TOS} / \text{TAS}$$

### **2.3. İstatistiksel Analiz**

Araştırmada elde edilen verilerin biyoistatistiksel olarak değerlendirilmesi için SPSS 18 paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki değişkenlerin değerlendirilmesi için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve Tukey testi uygulandı. Yine HDL-LDL, TOS-TAS ile TOS - açlık kan glukoz düzeyleri aralarındaki ilişki düzeyini belirlemek için de Korelasyon analizleri yapıldı.  $p < 0.05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



### 3. BULGULAR

#### 3.1. Kontrol ve Deneme Gruplarının Kan Glukoz Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Çalışmanın 0, 3, 7, 10, 15 ve 21. günlerinde tüm grupların kan glukoz değerleri ölçülerek kendi aralarında değerlendirildi. Başlangıçta (0. günde) grupların kan glukoz seviyelerinin 75-99 mg/dl olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunun kan glukoz seviyelerinde çalışmanın sonlarına doğru istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bir artış (0. ve 3. güne göre 7, 10, 15 ve 20. günlerde  $p<0.001$ ) gözlemlense de bu artış diyabetik sınır olarak belirlediğimiz 250 mg/dL düzeyinden düşük olması sebebiyle dikkate alınmadı. Diyabet oluşturulmadan 180 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* verilen grubun kan glukoz seviyelerinde ise çalışma süresince önemli bir değişiklik olmadığı belirlendi ( $p>0.05$ ). Bunun yanı sıra bütün diyabetik gruplarda diyabetin oluşturulmasını takiben 72. saatte kan glukoz seviyelerinde oldukça önemli artışlar belirlendi ( $p<0.001$ ) (Tablo 3, 4).

Diyabetik kontrol grubunda kan glukoz düzeylerinin gün geçtikçe arttığı; ancak bu artışın sadece 3.-7., 3.-10., 3.-15. ve 3.-20. günler ( $p<0.001$ ) ile 7.-20. günler ( $p<0.05$ ) arasında önemli olduğu; 7.-10., 7.-15., 10.-15., 10.-20. ve 15.-20. günler arasında ise istatistiksel açıdan önemli olmadığı ( $p>0.05$ ) gözlemlendi. 60 mg *Ganoderma lucidum* uygulanan grupta 3-7. günler ile 10-15. günlerin kan glukoz düzeylerinin kendi aralarında benzer olduğu, fakat 10. günde 3. ve 7. günlere ( $p<0.001$ ), 20. günde ise 10. ve 15. günlere kıyasla önemli şekilde arttığı belirlendi ( $p<0.05$ ). 120 mg *Ganoderma lucidum* uygulamasının açlık kan glukoz seviyelerinin 7 ve 10. günlerde 3. güne kıyasla ve 10. ve 15. günlerde 20. güne kıyasla bir artış gösterdiği belirlense de bu artışın önemli olmadığı ( $p>0.05$ ), buna karşın 20. gündeki artışın 3 ( $p<0.001$ ) ve 7. ( $p<0.01$ ) günlere kıyasla önemli olduğu belirlendi. 180 mg *Ganoderma lucidum* uygulanan grupta 3, 7 ve 10. günler ile 7, 10 ve 15. günlerdeki kan glukoz düzeylerinin kendi aralarında benzer olduğu nitekim 3. gündeki artışın 15. güne, 7. gündeki artışın ise 20. güne kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 3, 4).

**Tablo 3.** Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanlarının Açlık Kan Glukoz Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Grup İçi Değişimleri (mg/dl).

GLUKOZ	0.GÜN $\bar{X} \pm SD$	3.GÜN $\bar{X} \pm SD$	7.GÜN $\bar{X} \pm SD$	10.GÜN $\bar{X} \pm SD$	15.GÜN $\bar{X} \pm SD$	20.GÜN $\bar{X} \pm SD$
<b>KONTROL</b>	86.57±2.23 <sup>b</sup>	90.00±1.63 <sup>b</sup>	101.33±3.14 <sup>a</sup>	104.57±4.28 <sup>a</sup>	103.14±6.77 <sup>a</sup>	106.00±6.27 <sup>a</sup>
<b>GLP KONTROL</b>	88.50±6.89	97.00±3.52	99.17±5.49	100.00±5.55	85.17±13.67	94.17±12.16
<b>DİYABET</b>	88.70±5.76 <sup>d</sup>	314.40±35.98 <sup>c</sup>	354.40±27.40 <sup>b</sup>	375.60±42.01 <sup>ab</sup>	388.89±32.31 <sup>ab</sup>	400.78±18.89 <sup>a</sup>
<b>DİYABET+ 60 mg GLP</b>	83,60±5.02 <sup>d</sup>	321,50±33.81 <sup>c</sup>	344,00±25.76 <sup>c</sup>	407,33±36.27 <sup>b</sup>	408,00±25.49 <sup>b</sup>	460,25±29.68 <sup>a</sup>
<b>DİYABET+ 120 mg GLP</b>	82,60±5.30 <sup>d</sup>	320,60±41.88 <sup>c</sup>	335,67±20.41 <sup>bc</sup>	373,00±37.06 <sup>abc</sup>	377,11±52.17 <sup>ab</sup>	401,75±50.31 <sup>a</sup>
<b>DİYABET+ 180 mg GLP</b>	84,50±6.69 <sup>d</sup>	336,70±42.99 <sup>c</sup>	357,11±44.30 <sup>bc</sup>	368,00±67.21 <sup>abc</sup>	409,78±19.16 <sup>ab</sup>	421,22±23.11 <sup>a</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

KONTROL : a-b: p<0.001

GLP KONTROL : p>0.05

DİYABET : a-d, a-c, ab-d, b-d, ab-c, c-d : p<0.001, a-b, b-c : p<0.05

DİYABET + 60 mg GLP : a-d, b-d, c-d, b-c, a-c, c-d : p<0.001, a-b : p<0.05

DİYABET + 120 mg GLP : a-d, ab-d, abc-d, bc-d, c-d, a-c : p<0.001, a-bc : p<0.01, ab-c : p<0.05

DİYABET + 180 mg GLP : a-d, ab-d, abc-d, bc-d, c-d : p<0.001, ab-c, a-bc : p<0.05

*Not: Tüm gruplardaki hayvanların deney süresince değişen kan glukoz seviyeleri Tablo 3'de görülmektedir. 0. gün çalışmanın başlangıcını göstermektedir. 0. günde hayvanların 8 saat açlık sonrası kan glukoz seviyeleri belirlenerek hemen arkasından intraperitoneal olarak STZ enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyonu takiben 72. saatte (3. gün) yine 8 saat açlık sonrası kan glukoz seviyelerine bakılarak diyabet doğrulandı. Diyabetli oldukları doğrulanan hayvanlara 3. günden itibaren belirlenen dozlarda Ganoderma lucidum polisakkaritleri her gün aynı saatte olacak şekilde oral olarak uygulandı. Bunun yanı sıra Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmazken, sadece Ganoderma lucidum polisakkaritleri uygulanan (diyabetik olmayan) gruba ise 21 gün boyunca 180 mg/kg dozunda Ganoderma lucidum polisakkaritleri oral olarak verildi. Madde uygulanan bu periyot içinde 3, 7, 10, 15, ve 21. günlerde bütün hayvanların kan glukoz seviyeleri ve ağırlıkları belirlendi.*

**Tablo 4.** Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanlarının Açlık Kan Glukoz Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Gruplar Arası Değişimleri (mg/dl).

GLUKOZ	KONTROL	GLP KONTROL	DİYABET	DİYABET + 60 mg GLP	DİYABET+ 120 mg GLP	DİYABET+ 180 mg GLP
0. gün $\bar{X} \pm SD$	86.57±2.23	88.50±6.89	88.70±5.76	83,60±5.02	82,60±5.30	84,50±6.69
3. gün $\bar{X} \pm SD$	90.00±1.63 <sup>b</sup>	97.00±3.52 <sup>b</sup>	314.40±35.98 <sup>a</sup>	321,50±33.81 <sup>a</sup>	320,60±41.88 <sup>a</sup>	336,70±42.99 <sup>a</sup>
7. gün $\bar{X} \pm SD$	101.33±3.14 <sup>b</sup>	99.17±5.49 <sup>b</sup>	354.40±27.40 <sup>a</sup>	344,00±25.76 <sup>a</sup>	335,67±20.41 <sup>a</sup>	357,11±44.30 <sup>a</sup>
10. gün $\bar{X} \pm SD$	104.57±4.28 <sup>b</sup>	100.00±5.55 <sup>b</sup>	375.60±42.01 <sup>a</sup>	407,33±36.27 <sup>a</sup>	373,00±37.06 <sup>a</sup>	368,00±67.21 <sup>a</sup>
15. gün $\bar{X} \pm SD$	103.14±6.77 <sup>b</sup>	85.17±13.67 <sup>b</sup>	388.89±32.31 <sup>a</sup>	408,00±25.49 <sup>a</sup>	377,11±52.17 <sup>a</sup>	409,78±19.16 <sup>a</sup>
20. gün $\bar{X} \pm SD$	106.00±6.27 <sup>c</sup>	94.17±12.16 <sup>c</sup>	400.78±18.89 <sup>b</sup>	460,25±29.68 <sup>a*</sup>	401,75±50.31 <sup>b*</sup>	421,22±23.11 <sup>ab</sup>

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

0. gün :  $p > 0.05$

3. gün : a-b:  $p < 0.001$

7. gün : a-b:  $p < 0.001$

10. gün : a-b:  $p < 0.001$

15. gün : a-b:  $p < 0.001$

20. gün : a-c, a-b, ab-c, a\*-c, b\*-c, a\*-b :  $p < 0.001$ , a\*-b\* :  $p < 0.01$

Çalışmanın 0. gününde bütün grupların açlık kan glukoz düzeyleri benzer seviyelerdeyken; 3. günde STZ uygulanan grupların kan glukoz değerlerinde kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarına kıyasla önemli yükselişler gözlemlendi ( $p < 0.001$ ). Bununla birlikte 60, 120 ve 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* uygulanan grupların 7, 10 ve 15. günlerindeki kan glukoz düzeyleri diyabetik kontrol grubu ile benzerlikler göstermekteydi. Çalışmanın 60 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* uygulanan grubunun açlık kan glukoz değerlerinin diyabetik kontrol grubuna kıyasla 10. günden 20. güne kadar önemli bir yükseliş gösterdiği ( $p < 0.001$ ), fakat aynı yükselişin 120 ve 180 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* uygulanan diyabetik gruplarda gözlenmediği belirlendi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4).

### 3.2. Kontrol ve Deneme Grubu Hayvanların Vücut Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Tüm grupların vücut ağırlıkları, çalışmanın 0, 3, 10, 15 ve 20. günlerinde belirlenerek gruplar kendi aralarında değerlendirildi. Kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarının vücut ağırlıklarında çalışma süresince önemli bir değişiklik gözlenmezken ( $p>0.05$ ); diyabetik kontrol grubu hayvanlarının vücut ağırlıklarında 10, 15 ve 20. günlerde istatistiksel olarak anlamlı azalışlar tespit edildi. Aynı şekilde, 60, 120 ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* gruplarının vücut ağırlıklarında ise çalışmanın 0. gününe kıyasla önemli şekilde ( $p<0.001$ ) azalış belirlendi (Tablo 5).

**Tablo 5.** Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıklarının Grup İçi Günler Arası Değişimleri (gr).

AĞIRLIK	0.GÜN $\bar{X} \pm SD$	3.GÜN $\bar{X} \pm SD$	10.GÜN $\bar{X} \pm SD$	15.GÜN $\bar{X} \pm SD$	20.GÜN $\bar{X} \pm SD$
<b>KONTROL</b>	287.33±14.01	284.86±26.27	298.00±24.46	300.17±32.11	308.00±21.84
<b>GLP KONTROL</b>	298.50±28.40	286.14±39.62	291.67±55.95	292.50±41.90	300.17±28.04
<b>DİYABET</b>	299.25±18.81 <sup>a</sup>	271.60±39.28 <sup>ab</sup>	266.80±16.16 <sup>b</sup>	262.22±8.71 <sup>b</sup>	255.56±9.66 <sup>b*</sup>
<b>DİYABET+ 60mg GLP</b>	306.25±30.44 <sup>a</sup>	237.38±10.17 <sup>b</sup>	238.43±7.57 <sup>b</sup>	235.89±7.83 <sup>b</sup>	227.89±17.66 <sup>b</sup>
<b>DİYABET+ 120mg GLP</b>	316.50±28.72 <sup>a</sup>	218.22±17.51 <sup>b</sup>	228.22±8.60 <sup>b</sup>	223.11±10.07 <sup>b</sup>	206.89±37.07 <sup>b</sup>
<b>DİYABET+ 180mg GLP</b>	298.13±22.94 <sup>a</sup>	209.00±10.81 <sup>b</sup>	213.22±13.46 <sup>b</sup>	221.44±11.26 <sup>b</sup>	218.78±14.51 <sup>b</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

KONTROL :  $p>0.05$

GLP. KONTROL :  $p>0.05$

DİYABET : a-b\* :  $p<0.01$ , a-b :  $p<0.05$

DİYABET + 60 mg GLP : a-b :  $p<0.001$

DİYABET + 120 mg GLP : a-b :  $p<0.001$

DİYABET + 180 mg GLP : a-b :  $p<0.001$

### 3.3. Serum Lipit Profili

**Tablo 6.** Deneş Grublarının Serum Total Kolesterol, HDL, LDL ve VLDL Kolesterol ile Trigliserit Sonuçları ile Pankreatik Amilaz Düzeyleri (mg/dl).

PARAMETRE	KONTROL	GLP KONTROL	DİYABET	DİYABET + 60 mg GLP	DİYABET+ 120 mg GLP	DİYABET+ 180 mg GLP
TOTAL KOLESTEROL	57.40±3.36 <sup>c</sup>	65.50±9.20 <sup>bc</sup>	77.78±11.84 <sup>ab</sup>	77.00±4.78 <sup>ab</sup>	77.20±8.79 <sup>ab</sup>	82.11±8.42 <sup>a</sup>
TRİGLİSERİT	83.60±16.09 <sup>c</sup>	93.00±17.96 <sup>bc</sup>	133.40±26.48 <sup>ab</sup>	120.86±25.56 <sup>abc</sup>	135.40±17.81 <sup>a</sup>	114.89±26.96 <sup>abc</sup>
HDL	23.60±0.55 <sup>a</sup>	23.50±3.73 <sup>a</sup>	37.75±5.26 <sup>b</sup>	35.50±3.12 <sup>b</sup>	36.80±1.92 <sup>b</sup>	39.44±4.56 <sup>b</sup>
VLDL	16.72±3.22 <sup>b</sup>	18.60±3.59 <sup>ab</sup>	26.68±5.30 <sup>a</sup>	24.17±5.11 <sup>ab</sup>	25.24±4.69 <sup>ab</sup>	22.98±5.39 <sup>ab</sup>
LDL	17.08± 5.01 <sup>b</sup>	21.60±10.50 <sup>b</sup>	35.80±13.33 <sup>a</sup>	17.83±6.60 <sup>b</sup>	13.76±3.19 <sup>b*</sup>	18.33±5.46 <sup>b</sup>
AMİLAZ	2846.00±102.40 <sup>a</sup>	2670.40±381.60 <sup>a</sup>	1667.00±362.27 <sup>b</sup>	1597.38±210.87 <sup>b</sup>	1887.80±57.07 <sup>b</sup>	1742.60±277.25 <sup>b</sup>

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

TOTAL KOLESTEROL : a-c : p<0.001, ab-c, a-bc : p<0.01

TRİGLİSERİT : a-c : p<0.001, a-bc: p<0.01, ab-c : p<0.05

HDL : a-b : p<0.001

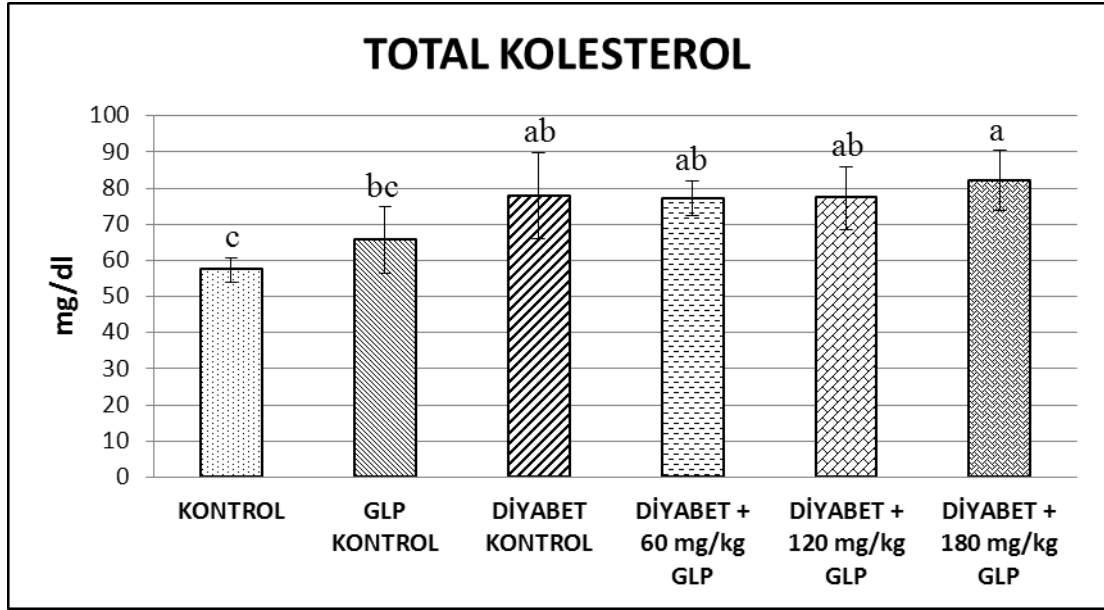
VLDL : a-b : p<0.05

LDL : a-b\* : p<0.001, a-b : p<0.01

AMİLAZ : a-b :p<0001

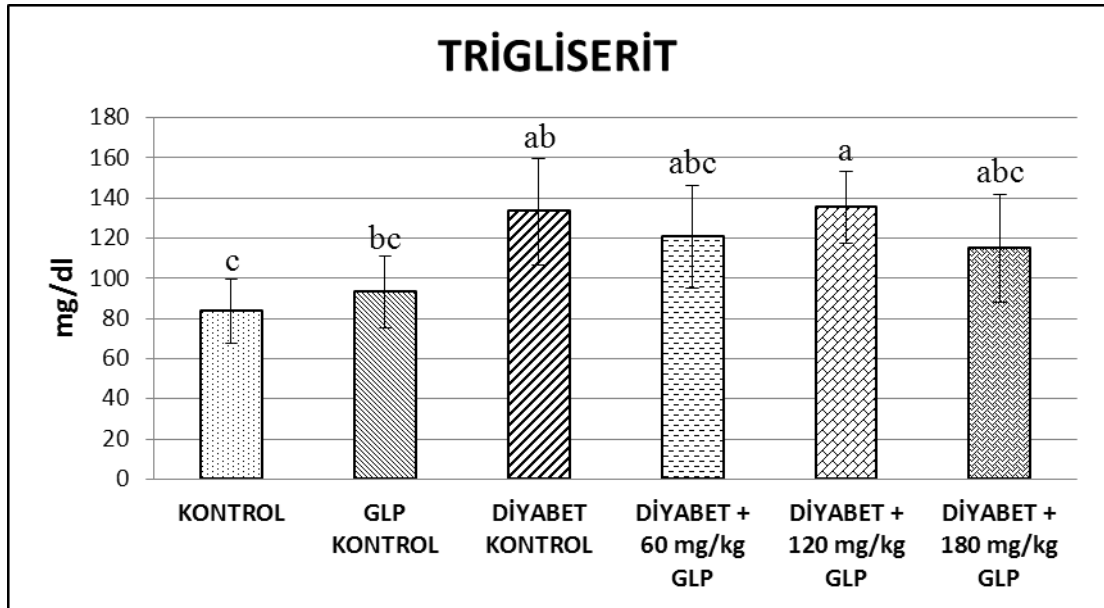
Kontrol grubuna kıyasla, *Ganoderma lucidum* kontrol grubunun total kolesterol seviyelerinin benzer olduğu; diyabetik kontrol grubunda önemli derecede artış gösterdiği (p<0.01); madde uygulanan diğer diyabetik gruplarda ise bu seviyenin değişmediği tespit edildi (p>0.05) (Tablo 6, Grafik 1).

Aynı şekilde, kontrol grubu ile kıyaslandığında *Ganoderma lucidum* kontrol grubunun trigliserit düzeylerinin benzer olduğu; diyabetik kontrol grubunda ise bu seviyenin önemli şekilde arttığı (p<0.05) tespit edildi. Ancak, diyabetik kontrol grubu ile kıyaslandığında ise 60 mg/kg ve 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* uygulanan grupların trigliserit düzeylerinde istatistiksel olarak önemsiz bir azalış tespit edildi (p>0.05) (Tablo 6, Grafik 2).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir  
a-c :  $p < 0.001$ , ab-c, a-bc :  $p < 0.01$

**Grafik 1.** Serum Total Kolesterol Düzeyleri (mg/dl).

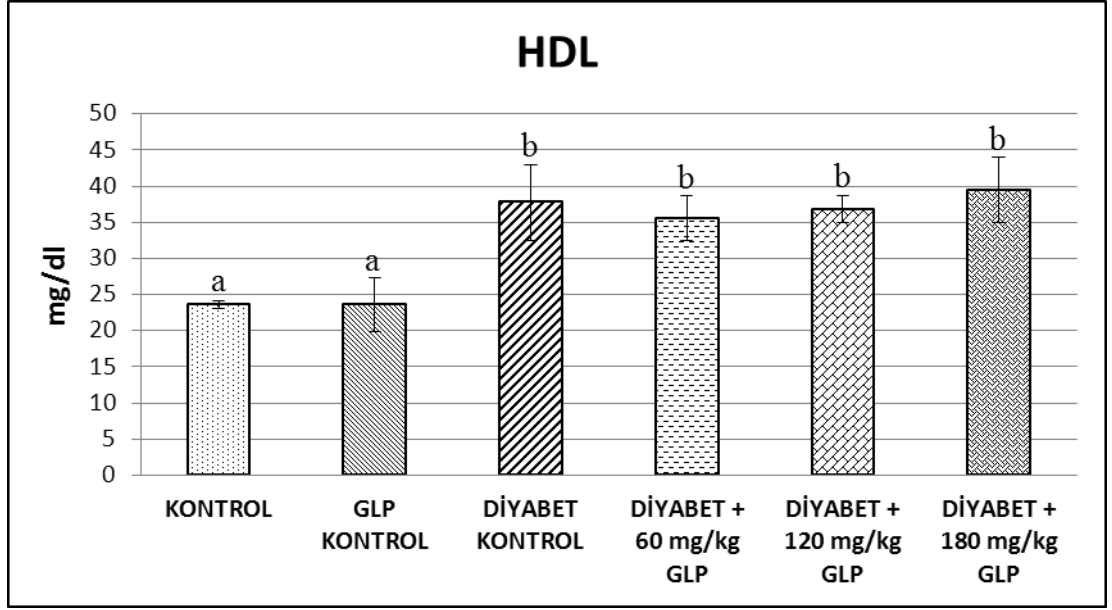


Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.  
a-c :  $p < 0.001$ , a-bc :  $p < 0.01$ , ab-c :  $p < 0.05$

**Grafik 2.** Serum Trigliserit Düzeyleri (mg/dl).

Kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarının HDL düzeylerinde benzerlikler belirlenirken ( $p > 0.05$ ); diyabetik kontrol grubunda yükseliş gösteren HDL kolesterol

seviyelerinin, 60, 120 ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* gruplarında diyabetik kontrol grubuna kıyasla değişmediği tespit edildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 6, Grafik 3).



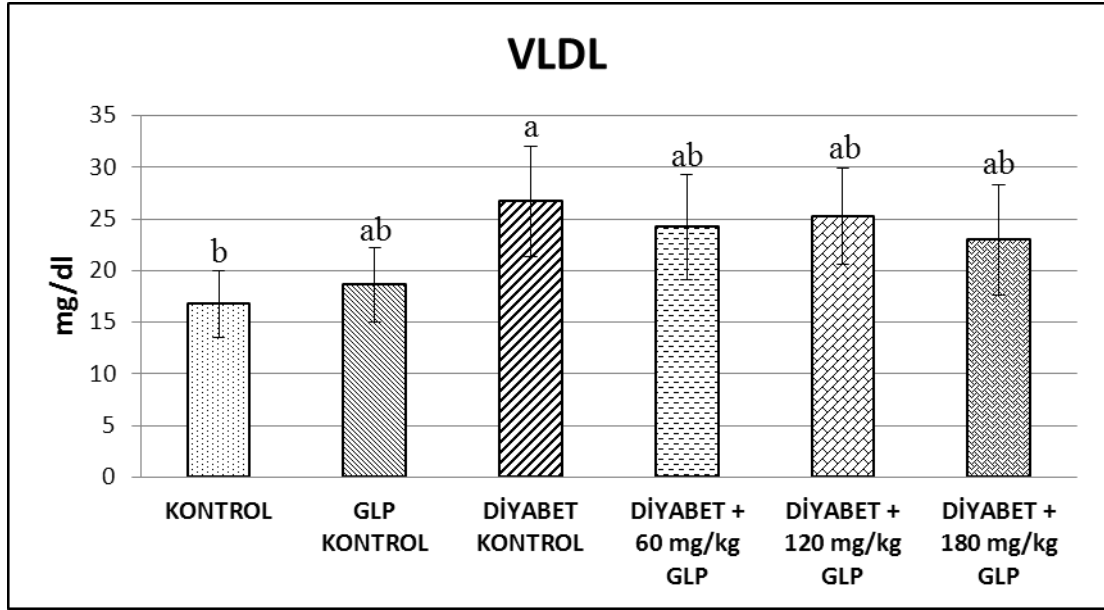
Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b :  $p<0.001$

**Grafik 3.** Serum HDL Düzeyleri (mg/dl).

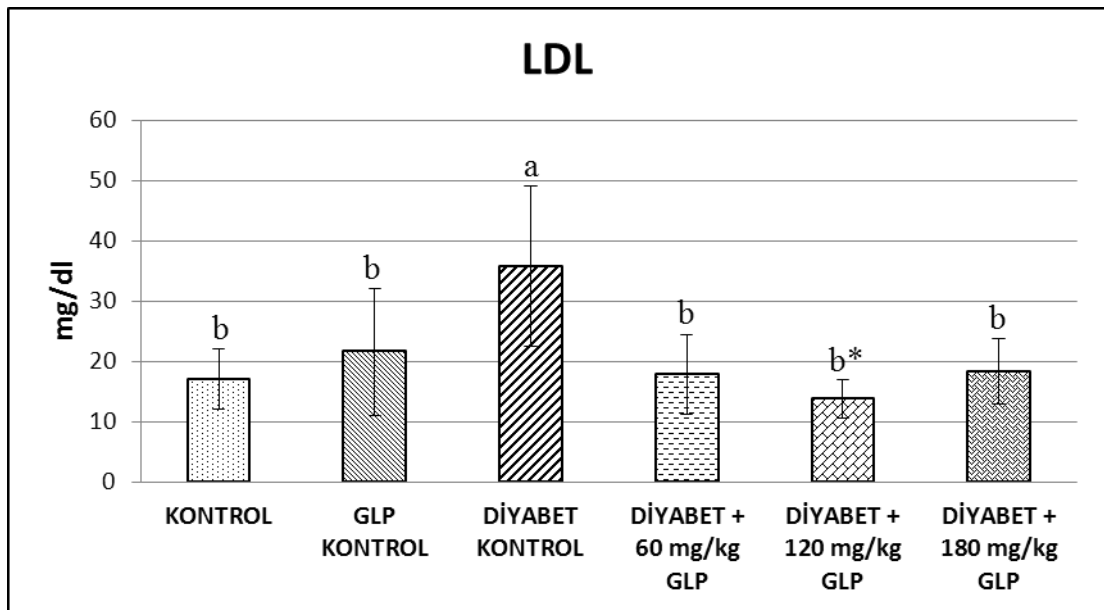
Kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarının benzer olan VLDL düzeylerinin diyabetik kontrol grubunda önemli derecede arttığı ( $p<0.05$ ), diğer deneme gruplarında ise değişmediği gözlemlendi ( $p>0.05$ ) (Tablo 6, Grafik 4).

Kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarının benzer olan LDL düzeylerinin diyabetik kontrol grubunda kontrollere göre önemli derecede arttığı ( $p<0.01$ ); 60 ve 120 mg/kg *Ganoderma lucidum* gruplarında diyabetik kontrol grubuna kıyasla  $p<0.01$  düzeyinde, 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* grubunda ise  $p<0.001$  düzeyinde azalış gösterdiği belirlendi (Tablo 6, Grafik 5).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.  
a-b :  $p < 0.05$

**Grafik 4.** Serum VLDL Düzeyleri (mg/dl).

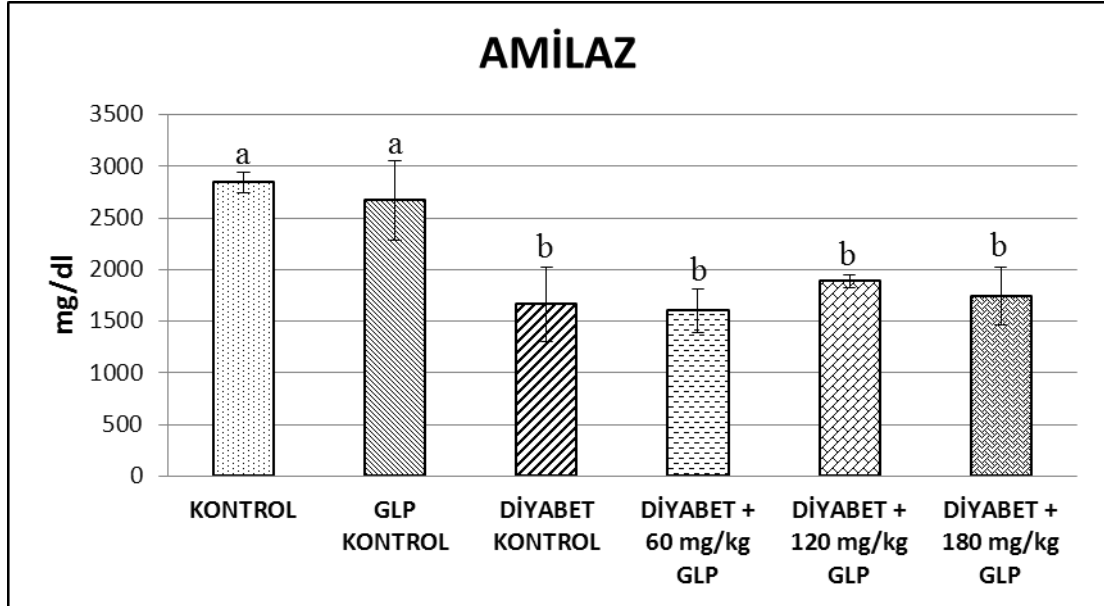


Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.  
a-b\* :  $p < 0.001$ , a-b :  $p < 0.01$

**Grafik 5.** Serum LDL Düzeyleri (mg/dl).



Kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarında yüksek olan Amilaz düzeylerinin diyabetik kontrol gruplarında önemli düzeyde azaldığı ( $p<0.001$ ) belirlenirken; 120 ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* gruplarında ise istatistiksel bakımdan anlamlı olmayan bir yükseliş tespit edildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 6, Grafik 6).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b : $p<0001$

**Grafik 6.** Serum Pankreatik Amilaz Düzeyleri (mg/dl).

### 3.4. Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreasın Total Oksidan Düzeyleri (TOS)

**Tablo 7.** Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreas Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L).

TOS	KONTROL	GLP. KONTROL	DİYABET	DİYABET+ 60 mg GLP	DİYABET+ 120 mg GLP	DİYABET+ 180 mg GLP
SERUM	10.92±3.20 <sup>a</sup>	6.96±1.98 <sup>ab</sup>	7.96±3.65 <sup>ab</sup>	7.43±1.04 <sup>ab</sup>	8.16±2.53 <sup>ab</sup>	5.21±0.46 <sup>b</sup>
ERİTROSİT	122.03±8.10	121.35±6.42	119.81±6.64	112.31±9.65	115.71±9.56	116.68±11.28
KARACİĞER	31.72±7.41 <sup>ab</sup>	26.20±8.69 <sup>b</sup>	43.07±3.74 <sup>a</sup>	31.94±5.31 <sup>ab</sup>	36.81±7.19 <sup>ab</sup>	30.51±7.99 <sup>b*</sup>
PANKREAS	9.11±1.53 <sup>b</sup>	12.48±1.72 <sup>ab</sup>	16.26±1.32 <sup>a</sup>	10.49±1.54 <sup>b</sup>	12.10±1.52 <sup>b*</sup>	11.46±3.64 <sup>b</sup>

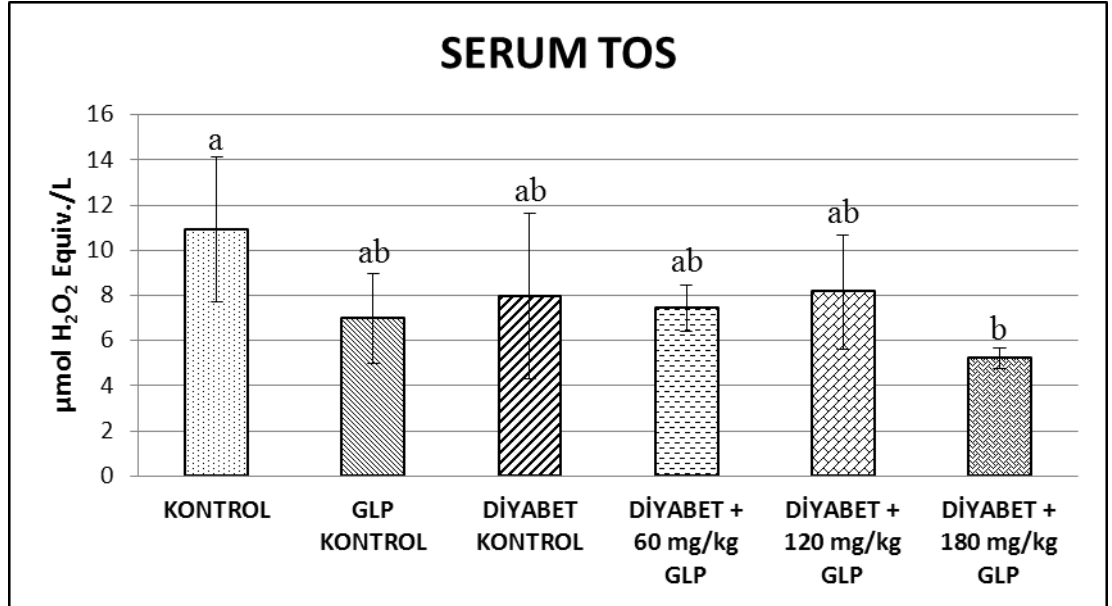
Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

SERUM : a-b: p<0.01

ERİTROSİT : p>0.05

KARACİĞER : a-b : p<0.01, a-b\* : p<0.05

PANKREAS : a-b : p<0.001, a-b\* : p<0.05



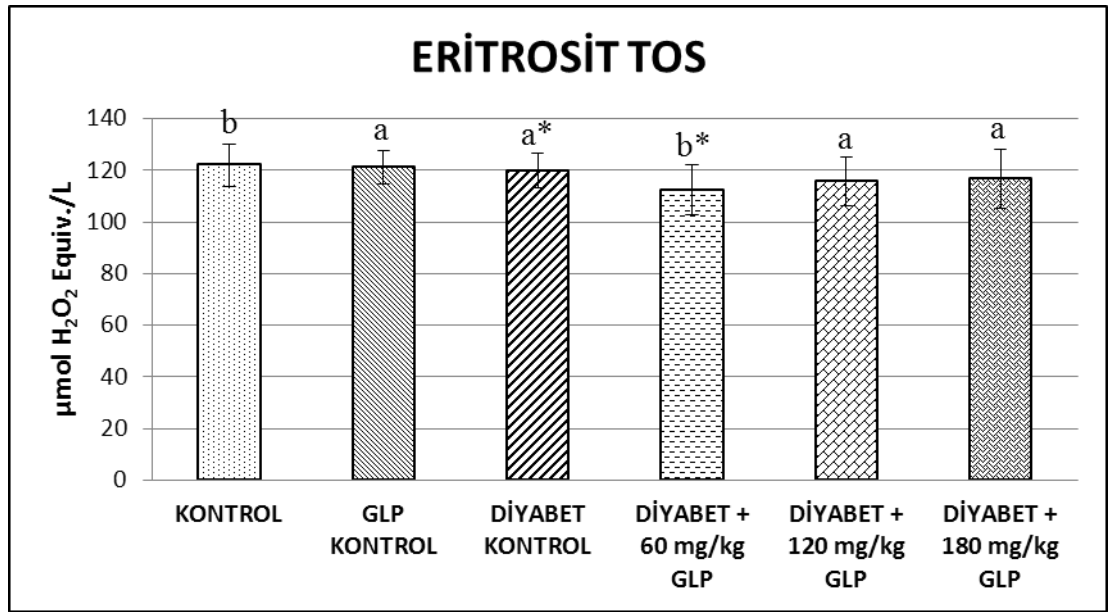
Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b: p<0.01

**Grafik 7.** Serum Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L).

Diyabetik kontrol grubunun serum total oksidan seviyelerinde istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalış ( $p>0.05$ ) tespit edilirken; 60, 120 ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* uygulanan gruplarda diyabetik kontrol grubuna kıyasla önemli bir değişiklik belirlenemedi ( $p>0.05$ ) (Tablo 7, Grafik 7).

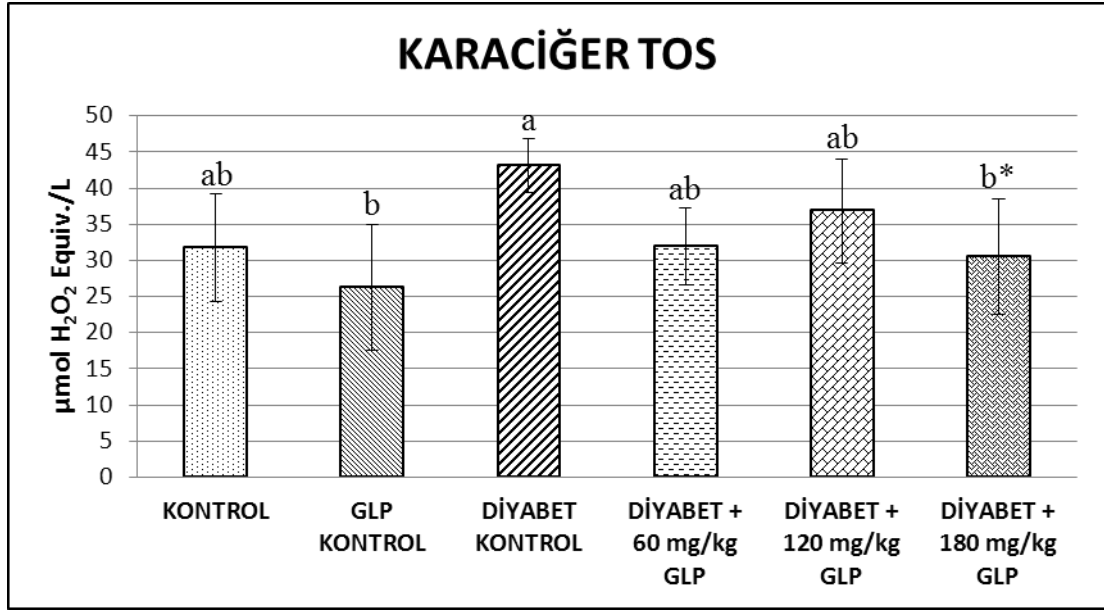
Kontrol, *Ganoderma lucidum* kontrol ve diyabetik kontrol grupları ile 60, 120 ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* uygulanan gruplarının eritrosit total oksidan seviyeleri kıyaslandığında önemli bir farklılık tespit edilmedi ( $p>0.05$ ) (Tablo 7, Grafik 8).



$p>0.05$

**Grafik 8.** Eritrosit Örneklerinin Total Oksidan Seviyeleri (µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv./L).

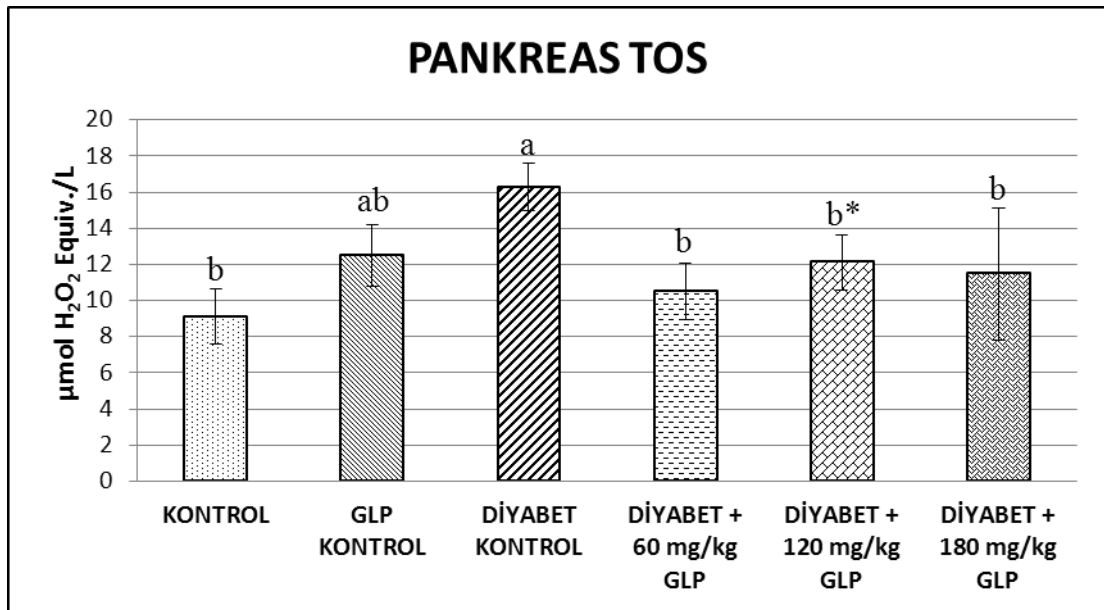
*Ganoderma lucidum* kontrol grubunun karaciğer dokusunun total oksidan seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemsiz bir azalış gösterirken ( $p>0.05$ ); diyabetik kontrol grubunun karaciğer total oksidan seviyelerinde ise kontrol grubuna kıyasla önemli olmayan bir artış tespit edildi ( $p>0.05$ ). Bunun yanı sıra diyabetik kontrol grubunda yüksek olan total oksidan düzeylerin 60, 120 ve 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* uygulanan gruplarda azalış gösterdiği ancak bu azalışın sadece 180 mg/kg'lık grupta istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Tablo 7, Grafik 9).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b :  $p < 0.01$ , a-b\* :  $p < 0.05$

**Grafik 9.** Karaciğer Dokusunun Total Oksidan Seviyeleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b :  $p < 0.001$ , a-b\* :  $p < 0.05$

**Grafik 10.** Pankreas Dokusunun Total Oksidan Seviyeleri ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equiv./L).

*Ganoderma lucidum* kontrol grubunda pankreas dokusunun total oksidan seviyelerinin kontrol grubuna göre önemli olmayan bir artış gösterdiği, ancak bu artışın diyabetik kontrol grubu ile 60 mg/kg ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum*

gruplarında  $p<0.001$  düzeylerinde önemli olduğu, bunun yanı sıra 120 mg/kg'lık grupta ise bu artışın  $p<0.05$  düzeyinde olduğu tespit edildi (Tablo 7, Grafik 10).

### 3.5. Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreasın Total Antioksidan Düzeyleri (TAS)

**Tablo 8.** Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreas Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri (mmol Trolox Equiv./L).

TAS	KONTROL	GLP KONTROL	DİYABET	DİYABET+ 60 mg GLP	DİYABET+ 120 mg GLP	DİYABET+ 180 mg GLP
SERUM	0.83±0.05 <sup>b</sup>	0.99±0.05 <sup>a</sup>	0.97±0.09 <sup>a*</sup>	0.86±0.03 <sup>b*</sup>	1.00±0.04 <sup>a</sup>	0.99±0.04 <sup>a</sup>
ERİTROSİT	0.30±0.06	0.39±0.06	0.31±0.03	0.30±0.03	0.36±0.09	0.39±0.06
KARACİĞER	0.81±0.08 <sup>a</sup>	0.68±0.04 <sup>b</sup>	0.77±0.04 <sup>ab</sup>	0.82±0.08 <sup>a</sup>	0.70±0.05 <sup>b</sup>	0.74±0.05 <sup>ab</sup>
PANKREAS	0.58±0.31	0.74±0.12	0.71±0.13	0.75±0.08	0.66±0.28	0.55±0.09

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

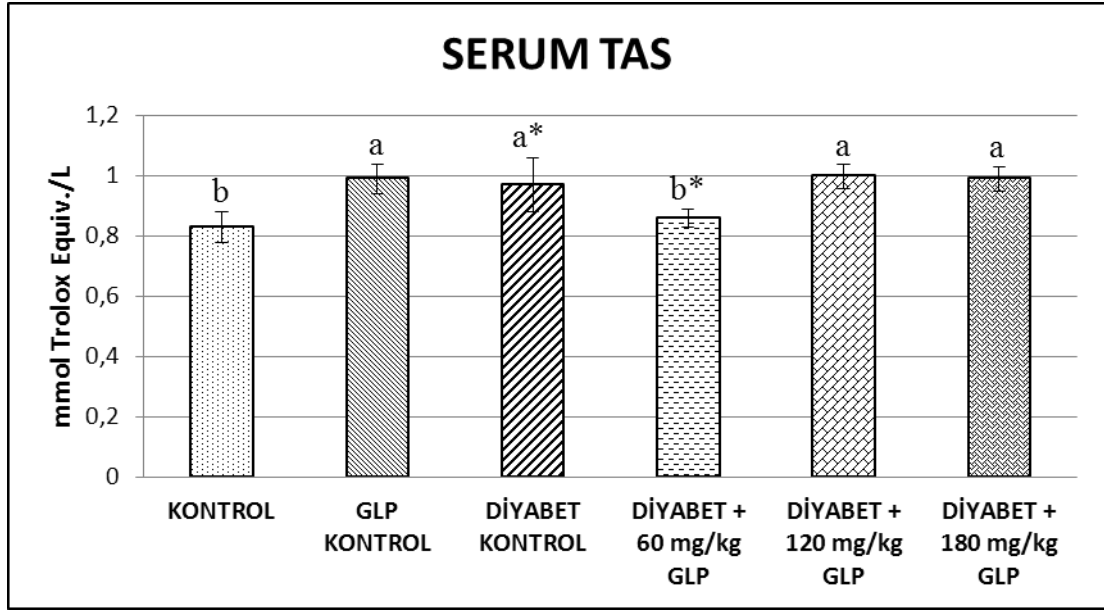
SERUM : a-b, a-b\*, a\*-b :  $p<0.001$ , a-b\* :  $p<0.01$ , a\*-b\* :  $p<0.05$

ERİTROSİT :  $p>0.05$

KARACİĞER : a-b :  $p<0.01$

PANKREAS :  $p>0.05$

Serum örneklerinin total antioksidan seviyelerinin *Ganoderma lucidum* kontrol grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde yüksek belirlendi ( $p<0.001$ ). Diyabet kontrol grubunun total antioksidan seviyelerinin de kontrol grubuna göre  $p<0.001$  düzeyinde arttığı tespit edildi. 120 mg/kg ve 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* uygulanan grupların total antioksidan seviyelerinin diyabetik kontrol grupları ile farklılık göstermediği ( $p>0.05$ ), ancak 60 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* uygulanan grupta önemli bir azalış belirlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 8, Grafik 11).

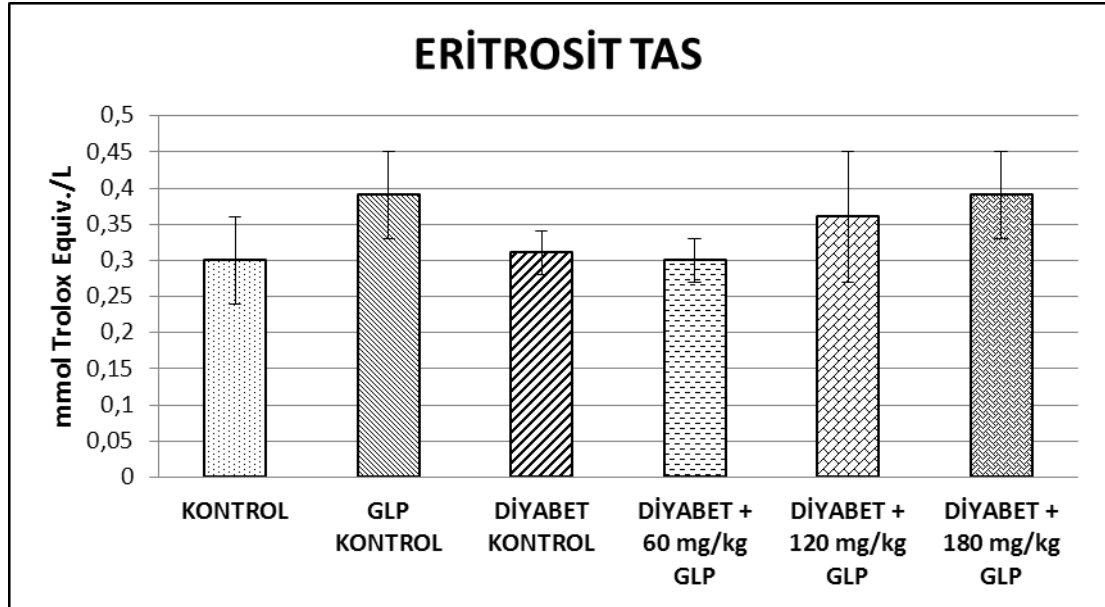


Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

a-b, a-b\*, a\*-b :  $p < 0.001$ , a-b\* :  $p < 0.01$ , a\*-b\* :  $p < 0.05$

**Grafik 11.** Serum Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri (mmol Trolox Equiv./L).

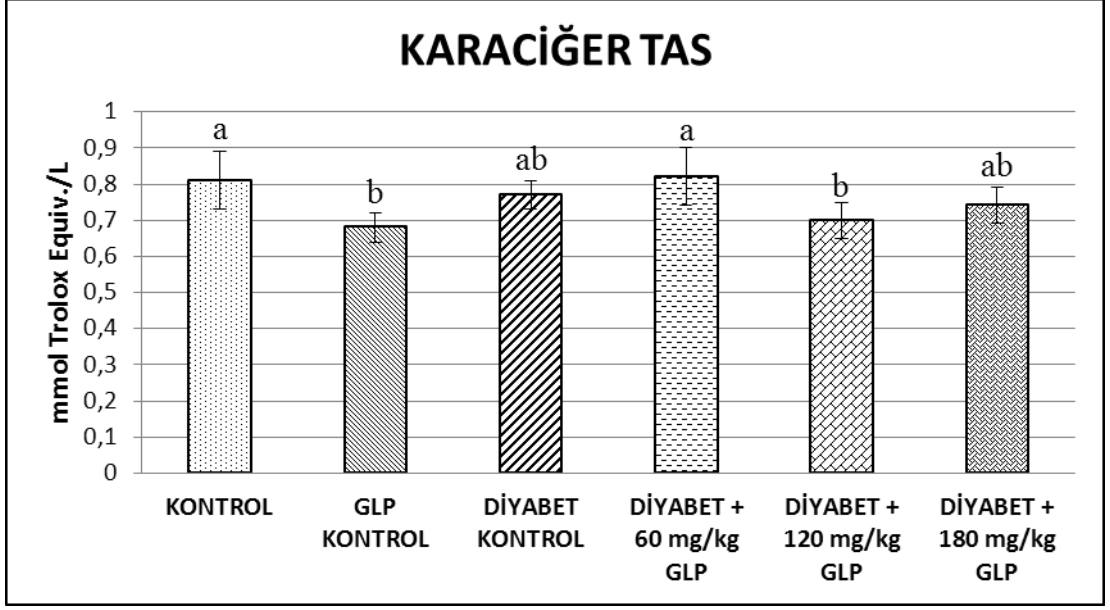
*Ganoderma lucidum* kontrol grubunun karaciğer dokusunun total antioksidan seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla önemli bir azalış gösterdiği ( $p < 0.01$ ), ancak diyabetik kontrol grubunun total antioksidan seviyelerindeki azalışın ise önemli olmadığı gözlemlendi ( $p > 0.05$ ).



$p > 0.05$

**Grafik 12.** Eritrosit Örneklerinin Total Antioksidan Seviyeleri (mmol Trolox Equiv./L).

Kontrol, *Ganoderma lucidum* kontrol ve diyabetik kontrol ile 60, 120 ve 180 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* uygulanan grupların eritrosit total antioksidan seviyeleri bakımından gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ) (Tablo 8, Grafik 12).



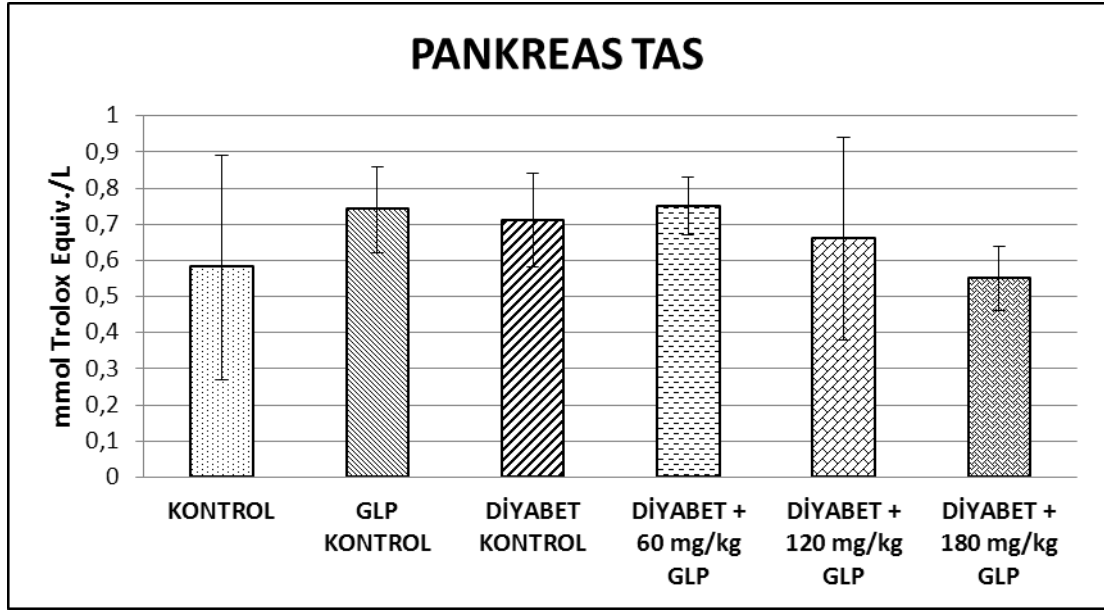
Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.  
a-b :  $p < 0.01$

**Grafik 13.** Karaciğer Dokusunun Total Antioksidan Seviyeleri (mmol Trolox Equiv./L).

*Ganoderma lucidum* kontrol grubunun karaciğer dokusunun total antioksidan seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla önemli bir azalış gösterdiği ( $p < 0.01$ ), ancak diyabetik kontrol grubunun total antioksidan seviyelerindeki azalışın ise önemli olmadığı gözlemlendi ( $p > 0.05$ ).

Diyabetik kontrol grubuna kıyasla madde uygulanan diğer grupların total antioksidan seviyelerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 8, Grafik 13).





$p > 0.05$

**Grafik 14.** Pankreas Dokusunun Total Antioksidan Seviyeleri (mmol Trolox Equiv./L).

Yine Pankreas dokusunun total antioksidan seviyelerinde de gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmedi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 8, Grafik 14).

### 3.6. Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreasın Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

**Tablo 9.** Serum, Eritrosit, Karaciğer ve Pankreas OSİ Değerleri (AU).

OSİ	KONTROL	GLP. KONTROL	DİYABET	DİYABET + 60 mg GLP	DİYABET+ 120 mg GLP	DİYABET+ 180 mg GLP
SERUM	10.77±2.57 <sup>a</sup>	7.16±2.25 <sup>ab</sup>	9.02±2.80 <sup>ab</sup>	8.80±1.23 <sup>ab</sup>	6.92±2.20 <sup>ab</sup>	5.80±1.33 <sup>b</sup>
ERİTROSİT	415.78±87.85	314.54±51.29	371.73±65.18	384.00±62.96	339.89±88.07	315.83±60.21
KARACİĞER	38.88±15.22 <sup>ab</sup>	40.03±11.70 <sup>ab</sup>	55.93±4.41 <sup>a</sup>	34.82±8.28 <sup>b</sup>	49.52±8.90 <sup>ab</sup>	39.97±9.84 <sup>ab</sup>
PANKREAS	23.57±11.36	17.43±5.54	24.77±4.22	14.62±3.57	19.82±6.30	20.72±10.64

Aynı satırda farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir.

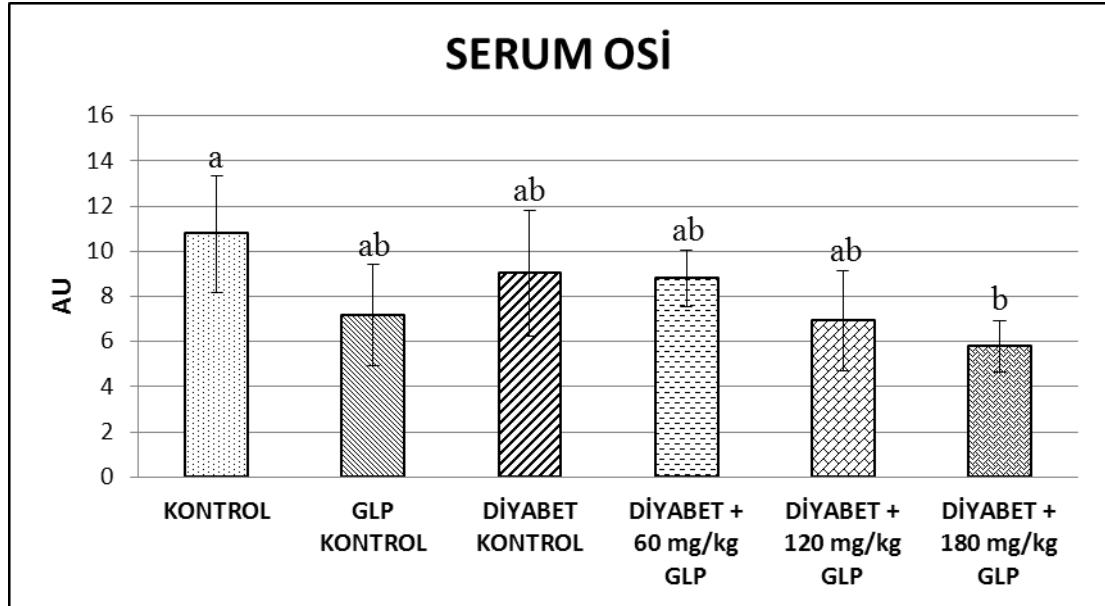
SERUM : a-b : p<0.05

ERİTROSİT : p>0.05

KARACİĞER : a-b : p<0.05

PANKREAS : p>0.05

Kontrol, Ganoderma kontrol, diyabet kontrol ile 60 ve 120 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* gruplarının serum OSİ değerlerinin benzer düzeylerde belirlenirken (p>0.05), kontrol grubu ile kıyaslandığında 180 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* uygulanan grupta p<0.05 değerinde bir azalış gözlemlendi (Tablo 9, Grafik 15).

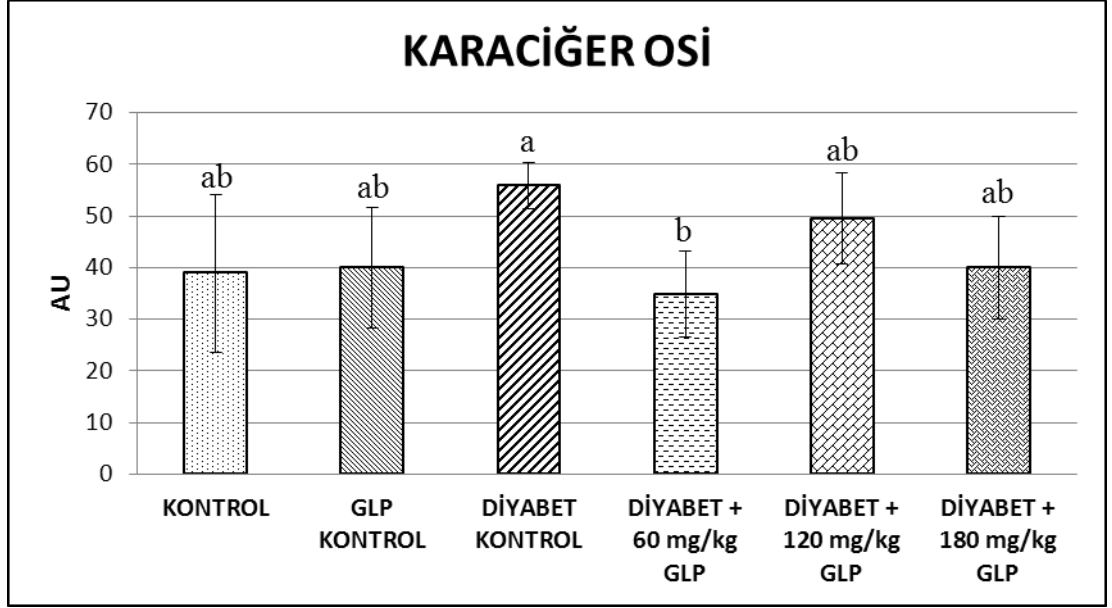


Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir

a-b : p<0.05

**Grafik 15.** Serum Örneklerinin OSİ Değerleri (AU)

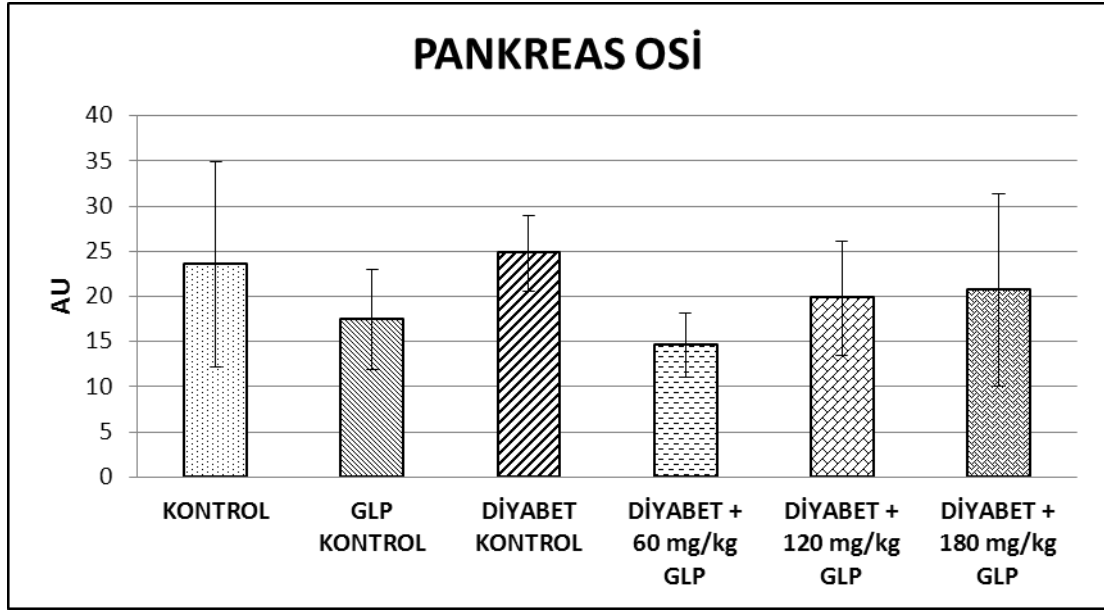
Diyabetik kontrol grubunun karaciğer dokusunun OSİ değerlerinin kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarına göre yükseldiği belirlense de bu yükselişin istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlendi ( $p>0.05$ ). Buna karşın diyabetik kontrol grubunda artan OSİ değerinin 60, 120 ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* gruplarında azaldığı fakat bu azalışın sadece 60 mg/kg'lık grupta anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 9, Grafik 16).



Farklı harfler istatistiksel önemliliği göstermektedir  
a-b :  $p<0.05$

**Grafik 16.** Karaciğer Dokusunun OSİ Değerleri (AU)

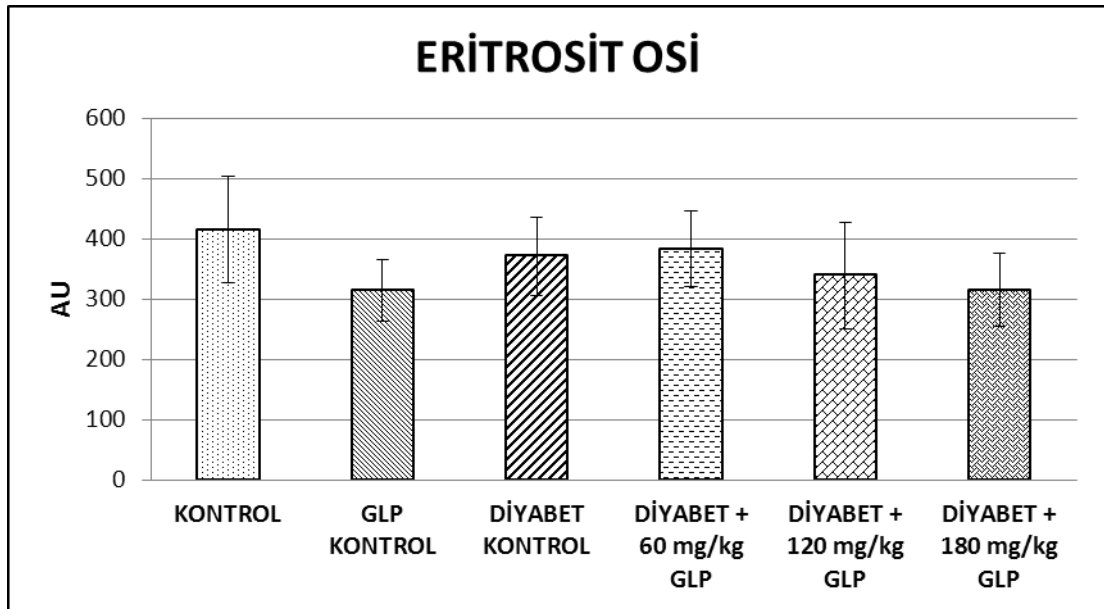
*Ganoderma lucidum* kontrol grubunun pankreas dokusunun OSİ değerlerinin kontrollere kıyasla istatistiksel düzeyde anlamlı olmayan bir azalış gösterdiği belirlendi ( $p>0.05$ ). Diyabetik kontrol grubunda kontrol grubu ile benzerlik gösteren OSİ değerlerinin, 60, 120 ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* uygulanan gruplarda istatistiksel açıdan önemli olmayan bir azalış gösterdiği tespit edildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 9, Grafik 17).



$p > 0.05$

**Grafik 17.** Pankreas Dokusunun OSİ Değerleri (AU)

Yine tüm grupların eritrosit OSİ değerlerinde gruplara arasında istatistiksel bakımdan önemlilik tespit edilemedi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 9, Grafik 16).



$p > 0.05$

**Grafik 18.** Eritrosit Örneklerinin OSİ Değerleri (AU)

### 3.7. Korelasyon Analizleri

Yapılan korelasyon analizleri neticesinde *Ganoderma lucidum* kontrol grubunun serum TOS ve TAS değerleri arasında  $p<0.01$  düzeyinde anlamlı pozitif bir ilişki tespit edildi. Bununla birlikte, 60 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* grubunun karaciğer dokusunda ise  $p<0.01$  düzeyinde pozitif bir korelasyon belirlendi.

Ancak, tüm grupların HDL ile LDL kolesterol seviyeleri ile TOS ve açlık kan glukoz düzeyleri arasında istatistiksel açıdan bir korelasyon tespit edilemedi ( $p>0.05$ ).

### 3.8. Histopatolojik Bulgular

#### 3.8.1. Pankreas Dokusu

Kontrol grubu ve *Ganoderma lucidum* kontrol grubuna ait pankreas dokularının Hematoksilen&Eosin (H&E) ile boyanan kesitlerinde yapılan histolojik incelemeler sonucunda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Pankreasın ekzokrin kısmının ve Langerhans adacıklarının normal histolojik görünümde olduğu tespit edildi (Resim 1, 2).

Diyabetik kontrol grubunda ise; Langerhans adacıklarının düzensiz yapıda olduğu ve küçüldüğü ve sellüleritesinde azalma olduğu belirlendi. Adacık merkezindeki hücrelerde sayıca azalma, sitoplazmalarında vakuolleşme mevcut idi. Adacıkların periferinde hücrelerde ise birbirleri üzerine kümeleşme ve hücrelerde yoğunlaşma tespit edildi (Resim 3). Adacıkların merkezindeki bazı hücrelerin çekirdeklerinin hematoksilen ile az boyandığı ve bazı hücrelerin ise çekirdeklerinin gözden silindiği tespit edildi. Ekzokrin pankreas kısmında ise herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Resim 3).

*Ganoderma lucidum*'un 60 mg, 120 ve 180 mg verilen gruplarında; pankreasın ekzokrin bölümü normal görünümdeydi. Langerhans adacıklarının yapısı diyabetik kontrol grubuna benzer görünmekte idi. Bu gruplarda adacık sınırlarında düzensizleşme, merkezde hücre sayısında azalma, merkezdeki hücrelerde ise nekroz gözlemlendi. Adacıkların periferinde dizilimleri düzenli yapıda olmasına rağmen yer yer bazı alanlarda hücresellik artmıştı (Resim 4, 5, 6).

### 3.8.2. Karaciğer Dokusu

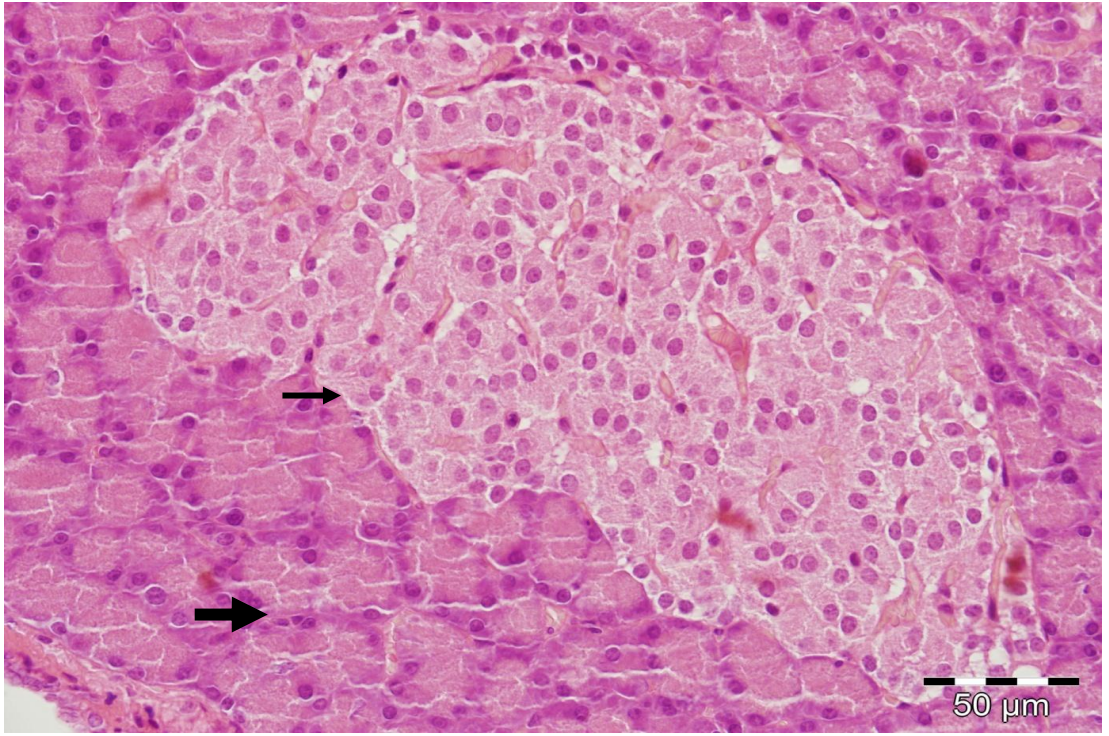
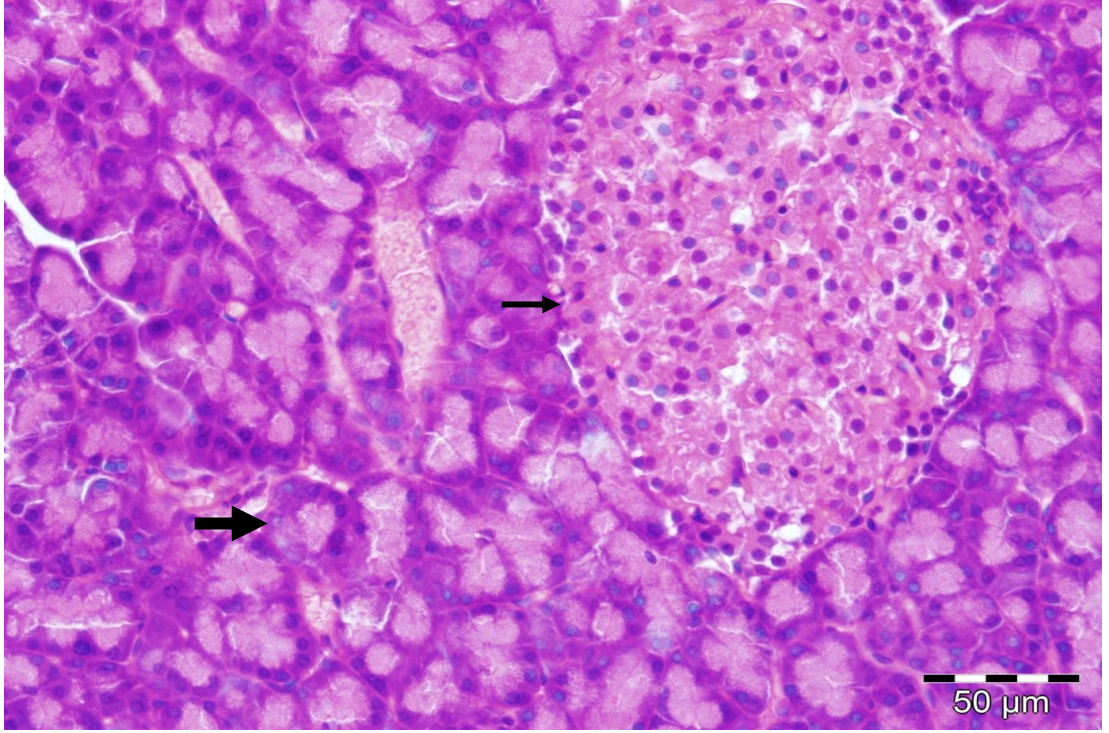
Kontrol grubu ve *Ganoderma lucidum* kontrol grubu karaciğerlerinin histopatolojik incelemelerinde herhangi patolojik bir bulguya rastlanmadı (Resim 7, 8).

Diyabetik kontrol grubunda; genel olarak dejeneratif ve nekrotik değişiklikler gözlemlendi. Hepatositlerdeki akut hücre şişkinliği ve hidropik dejenerasyon ve bazı hepatositlerde ise vakuolar dejenerasyon saptandı. Dejeneratif hücrelerin sitoplazmalarının açık renkli boyandığı ve granüler yapıda olduğu gözlemlendi. Özellikle asiner ve midzonal bölgedeki hepatositlerde yer yer tek ya da ufak alanlarda nekrotik değişiklikler saptandı. Ayrıca karaciğerde sinuzoidlerde dilatasyon, kuppferin yıldız hücrelerinde hafif aktivasyon artışı tespit edildi (Resim 9).

*Ganoderma lucidum*'un 60 mg verilen diyabetik grubu, diyabetik kontrol grubu ile kıyaslandığında dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin şiddetinde ve derecesinde azalma olmadığı gözlemlendi. Diyabetik kontrol grubuna benzer şekilde hepatositlerde akut hücre şişkinliği, hidropik ve vakuoler dejenerasyon ve yer yer nekroz alanları tespit edildi. Bunun yanı sıra sinuzoidlerde dilatasyon ve kuppferin yıldız hücrelerinde hafif aktivasyon artışı mevcuttu (Resim 10).

*Ganoderma lucidum*'un 120 mg verilen grubunda ise karaciğer hücrelerinde akut hücre şişkinliği, hidropik dejenerasyon ve nekrotik değişikliklerin mevcut olduğu ancak diyabetik kontrol grubuna göre lezyonların şiddetinde azalma tespit edildi (Resim 11).

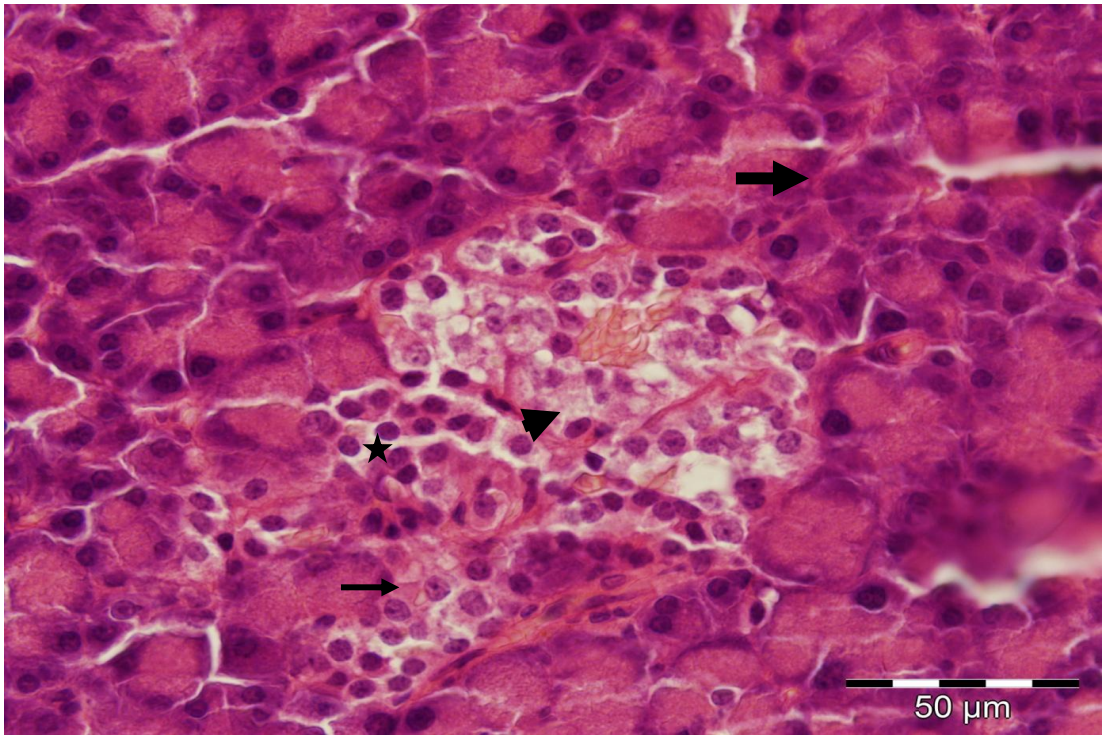
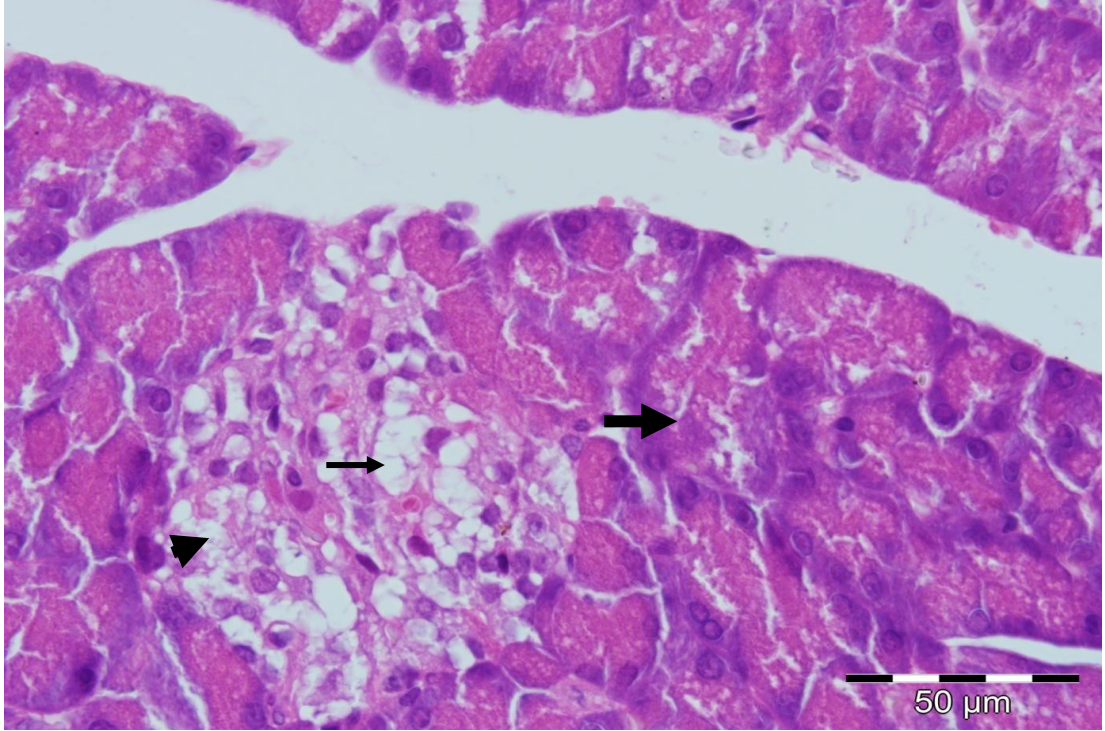
*Ganoderma lucidum*'un 180 mg verilen grubunda ise *Ganoderma lucidum*'un 120 mg verilen grubuna benzer şekilde karaciğer hücrelerinde şişkinlik, akut hücre şişkinliği ve nekrotik değişikliklerin mevcut olduğu ancak diyabetik kontrol grubuna kıyasla lezyonların şiddetinde azalma belirlendi (Resim 12).



**Resim 2:** Kontrol grubu rat pankreasının histolojik görünümü. → Pankreasın ekzokrin kısmı ve Langerhans adacığı normal görünümde. H.E. (Bar = 50 µm).

**Resim 3:** GLP kontrol grubuna ait rat pankreasının histolojik görünümü. → Pankreasın ekzokrin kısmı ve → Langerhans adacığı normal görünümde. H.E. (Bar = 50 µm).

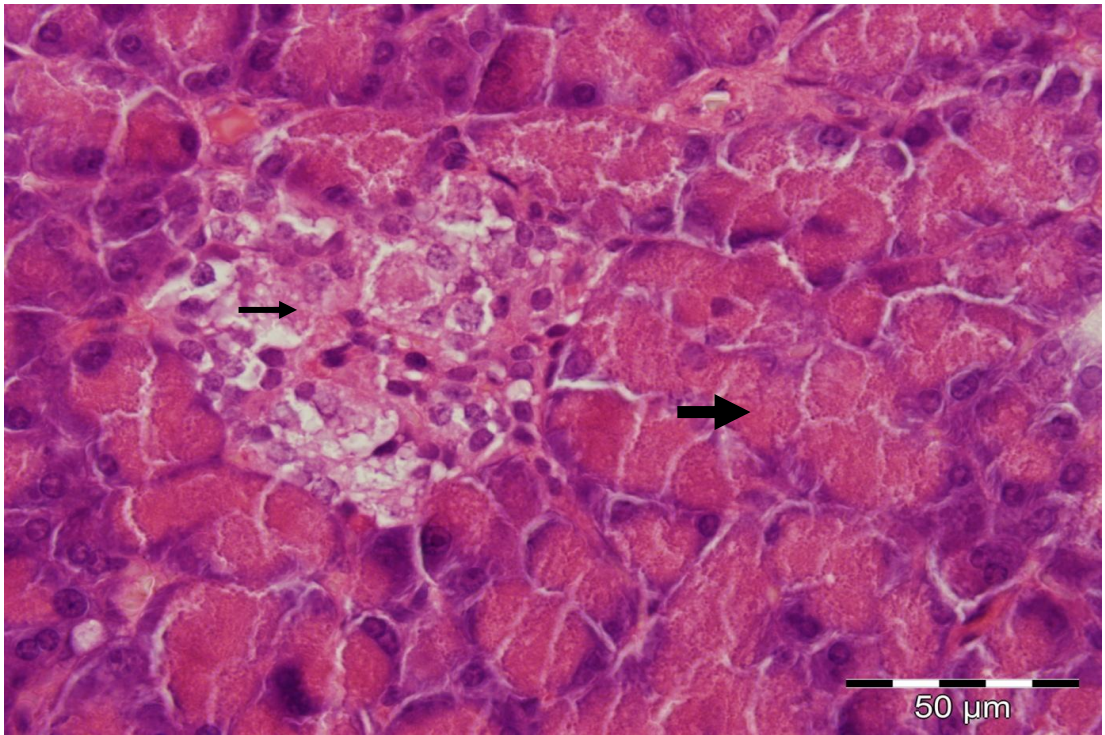
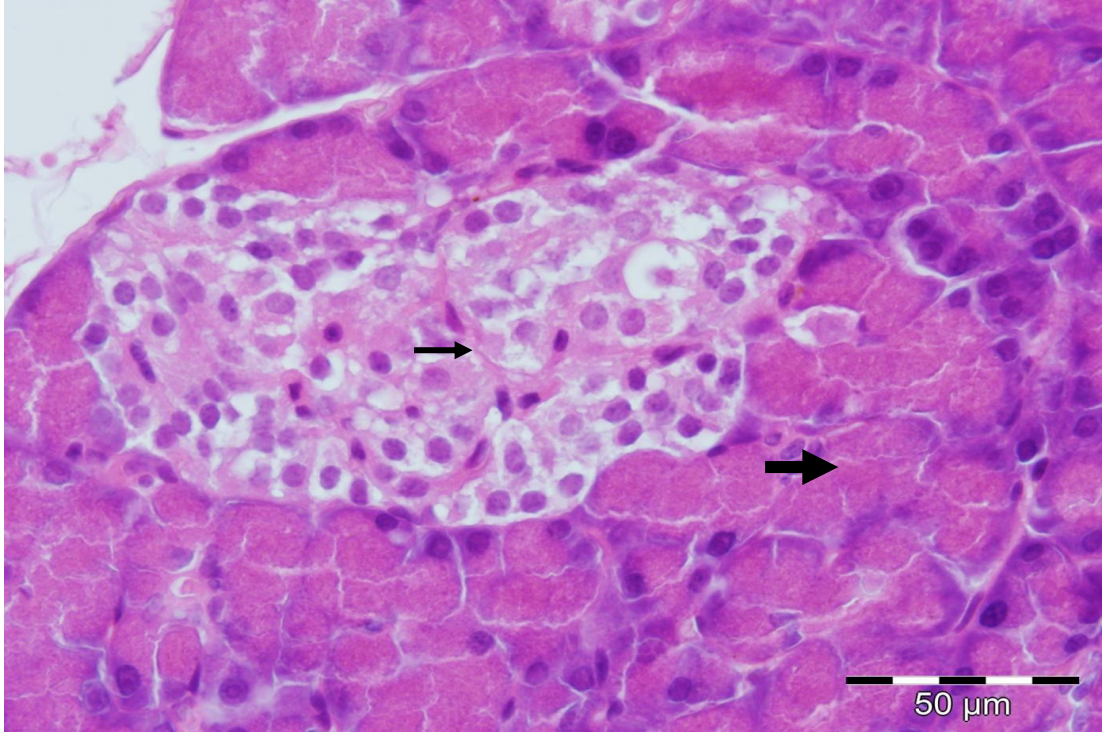




**Resim 4:** DK grubuna ait pankreasın histopatolojik görünümü. Pankreasın ekzokrin kısmı normal görünümünde. Merkezdeki hücrelerde nekroz Langerhans adacığında hücresellikte azalma. H.E. (Bar = 50 µm).

**Resim 5:** GLP 60 mg'lık gruba ait pankreasın histopatolojik görünümü. Pankreasın ekzokrin kısmı normal görünümünde ve düzensizlik, merkezde hücresellikte azalma ve Langerhans adacığında sınırlarında periferde hücre yoğunlaşması. H.E. (Bar = 50 µm).

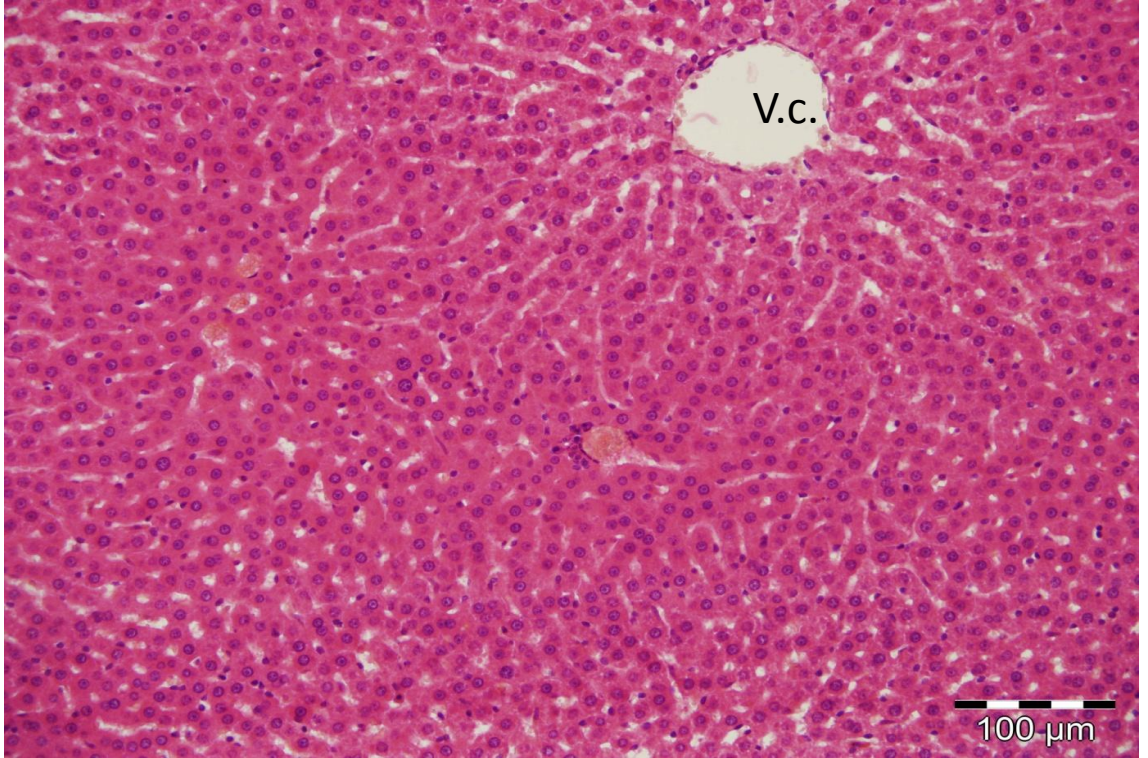




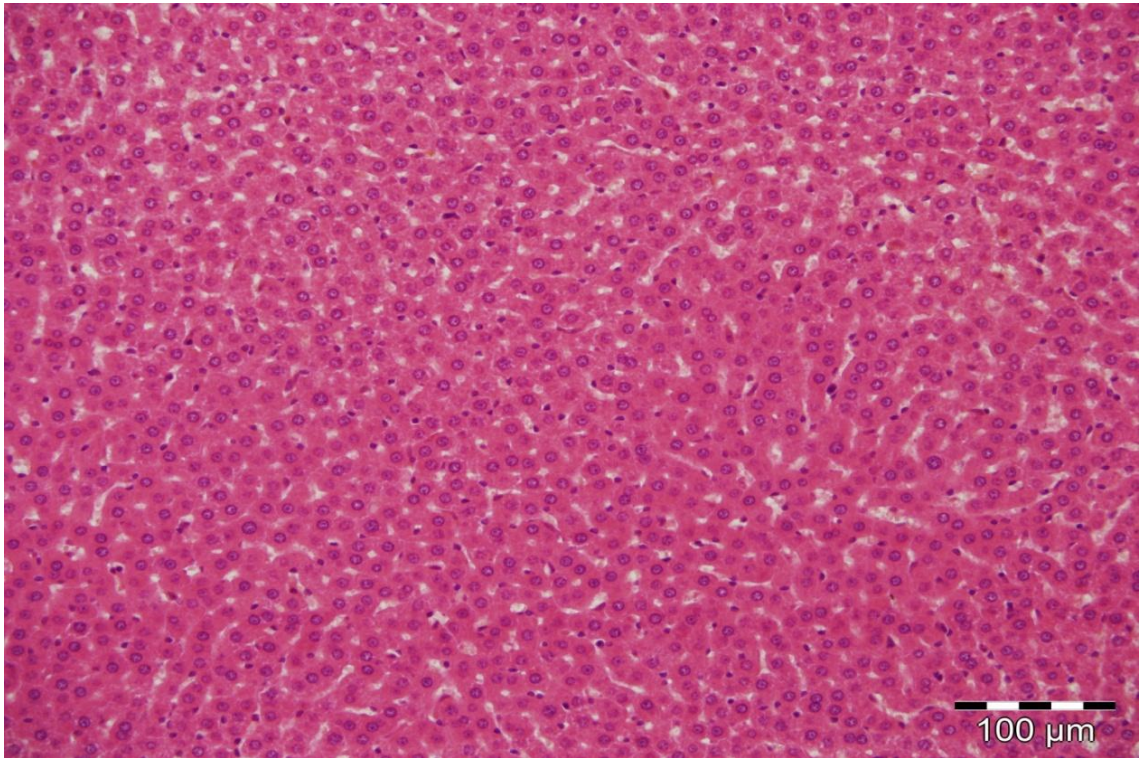
**Resim 6:** GLP 120 mg'lık gruba ait pankreasın histopatolojik görünümü. Pankreasın ekzokrin kısmı normal görünümünde ve Langerhans adacığında merkezde hüresellikte azalma H.E. (Bar = 50 μm).

**Resim 7:** GLP 180 mg'lık gruba ait pankreasın histopatolojik görünümü. Pankreasın ekzokrin kısmı normal görünümünde ve Langerhans adacığında merkezde hüresellikte azalma H.E. (Bar = 50 μm).



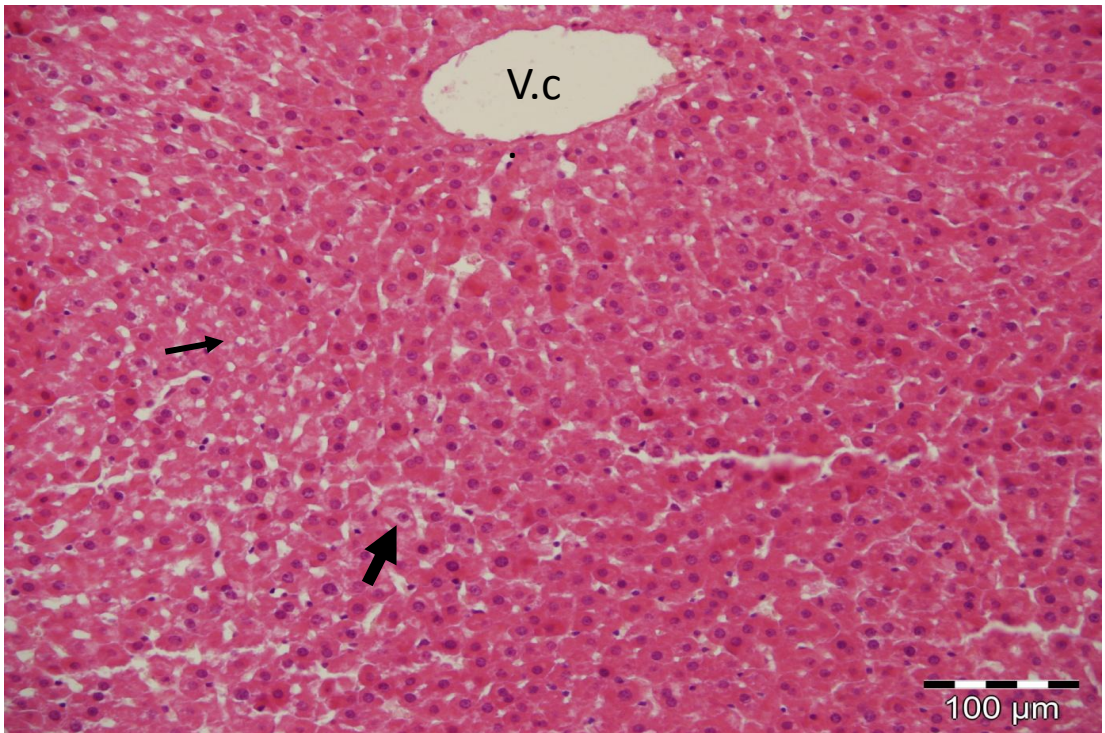
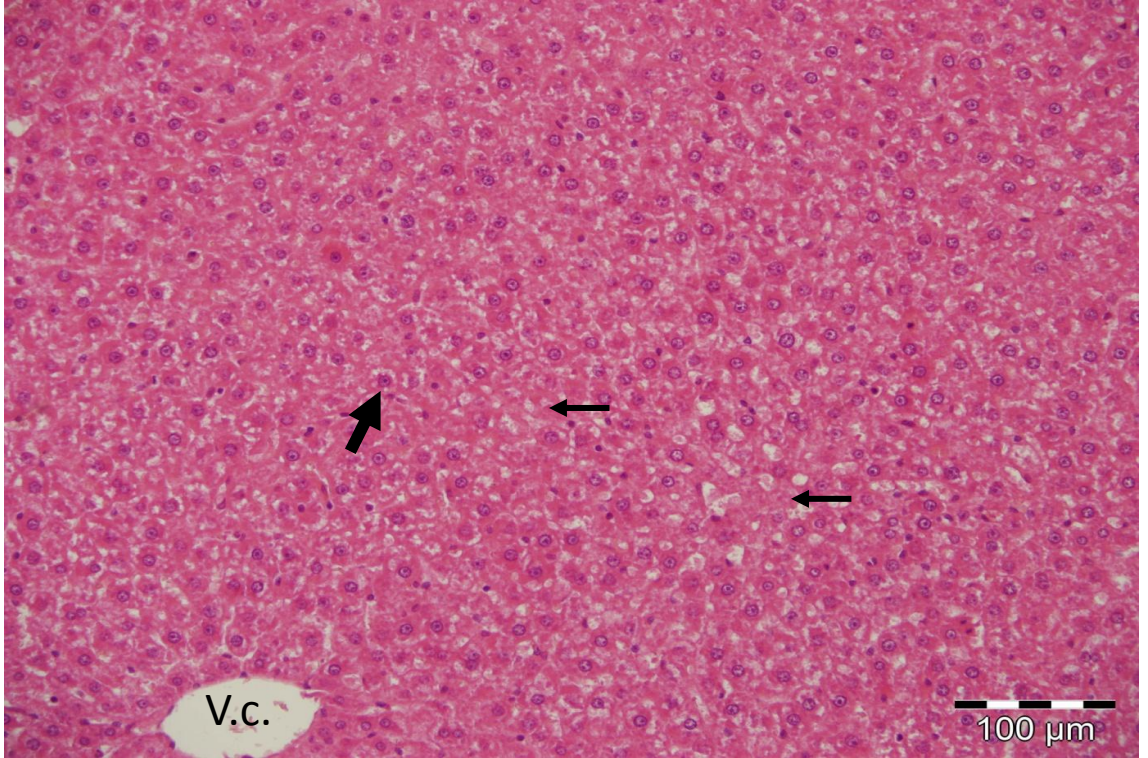


**Resim 8:** Kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. V.c. Vena centralis. H.E. (Bar = 100 µm).



**Resim 9:** GLP kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. H.E. (Bar = 100 µm).

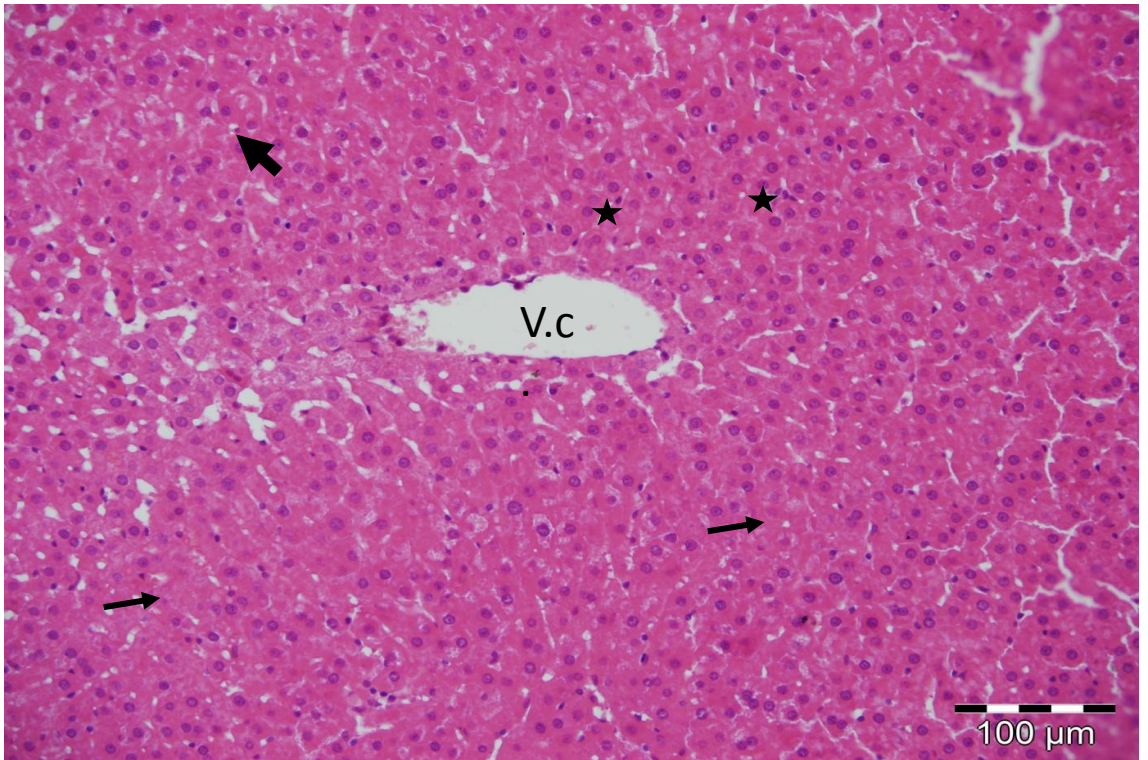
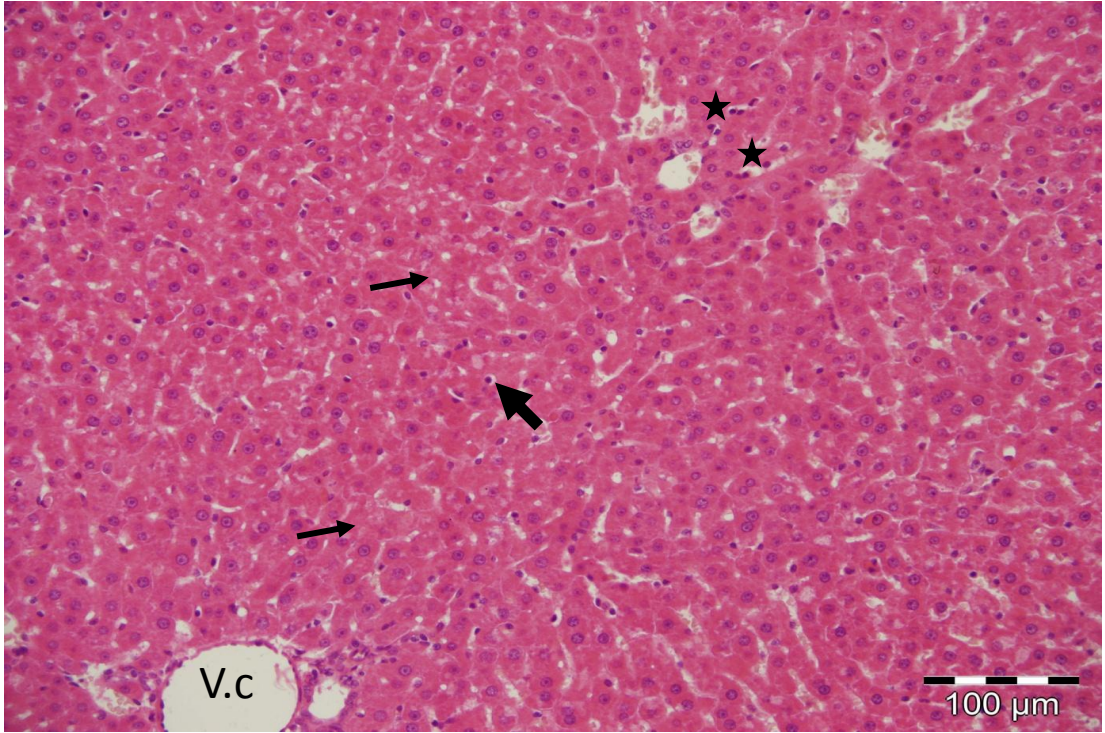




**Resim 10:** DK grubuna ait karaciğerin histopatolojik görünümü. ➡ Hepatositlerde dejenerasyon ve ➡ nekroz. V.c. Vena centralis. H.E. (Bar = 100 μm).

**Resim 11:** GLP 60 mg/kg'lık gruba ait karaciğerin histopatolojik görünümü. ➡ Hepatositlerde dejenerasyon ve ➡ nekroz. V.c. Vena centralis. H.E. (Bar = 100 μm).





**Resim 12:** GLP 120 mg/kg'lık gruba ait karaciğerin histopatolojik görünümü. **➔** Hepatositlerde dejenerasyon ve **➔** nekroz. **★** Kupfferin yıldız hücrelerinde aktivasyon artışı. **V.c.** Vena centralis. H.E. (Bar = 100 μm).

**Resim 13:** GLP 180 mg/kg'lık gruba ait karaciğerin histopatolojik görünümü. Hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz. Kupfferin yıldız hücrelerinde aktivasyon artışı. **V.c.** Vena centralis. H.E. (Bar = 100 μm).

#### 4. FARTIŞMA VE SONUÇ ★

Diyabetes mellitus insülin eksikliği ya da etkisindeki defektler nedeni ile organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren kronik bir metabolizma hastalığıdır (23). Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre 2000 yılında 171 milyon olan diyabetli kişi sayısının 2030 yılına kadar iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir (112).

Diyabette gözlenen sürekli hiperglisemi, tüm dokularda glukozdan otooksidasyon ve protein glukozilasyon ile başta reaktif oksijen türleri (ROS) olmak üzere serbest radikal oluşumunu arttırır. Diyabette ROS artışı reaktif oksijen türlerinin artmasından kaynaklanabildiği gibi CAT, GSH ve SOD antioksidanlarının azalmasından da kaynaklanabilmektedir (65). Kalıcı hiperglisemiye bağlı olarak meydana gelen artmış poliyol yolu aktivitesi, doku antioksidan savunma sistemlerinde harabiyet meydana getirerek (103) dokulardaki oksidatif hasar oluşumunu arttırmaktadır.

Karaciğer glukoz metabolizması için önemli bir organ olmasından dolayı hiperglisemi sonucu meydana gelen oksidatif stres bu dokuda hasara sebep olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada (98), deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanların karaciğerlerinde antioksidan enzim aktiviteleri ile glutasyon seviyelerinde kontrollere kıyasla önemli oranda azalış belirtilmiştir.

*Ganoderma lucidum*'un hem meyve gövdesinden elde edilen ekstraktları hem de farklı bileşenleri kullanılmak suretiyle diyabet üzerinde birçok deneysel çalışmalar yapılmıştır (45, 62, 92). Yapılan bu çalışmalar sonucunda *Ganoderma lucidum* ve bileşenlerinin total antioksidan seviyeyi arttırmak suretiyle oksidan miktarını ve kan glukoz seviyesini azalttığı; bunu da *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin antioksidan özellikleri sayesinde pankreasın beta hücrelerini oksidatif hasardan koruyarak yaptığı ifade edilmektedir. Aynı zamanda bu özelliğinde pankreasın beta hücrelerinden insülin salgılanmasını uyarmasının da etkili olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin ince barsaklardan glukoz emilimini yavaşlatarak kan glukoz seviyesini belirli bir oranda tutup insülin sekresyonunu dolaylı olarak kontrol ettiği de bildirilmiştir (116). *Ganoderma lucidum*'un su ile

elde edilen ekstraktlarının bir karaciğer enzimi olan ve glikoneogenezisten sorumlu tutulan pirüvat karboksilaz ve fosfoenolpirüvat karboksikinazın (PEPCK) sekresyonunu baskılayarak glukozun kana geçişini yavaşlattığı da belirtilmiştir (62).

Yapılan birçok çalışmada, deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda kan glukoz seviyelerinin arttığı belirtilmiştir (45, 67, 72). Mohammed ve ark. (2007), alloxan ile diyabet oluşturdukları *Wistar albino* ratlara intraperitoneal olarak 250, 500, 1000 mg/kg tek doz olarak *Ganoderma lucidum*'un su ile elde ettikleri ekstraktlarını uygulamış; sonuçta, 250 mg/kg doz uygulanan ratların kan glukoz seviyelerinde diyabet kontrol grubuna göre bir değişiklik belirlenemezken, 500 ve 1000 mg/kg dozlarında uygulanan grupların kan glukoz seviyelerinde ise istatistiksel olarak önemli bir azalma tespit edilmiştir (78). Li ve ark. (2011) da, streptozotosin ile diyabet oluşturdukları farelere 28 gün süresince 50 ve 150 mg/kg dozunda bazal diyetle verdikleri *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin, kan glukoz düzeylerini diyabet kontrol grubuna göre azalttığını fakat bu azalışın sadece 150 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir (62). Benzer şekilde, Seto ve ark. (2009) da, genetik olarak tip 2 diyabetli farelere oral gavaj ile *Ganoderma lucidum*'un su ile ekstre edilmiş ekstraktlarından 4 hafta süresince 3, 30 ve 300 mg/kg dozlarında vermiş, sonuçta 300 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* verilen grubun kan glukoz seviyelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir şekilde azaldığı, ancak diğer deneme gruplarının kan glukoz seviyelerinde herhangi bir değişikliğin olmadığını bildirmişlerdir (94). Yine, Jia ve ark. (2009) yaptıkları bir çalışmada, streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturdukları *Wistar albino* ratlara oral olarak 60, 120, 180 mg/kg dozlarında *Ganoderma lucidum* polisakkaritleri vermiş ve sonuçta uygulanan tüm dozların diyabet kontrol grubuna göre kan glukoz değerlerini istatistiksel olarak düşürdüğünü ifade etmişlerdir (45). Ancak bizim çalışmamızda tüm diyabet boyunca (3. ile 27. gün arası) açlık kan glikoz düzeyleri arasındaki farka bakıldığında, *Ganoderma lucidum*'un farklı dozlarının (60, 120 ve 180 mg/kg) açlık kan glikoz seviyelerini diyabetik kontrol grubuna kıyasla yükselttiği gözlenmiştir. Bu bakımdan bulgularımız Jia ve ark., (2009), Li ve ark (2011) ile Seto ve ark. (2009)'nın sonuçları ile farklılık göstermektedir. Ayrıca 120 mg/kg doz uygulanan grubun belirlenen kan glikoz seviyelerinin çalışmanın sonunda diyabetik kontrol grubu ile aynı düzeyde olduğu da

dikkat çekmiştir. Bizim sonuçlarımızın diğer çalışmalardan farklı olmasının nedenini, *G. lucidum*'un biyolojik etki spektrumundaki genişlik, yapısında bulunan alkaloidler, aminoasitler, peptitler, inorganik elementler, steroidler, yağ asitleri, polisakkaritler, triterpenler ve organik asitlerin çeşitliliğine bağlayabiliriz (16).

Diyabette hücrelerin ihtiyaç duyduğu glukozun elde edilebilmesi için meydana gelen lipolizis ve glikoneogenesis, vücut ağırlığında azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenle kilo kaybı diyabette en sık rastlanan bulgulardandır (15, 72, 73). Bu konuda yapılan birçok çalışmada (15, 27, 72, 73) diyabette vücut ağırlığının önemli şekilde azaldığı ifade edilmiştir. Yine Li ve ark. (2011), streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulmuş farelerde 50 mg/kg dozundaki *Ganoderma lucidum*'un vücut ağırlığının değiştirmedini, 150 mg/kg dozunda ise vücut ağırlığında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir (62). Benzer şekilde, Seto ve ark (2009) çalışmalarında, genetik olarak diyabetli olan farelerde *Ganoderma lucidum* ekstraktlarının 3 ve 30 mg/kg dozlarında vücut ağırlığında herhangi bir değişikliğe neden olmadığını, ancak 300 mg/kg dozunda vücut ağırlığında istatistiksel bakımdan önemli bir azalışa neden olduğunu belirlemişlerdir (94). Biz ise çalışmamızda, deneysel olarak diyabet oluşturduğumuz *Wistar albino* ratlara 60, 120 ve 180 mg/kg dozlarında oral olarak verdiğimiz *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin hayvanların vücut ağırlıklarında herhangi bir değişikliğe neden olmadığını belirledik. Çalışmamızdaki deneysel diyabet modelinde *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin ve bileşenlerinin vücut ağırlıkları üzerindeki bu etkisini yağ asitlerinin serbest kalmasını engellemede insuline destek oluşuna bağlanabilir.

Diyabette trigliserit miktarının yükselmesine karşın HDL kolesterol düzeyinin düşmesi LDL kolesterolün yükselmesine neden olur (62). Yapılan çalışmalarda diyabette total kolesterol seviyelerinin arttığını (27), hem total kolesterol hem de trigliserit seviyelerinin arttığını (48) ve trigliserit seviyelerinin azalmasına karşın total kolesterol düzeylerinin ise değişmediğini (108) ifade eden çelişkili bulgular mevcuttur. Ramakrishna ve Jailkhani (2007), Tip I diyabette total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL kolesterol seviyelerinin belirgin bir şekilde yükselmesine karşın HDL kolesterol seviyelerinin azaldığına dikkat çekmiştir (87). Yine, Meng ve ark (2011), Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş *Sprague Dawley* ratlarında total

kolesterol ve trigliserit düzeylerinin önemli şekilde arttırdığını; 200, 400 ve 800 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* uygulamasının lipit profilinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını belirtmişlerdir (75). Li ve ark. (2011), streptozotosin ile diyabet oluşturdukları farelerde artan LDL, total kolesterol ve trigliserit düzeylerinin 50 ve 150 mg/kg dozlarında *Ganoderma lucidum* uygulaması ile azaldığını, bunun yanı sıra HDL kolesterol düzeylerini ise önemli şekilde arttırdığını ifade etmişlerdir (62). Yine yapılan bir çalışmada (90) sağlıklı *Mus musculus* farelere bazal diyetle rasyonun %85 ve %50'sini oluşturacak oranda verilen kurutulmuş *Ganoderma lucidum* meyvalarının kontrol grubuna kıyasla total kolesterol düzeylerini değiştirmedığını, LDL ve VLDL kolesterol düzeylerini ise her iki grupta da azalttığını, bununla birlikte HDL kolesterol düzeylerini ise arttırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da diyabetik kontrol grubunun total kolesterol, trigliserit, VLDL, LDL ile HDL düzeylerinde önemli oranda artış tespit edilmiştir. Bu yönden bulgularımız (HDL kolesterol hariç) Ramakrishna ve Jaiikhani (2007) ile uyumluluk göstermektedir. Diyabetik kontrol grubunun serum trigliserit ve total kolesterol düzeylerindeki artışın nedeni olarak; insülinin yetersizliği veya azlığı sonucu hormona duyarlı lipaz enzimini aktive etmesi ile birlikte periferik depolardaki serbest yağ asitlerinin artan mobilizasyonundan kaynaklanmış olabileceğini söylemek mümkündür. Ancak, *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin verildiği gruplarda total kolesterol, trigliserit, VLDL ile HDL kolesterol düzeylerinde diyabetik kontrol grubuna kıyasla önemli bir farklılık gözlenmemekle birlikte, LDL kolesterol düzeylerinde ise diyabetik kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak önemli bir azalış belirlendi. LDL kolesterol düzeylerindeki düşüş, *Ganoderma lucidum*'un karaciğerde kolesterol sentezini yavaşlatmasından kaynaklanmış olabilir.

Gıdalar ile vücuda alınan karbonhidratlar pankreastan salınan pankreatik amilaz ve ince barsaklardan salınan alfa glikozidaz enzimleri yardımıyla parçalanarak oligosakkaride dönüştürülmek suretiyle emilirler. Bu enzimlerin salınımının azaltılması ile karbonhidratların emilimi geciktirildiğinde emilim daha distale kolona kayarak ikinci saat plazma glukozu düzeyini azaltır (23). Yapılan bir çalışmada (84) Tip II diyabetli hastalarda pankreatik amilaz düzeylerinin değişmediği ifade edilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda da kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarının benzer olan pankreatik amilaz düzeylerinin diyabetik kontrol grubunda



önemli şekilde azaldığı; ancak 60, 120 ve 180 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* uygulanan grupların pankreatik amilaz değerlerinde önemli bir değişiklik belirlenemedi.

Bazı çalışmalarda oksidan (108) ve antioksidan (27) seviyelerin diyabette değişmediği ifade edilmiş olmakla birlikte birçok araştırmacının (57, 87, 107) hemfikir olduğu konu; gerek deney hayvanlarında gerekse insanlarda diyabet durumunda oksidan seviyelerinin arttığı buna ek olarak antioksidan seviyelerinin ise azaldığıdır. Birçok çalışmada (32, 51, 64, 96) *Ganoderma lucidum*'un hücrel DNA'yı oksidatif hasara karşı koruyan biyolojik aktif bileşikler içerdiği bildirilmiştir. Keza, *Ganoderma lucidum* ekstraktlarının DNA'yı serbest radikallerin neden olduğu hasarlara karşı koruduğu ifade edilmektedir (97). Zhang ve ark. (2003), alloksan ile diyabet oluşturdukları *Swiss albino* farelerin pankreas dokularında MDA düzeylerinin önemli şekilde arttığını; ancak intraperitoneal olarak uygulanan 50 ve 100 mg/kg dozundaki *Ganoderma lucidum*'un MDA değerlerini değiştirmediğini, 200 mg/kg *Ganoderma lucidum*'un ise önemli şekilde azalttığını belirtmişlerdir (115). Jia ve ark. (2009), STZ ile diyabet oluşturdukları *Wistar albino* ratların plazma ve karaciğerlerinde oksidan seviyelerinin arttığını; 60, 120 ve 180 mg/kg dozunda verilen *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin ise oksidan düzeylerini önemli şekilde azalttığını ifade etmişlerdir (45). Benzer şekilde biz de çalışmamızda, diyabetik kontrol grubunun pankreas dokusunda yüksek olan total oksidan düzeylerinin farklı (60, 120 ve 180 mg/kg) dozlarda *Ganoderma lucidum* uygulanması ile önemli şekilde azaldığını belirledik. Yine çalışmamızda eritrositlerin total oksidan seviyelerinde herhangi bir değişiklik gözlemezken; diyabetik kontrol grubunun karaciğer dokusunda yüksek olan total oksidan düzeylerinin 60 ve 120 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* gruplarında düştüğünü, ancak 180 mg/kg'lık grupta bu düşüşün önemli olduğunu tespit ettik. Fakat karaciğer dokusunda total antioksidan seviyeler bakımından 60, 120 ve 180 mg/kg'lık *Ganoderma lucidum* uygulamalarının önemlilik arz etmediğini belirledik. Bununla birlikte çalışmamızın 180 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* verdiğimiz grubunun serum total oksidan seviyelerinin diyabetik kontrol grubuna göre önemli olmayan bir azalış gösterdiğini saptarken, 60 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* uyguladığımız grubun total antioksidan seviyelerini diyabetik kontrol grubundan daha düşük olarak tespit ettik.

Çalışmamızda kontrol grubunun serum örnekleri ile 60 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* polisakkaritleri verilen grubun karaciğer örneklerinde total oksidan seviyeleri ile total antioksidan seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki belirlendi. Yine Tabur ve ark. (2010) da diyabetik olmayan metabolik sendromlu ve obez kişilerde total oksidan seviyeleri ile antioksidan seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ifade etmişlerdir (99). Bununla birlikte çalışmamızda diğer grupların doku ve örneklerinin TOS ve TAS düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon belirlenmedi. Tüm bunlara ek olarak HDL kolesterol ile LDL kolesterol seviyeleri arasında, TOS ile açlık kan glukoz seviyeleri arasında ise istatistiksel anlamda bir korrelasyon olmadığı görüldü.

STZ ile deneysel olarak diyabet oluşturulmuş denekleri içeren çalışmalarda; hayvanların karaciğerlerinde hidropik ve vakuolar dejenerasyon, sinuzoidal dilatasyon, nekroz, kuppferin yıldız hücrelerinde aktivasyon artışı, hücrelerde hipertrofi tespit edilmiştir (34, 35, 92). Yapılan çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda da diyabetik kontrol grubunun karaciğer dokusunda akut hücre şişkinliği, hidropik dejenerasyon, bazı hepatositlerde vakuolar dejenerasyon özellikle asiner ve midzonal bölgedeki hepatositlerde yer yer nekrotik değişiklikler tespit edildi. Bunun yanı sıra karaciğer hücrelerinde dissosiasyon ve Kuppferin yıldız hücrelerinde hafif aktivasyon artışı saptandı (Resim 9). Ancak, bazı araştırmacıların karaciğer hücrelerinde tespit ettiği şiddetli yağ dejenerasyonu yaptığımız çalışmada saptanmadı (22). Bunun muhtemel nedeninin, kullanılan hayvan türlerinin ve deney düzeneğinin farklarından kaynaklanmış olabileceği kanaatine varıldı.

60 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* polisakkariti verilen grubun diyabetik kontrol grubu ile karşılaştırılmasında karaciğerde saptanan dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin benzer şekilde olduğu saptandı. 60 mg/kg dozunda verilen *Ganoderma lucidum* polisakkaritinin karaciğer üzerinde herhangi bir koruyucu etkisi olmadığı tespit edildi. Bu bulgular karaciğer dokusunda elde ettiğimiz fizyolojik parametrelerin sonuçlarıyla da uyumluluk göstermektedir.

Bununla birlikte, kontrol grubu ile 120 mg/kg ve 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakkariti verilen gruplar karşılaştırıldığı zaman 120 ve 180 mg/kg'lık dozlarının STZ'nin zararlı etkilerini hafiflettiği, fakat tam anlamıyla karaciğer koruyucu bir etki

yapmadığı tespit edildi. Bu bulgular fizyolojik parametrelerimizle uyumluluk göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda STZ'nin beta hücrelerinde selektif yıkıma neden olduğu, ekzokrin pankreasta ise herhangi bir histopatolojik bulguya neden olmadığı (83, 106) saptanmıştır. Yaptığımız çalışmada önceki çalışmalara paralel ekzokrin pankreasta herhangi bir patolojik bulgu tespit etmedik. Bunun yanında önceki çalışmalara (83, 106) paralel olarak; diyabetik kontrol grubunda Langerhans adacıkları yapısında düzensizleşme, küçülme ve hücreliliğinde azalma, adacık merkezindeki hücrelerde sayıca azalma, nekroz ve periferindeki hücrelerde yer yer yığılmalar tespit ettik. Diyabet grubunda olduğu gibi diğer deneme gruplarında da benzer şekilde adacık merkezindeki hücrelerde sayıca azalma tespit edildi. Bu bulgular STZ ile diyabet oluşturulan deneklerde *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin endokrin pankreas üzerinde herhangi bir koruyucu etkisinin olmadığını göstermektedir.

#### **Sonuç olarak;**

- ✓ Streptozotosin ile diyabet oluşturulan *Wistar albino* ratlara 60, 120 ve 180 mg/kg dozunda *Ganoderma lucidum* polisakkaritleri uygulamasının diyabetin en önemli komplikasyonlarından olan hiperglisemi üzerinde istatistiksel açıdan önemli herhangi bir etki tespit edilemedi. Bunun nedeni olarak da *G. lucidum*'un biyolojik etki spektrumundaki bileşenlerinin (alkoloidler, aminoasitler, peptitler, inorganik elementler, steroidler, yağ asitleri, polisakkaritler, triterpenler ve organik asitlerin) çeşitliliğini söyleyebiliriz.
- ✓ *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin uygulanan dozlarda diyabetle birlikte serumda artan total kolesterol, trigliserit, VLDL ve HDL kolesterol düzeylerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığını, ancak diyabet ile birlikte artan LDL seviyelerini ise oldukça önemli düzeylerde azalttığını belirledik. Bu bakımdan *Ganoderma lucidum* (yapısındaki steroidler sayesinde) kullanımının diyabetin komplikasyonu olarak şekillenen hiperlipidemiye azaltıcı yönde etki gösterdiği kanaatine vardık.
- ✓ *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin total antioksidan seviyeleri üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı ancak, pankreas dokusunda 60, 120 ve

180 mg/kg; karaciğer dokusunda ise 180 mg/kg dozun total oksidan seviyelerini azaltıcı yönde oldukça etkili olduğunu gözlemledik. Bu açıdan bakıldığında *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin yapısındaki organik germanyum aracılığıyla total oksidan seviyelerini azaltıp diyabete bağlı oluşabilecek oksidatif hasarı önlediğini söylemek mümkündür.

- ✓ STZ ile oluşturulmuş diyabet modelinde 180 mg/kg *Ganoderma lucidum*'un 21 gün boyunca uygulamasının karaciğer dokusunu oksidatif hasardan korumakta kısmen başarılı olduğunu, antioksidan düzeyini arttırmada ve glukoz düzeyini düşürmede ise etkili olmadığını söyleyebiliriz. Farklı dozlarda ve daha uzun sürelerde *Ganoderma lucidum* uygulamasının diyabetik sıçanlarda glikoz oksidasyonun etkisini gösteren yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu ve ayrıca diyabette tam bir koruma sağlanabilmesi için mutlaka glukoz ve insulin değişimine etkili başka bir ilaçla beraber kullanımının araştırılması gerektiğini söyleyebiliriz

## 5. ÖZET

Bu çalışmada, deneysel olarak diyabet oluşturulmuş ratlara eksojen olarak verilen *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin diyabete bağlı şekillenen oksidatif stres ve lipit profili üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Bu amaçla, her grupta 10 adet olmak üzere 6 gruptan oluşan 60 adet 4-5 aylık *Wistar albino* rat kullanıldı. Kontrol ve *Ganoderma lucidum* kontrol gruplarına herhangi bir uygulama yapılmazken; deneme grubundaki hayvanlara intraperitoneal olarak 50 mg/kg dozunda Streptozotosin enjeksiyonu yapılarak diyabet oluşturuldu. Diyabet oluşturduğumuz hayvanları ise diyabetik kontrol ile oral olarak 60, 120 ve 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakkariti verilen gruplar olarak ayırdık. Tüm gruplar 21 gün boyunca *ad-libitum* olarak beslendi. Ayrıca, çalışma süresince uygulamayı eşitlemek için diyabetik kontrol grubuna oral olarak serum fizyolojik verildi.

Çalışma bitiminde elde edilen numunelerin Total Oksidan ve Total Antioksidan seviyeleri Spektrofotometrede, Total Kolesterol, Trigliserit, HDL, LDL, VLDL kolesterol ile pankreatik amilaz seviyeleri ise otoanalizörde ölçülmek suretiyle belirlendi.

Diyabette açlık kan glukoz düzeylerinin belirgin bir şekilde yükseldiği ( $p<0.05$ ), fakat 60, 120 ve 180 mg/kg dozlarında uygulanan *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin kan glukoz düzeyleri üzerinde azaltıcı bir etkiye sahip olmadığı belirlendi ( $p>0.05$ ).

Diyabetle birlikte uyguladığımız 60, 120 ve 180 mg/kg *Ganoderma lucidum* polisakkariti dozlarının serumda total kolesterol düzeylerini arttırdığı, trigliserit, VLDL ve HDL kolesterol düzeylerinde ise önemli bir değişikliğe neden olmadığı ( $p>0.05$ ); ancak artan LDL kolesterol seviyelerini ( $p<0.05$ ) istatistiksel anlamda azalttığı tespit edildi ( $p<0.05$ ). Bu bakımdan *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin hiperlipidemiye azaltıcı yönde etki gösterdiğini söylemek mümkündür.

Yine çalışmamızda eksojen olarak uyguladığımız *Ganoderma lucidum* polisakkaritlerinin (60, 120, 180 mg/kg) diyabetteki total antioksidan seviyeleri üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı ( $p>0.05$ ) ancak 180 mg/kg dozunda

verilen polisakkaritlerin pankreas ve karaciğer dokularında total oksidan seviyeleri üzerinde oldukça ekili bir şekilde azaltıcı bir rol oynadığı tespit edildi. Nitekim histopatolojik incelemelerde elde ettiğimiz veriler de bu görüşümüzü desteklemektedir. Tüm bu bilgilerden yola çıkarak, bizim kullandığımız türdeki *Ganoderma lucidum* mantarı polisakkaritlerinin, diyabet ile birlikte artan kan glukoz seviyeleri üzerinde etkili olmadığını ancak diyabete bağlı olarak arttığı düşünülen LDL ve total oksidan düzeyleri üzerinde ise oldukça önemli oranlarda azaltıcı bir rol oynadığı kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Tip I diyabet, *Ganoderma lucidum*, polisakkarit, Oksidatif stres, Lipit profili

## 6. ABSTRACT

In this study, we studied the effects of exogenic application of *Ganoderma lucidum* polysaccharide on oxidative stress and hyperlipidemia using induced diabetic rats.

Therefore we used 60 *Wistar albino* rats aged 4-5 months and divided them into 6 groups, with 10 rats in each group. We did not apply any control to control groups and *Ganoderma lucidum* polysaccharide, whereas with a trial group animals we applied an intraperitoneal injection of 50 mg/kg dose of Streptozocine. Among diabetic control animals we created the groups to which we applied as follows 60, 120 and 180 mg/kg of polysaccharides. During the entire experiment the rats were fed *ad-libitum*. In addition, to synchronize the diabetic control group during the study, they were given the physiological saline orally. At the end of the study, we took some samples out of total oxidant and total antioxidant levels and measured them with the spectrophotometer, thereafter we used the autoanalyser to measure the levels of total cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, VLDL cholesterol and pancreatic amylase.

We examined the blood of diabetic fasting rats and the effect was that their glucose level was increased significantly. ( $p < 0.05$ ), nonetheless the dose of 60, 120 and 180 mg/kg of *Ganoderma lucidum* polysaccharides did not reduce the blood glucose level ( $p > 0.05$ ). With the diabetic rats, the dose of 60, 120 and 180 mg/kg of *Ganoderma lucidum* polysaccharides effected in the increase of serum levels of total cholesterol, triglycerides, VLDL, and HDL cholesterol levels, although it was not a significant change ( $p > 0.05$ ), instead, we observed a statistically significant decrease of LDL cholesterol level ( $p < 0.05$ ). According to this study we concluded that polysaccharides effects in the decrease of hyperlipidemia with regard to diabetes.

During the study we applied *Ganoderma lucidum* polysaccharides exogenously (60, 120, 180 mg/kg) and it did not affect the level of total antioxidant in diabetes significantly ( $p > 0.05$ ), however with a dose of 180 mg/kg the total oxidant level in pancreas and liver tissues was reduced significantly and has been considered as crucial fact.

The collected data supported our view on histopathologic examination. Based on all the information, we used one type of fungus *Ganoderma lucidum* polysaccharides which did not influence the blood glucose level in diabetes, whereas with regard to LDL and total oxidants it played a significant role in reducing its levels.

**Key Word:** Type I diabetes, *Ganoderma lucidum*, Polysaccharide, Oxidative stress, Lipid profile



## 6. KAYNAKLAR

1. Acuña-Castroviejo, D., Martín, M., Macías, M., Escames, G., León, J., Khaldy, H, Reiter, R. J., Melatonin, mitochondria, and cellular bioenergetics. *J Pineal Res*, 30(2):65-74, 2001.
2. Altan, N., Dinçel, A. S., Koca, C., Diabetes Mellitus and Oxidative Stress *Türk Biyokimya Dergisi* [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem], 31 (2); 51–56, 2006.
3. Altınışik, M., Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf>.
4. American Diabetes Association, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 30:42-7, 2007.
5. Atalay, M., Laaksonen, D. E., Diabetes, oxidative stres and phsical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine*, 1:1-14, 2002.
6. Atanur, O. M., *Ganoderma lucidum* Mantarlarından Konvansiyonel ve Süperkritik Ekstraksiyon Yöntemleri ile Elde Edilen Ekstrelerin Bileşenlerinin Tanımlanması Çukurova Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2008.
7. Baba, T., Kunimoto, K., Nitta, K., Sata, S., Hashimoto, M., Kohno, Y., et al., *Int. Immunopharmacol*, 8, 569-572, 1986.
8. Bao, X. F., Duan, J., Fang X., Fang, J., Chemical modifications of the (1→3)- $\alpha$ -D-glucan from spores of *Ganoderma lucidum* and investigation of their physicochemical properties and immunological activity. *Carbohydrate Research*, 336, 127–140, 2001.
9. Bao, X. F., Wang, X. S., Dong, Q., Fang, J. N., Li, X. Y., Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 59, 175–181, 2002.
10. Bao, X., Fang, J., Li X., Structural Characterization and Immunomodulating Activity of a complex glucan from spores of *Ganoderma lucidum*. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 65 (11), 2384-2391. 2001.

11. Baynes, J. W., Thorpe, S. R., Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1), 1-9, 1999.
12. Bell, R. H. Jr., Hye, R. J., Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. *J Surg Res*, 35(5):433-60, 1983.
13. Berlett, B. S., Stadtman, E. R., Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem*, 272(33):20313-6, 1997.
14. Bompart, G. J., Prevot, D. S., Bascands, J. L, Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase, and s-transferase activity. *Clin Biochem*, 23: 501-504, 1990.
15. Bukan, N., Sancak, B., Yavuz, Ö., Koca, C., Tutkun, F., Özçelikay, A. T., Altan, N., Lipit peroxidation and scavenging enzyme levels in the liver of streptozotosin-induced diabetic rats, *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, vol. 20, pp. 447-450, December 2003.
16. Cao, Y., Wu, S., Dai, Y., Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom “Lingzhi” *Fungal Diversity*, 56:49–62, 2012.
17. Chang, R., Effective Dose of *Ganoderma* in Humans. In *Proc. Contributed Symposium 59A, B. 5th Intl. Mycol. Congr.*, Buchattnan PK, Hseu RS and Moncalvo J.M (eds), Taipei, P. 101-13, 1994.
18. Chang, S. T., Buswell, J. A., *Mushroom Nutraceuticals*, *World J. Microp. Biotechnol*, 12, 473- 476, 1996.
19. Cheeseman, K. H., Stater, T. F., *An Introduction to Free Radical Biochemistry*, *Brit. Med. Bulletin*. 149 : 481-93, 1993.
20. Comportl, M., *Lipid Peroxidation. Biopathological Significance*, *Mol. Aspect Med.*, 14, 199-207, 1993.
21. Cross, E., *Oxygen radicals and human disease*. *Ann. Intern. Med*, 107: 526 – 545, 1987.
22. Deprem, T., *Sağlıklı ve diabet oluşturulmuş farelerin karaciğer dokusunda glutatyon peroksidaz enziminin immunohistokimyasal lokalizasyonu ve RT PCR ile gen ekspresyonu*. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Kars, 2009.

23. Dinççağ, N., Diabetes Mellitus Tanı ve Tedavisinde Güncel Durum, İç Hastalıkları Dergisi, 18: 181-223, 2011.
24. Erel, O., A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status, Clin Biochem, 38(12):1103-11, Dec 2005.
25. Erel, O., A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin Biochem, 37(2):112-9, Feb 2004.
26. Fantone, J. C., Ward, P. A., Polymorphonuclear leucocyte mediated and tissue injury. Human Pathology, 16: 973-978, 1985.
27. Feillet-Coudray, C., Rock, E., Coudray, C., Grzelkowska, K., Azais-Braesco, V., Dardevet, D., Mazur, A., Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. Clinica Chimica Acta. 284:31-43, 1999.
28. Felix, K., Rockwood, L. D., Pretsch, W., Nair, J., Bartsch, H., Bornkamm, G. W., Janz, S., Moderate G6PD deficiency increases mutation rates in the brain of mice. Free Radical Biology & Medicine, 32, No. 7, 663-673, 2002.
29. Freeman, B. A., Crapo, J. D., Free Radicals and tissue injury. Lab Invest, 47: 412-425, 1982.
30. Friedewald, W. T., Levy, R. I., Frederickson, D. S., Estimation of the Concentration of Low Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge, Clin Chem, 18:499-502, 1972.
31. Guemori, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cunny, G., Siest, G., Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. Clin. Chem, 37: 1932-1937, 1991.
32. Gui, X. F., Wang, L., Yang, Y. H., The study of protecting kidney cortical from radical with the use of *Ganoderma lucidum* injection. Chin J Biochem Pharm, 17, 188 – 190, 1996.
33. Gutteridge, J. M., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem, 41(12 Pt 2):1819-28, 1995.
34. Guven, A., Yavuz, O., Cam, M., Ercan, F., Bukan, N., Comunoglu, C., Gokce, F., Effects of melatonin on streptozotosin-induced diabetic liver injury in rats. Acta Histochem, 108(2):85-93, 2006.
35. Güneş, H. V., Değirmenci, Ş., Aydın, M., Bozan, B., Aral, E., Tunalier, Z., Üstüner, C., Erçakır, M., Başer, K. H. C., Başaran, A., The effects of rumex

- patientia L. and *Urtica dioica* L. on some blood and urine parameters, and liver and kidney histology in diabetic rats. Turk J Med Sci, 29(3):227-32, 1999.
36. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. Methods Enzymol, 186:1-85, 1990.
  37. Halliwell, B., How to characterize a biological antioxidant. Free Radic Res Commun., 1:1, 1990.
  38. Haris, E. D., Regulation of antioxidant enzymes, Faseb. J., vol.6, 2675-2683, 1992.
  39. Hatemi, H., Diabetes Mellitusun Tarihçesi. Aktüel Tp Dergisi, 7:497-499, 1996.
  40. Hatfield, G. L., Barclay, L. R., Bilirubin as an antioxidant: kinetic studies of the reaction of bilirubin with peroxy radicals in solution, micelles, and lipid bilayers. Org Lett, 6 (10): 1539-42, 2004.
  41. Henson, D. E., Block, G., Levine, M., Ascorbic acid: Biologic functions and relation to cancer. J. Natl. Cancer Inst, 83:547, 1991.
  42. Hsu, H. C., Hsu, C. I., Lin, R. H., Kao, C. L., Lin, J. Y., FIP-VVO:A New Fungal Immunomodulatory Protein isolated from *Volvariella volvacea*, Biochem. J, 323, 557-565, 1997.
  43. <http://www.ganoderma-for-health.com/ganoderma-lucidum.html>
  44. Huie, W. C., Din, X., Chromatographic and electrophoretic methods for Linghzi pharmacologically active components. Journal of Chromatography, B,812, 241-257, 2004.
  45. Jia, J., Zhang, X., Hua, Y., Wua, Y., Wang, Q., Lib, N., Guo, Q., Dong, X., Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats, Food Chemistry, Volume 115, Issue 1, Pages 32–36, 1 July 2009.
  46. Jong, S. C., Birmingham, J. M., Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. Advances in Applied Microbiology, 37, 101–134, 1992.
  47. Karataş, G., *Ganoderma lucidum* Üretiminde İnokulum Büyüklüğünün Meyve Oluşturma Hızına Ve Ürün Miktarına Etkisi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 2009.

48. Kashiba, M., Oka, J., Ichikawa, R., Kasahara, E., Inayama, T., Kageyama, A., Kageyama, H., Osaka, T., Umegaki, K., Matsumoto, A., Ishikawa, T., Nishikimi, M., Inoue, M., Inoue, S., Impaired ascorbic acid metabolism in streptozotosin-induced diabetic rats. *Free Radic Biol & Med.* 33 (9):1221-30, 2002.
49. Kayalı, R., Çakatay, U., Protein oksidasyonunun kLİNİK önemi. *Cerrahpaşa J Med*, 35:140-9, 2004.
50. Kılınc, K., Kılınc, A., Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33 2:110-118, 2002.
51. Kim, K. C., Kim, I. G., *Ganoderma lucidum* extract protects DNA from strand breakage caused by hydroxyl radical and UV irradiation. *Int J Mol Med*, 4 (3), 273–277, 1999.
52. Kimura, Y., Okuda, H., Arichi, S., Effects of the extracts of *Ganoderma lucidum* on blood glucose level in rats. *Planta Med*, 54, 290-294, 1988.
53. Kino, K., Yamashita, A., Yamaoka, K., Watanabe, J., Tanaka, S., KO, K., Shimizu, K., Tsunoo, H., Isolation and Characterization of a new Immunomodulatory Protein, Ling Zhi-8, from *Ganoderma lucidum* *J. Biol. Chem*, 264, 472-478, 1989.
54. Kino, K., Mizumoto, K., Sone, T., Yamazi, T., Watanabe, J., Yamashita, A., Yamaoka, K., Shimizu, K., Ko, K., Tsunoo, H., An Immunomodulatory Protein, Ling Zhi-8 (LZ-8) prevents insulinitis in non-obese diabetic mice, *diabetologia*, 33, 713-718, 1990.
55. Kirscher, K. N., Woods, R. J., Solvent interactions determine carbohydrate conformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 98, 10541–10545, 2001.
56. Ko, J. L., Hsu, C. I., Lin, R. H., Kao, C. L., Lin, J. Y., A new Fungal Immunomodulatory Protein, FIP-fve isolated from the edible mushroom, *Flammulina velutipes* and its complete amino acid sequence. *Eur. J. Biochem*, 288, 244–249, 1995.
57. Koca, C., Altan, N., Dincel, A. S., Kosova, F., Sahin, F., Arslan, M., Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hasta serumlarında oksidatif stres ve leptin düzeylerinin incelenmesi. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 6 (3):99-107, 2008.

58. Kruszewski, M., Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat Res*, 531(1-2): 81-92, 2003.
59. Kubota, T., Asawa, Y., Miura, I., Mori, H., Structures of ganodermic acid A and B, two new lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst., *Helv. Chim. Acta*, 65, 611–619, 1982.
60. Kuyvenhoven, J. P., Meinders, A. E., Oxidative stress and diabetes mellitus. Pathogenesis of long term complications. *Eur J Intern Med*, 10: 9-19, 1999.
61. Lenzen, S., The mechanisms of alloxan -and streptozotosin- induced diabetes. *Diabetologia*, 51:216-226, 2008.
62. Li, F., Zhang, Y., Zhong, Z., Antihyperglycemic Effect of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides on Streptozotosin-Induced Diabetic Mice, *Int. J. Mol. Sci*, 12 (9):6135-6145, 2011.
63. Lin, D. X., Discussion on *Ganoderma lucidum* as a supplementary curing of cancer, *Edible Fungi China*, 19, 3-5, 2000.
64. Lin, S. Q., Wang, S. Z., Lin, Z. B., Purification and identification of Glycopeptides from *Ganoderma lucidum* fruit bodies cultivated with grass and wood log. In: Lin, Z.B. (Ed.), *Ganoderma: Genetics, Chemistry, Pharmacology and therapeutics*. Beijing Medical University Press, Beijing, pp. 109–114, 2002.
65. Lipinski, B., Pathophysiology of Oxidative stress in Diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*, 15:203-210, 2001.
66. Ma, J., Ye, Q., Hua, Y., Zhang, D., Cooper, R., Chang, M. N., Chang, J. Y., Sun, H. H., New lanostanoids from the mushroom *Ganoderma lucidum*, *J. Nat. Prod*, 65, 72-75, 2002.
67. Maritim, A. C., Sanders, R. A., Watkins, J. B., Effect of  $\alpha$ -lipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotosin-induced diabetic rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 288-294, 2003.
68. Markiund, S. L., Extracellular Superoxide Dismutase in Human Tissue and Human Cell Lines, *J.Clin. Invest*, vol. 74, 1398-1403, 1984.
69. Maxwell, S. R. J., Prospect for use of antioxidant therapies, *Drugs*, 49(3):345-61, 1995.

70. McNally, J. S., Davis, M. E., Giddens, D. P., Saha, A., Hwang, J., Dikalov, S., Jo, H., Harrison, D. G., Role of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. *Am. J. Physiol Circ Physiol*, 285, 2290-2297, 2003.
71. Meister, A., Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res*, 54(7):1969-75, 1994.
72. Melhem, M. F., Craven, P. A., Derubertis, F. R., Effects of Dietary Supplementation of  $\alpha$ -Lipoic Acid on Early Glomerular Injury in Diabetes Mellitus. *J Am Soc Nephrol*, 12:124–133, 2001.
73. Melhem, M. F., Craven, P. A., Liachenko, C., Derubertis, F. R.,  $\alpha$ -Lipoic Acid Attenuates Hyperglycemia and Prevents Glomerular Mesangial Matrix Expansion in Diabetes. *J Am Soc Nephrol*, 13:108–116, 2002.
74. Mendiratta, S, Qu, Z., James, M., Enzyme Dependent Ascorbate Recycling in Human Erythrocytes: Role of Thioredoxin Reductase Free Radical Biology and Medicine, 25 2: 221-228, 1998.
75. Meng, G., Zhu, H., Yang, S., Wu, F., Zheng, H., Chen, E., Xu, J., Attenuating effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on myocardial collagen cross-linking relates to advanced glycation end product and antioxidant enzymes in high-fat-diet and streptozotocin-induced diabetic rats, *Carbohydrate Polymers*, Volume 84, Issue 1, Pages 180–185, 11 February 2011.
76. Mert, N., Veteriner Klinik Biyokimya, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın, 12, 15-26, Şubat 1997.
77. Mizuno, T., Wang, G. Y., Zhang, J., Kawagihi, H., Nishitoba, T., Li, J. X., Reishi, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*: Bioactive substances and medicinal effects, *Food Rev. Int*, 11, 151- 166, 1995.
78. Mohammed, A., Adelaiye, A. B. Abubakar, M. S., Abdurahman, E. M., Effects of aqueous extract of *Ganoderma lucidum* on blood glucose levels of normoglycemic and alloxaninduced diabetic wistar rats, *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 1(2) pp. 034-037, September 2007.
79. Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W., Harper Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2004.

- 80.** Niki, E., Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phys. Lip*, 44:227-53, 1987.
- 81.** Ooi, L. S. M., Ooi, V. E. C., Fung, M. C., Induction of gene expression of Immunomodulatory cytokines in the mouse by a polysaccharide from *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. KARST. (Aphyllophoromycetidae), *Int. J. Med. Mushrooms*, 4, 27–35, 2002.
- 82.** Ooi, V. E. C., Medicinally important fungi. *Mush. Sci*, 15(1): 41–51, 2000.
- 83.** Özbayer, C., Değirmenci, İ., Kurt, H., Özden, H., Çivi, K., Başaran, A., Güneş, H. V., Antioxidant and free radical-scavenging properties of stevia rebaudiana (Bertoni) extracts and L-NNA in Streptozotosine-Nicotinamide induced diabetic rat liver. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 31 (1):51-60, 2011.
- 84.** Özener, Ç., Bedir, A., Emerk, K., Akoğlu, E., İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus'da Mikroalbuminüri ve İdrar Amilazı, *Official Journal of the Turkish Nephrology Assosiation*, 3: 67-69, 1994.
- 85.** Pang, X., Chen, Z., Gao, X., Liu, W., Slavin, M., Yao, W, Yu, L. L., Potential of a novel polysaccharide preparation (GLPP) from Anhui-grown *Ganoderma lucidum* in tumor treatment and immunostimulation, *J Food Sci*, 72(6):S435-42, 2007.
- 86.** Powell, M., The use of *Ganoderma lucidum* in the management of histamine-mediated allergic responses *Townsend Letter for Doctors and Patients*, Issue 274, p78 May, 2006.
- 87.** Ramakrishna, V., Jaiikhani, R., Evaluation of oxidative stress in insülin dependent diabetes mellitus (IDDM) patients. *Diagnostic Paathology*, 2:22, 2007.
- 88.** Roberts, L. M., Australian Ganoderma: Identification, growth and antibacterial properties. Ph. D. Thesis. Swinburne University of Techonology. Australia. 2004.
- 89.** Robertson, R. P., Harmon, J., Tran, P. O., Poitout, V., Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*, 53 Suppl 1:S119-24, 2004.
- 90.** Rubel, R., Santa, H. S. D., Fernandes, L. C., Bonatto, S. J. R., Bello, S., Figueiredo, B. C., Filho, J. H. C. L., Santos, C. A. M., Soccol, C. R.,



Hypolipidemic and antioxidant properties of *Ganoderma lucidum* (Leyss:Fr) Karst used as a dietary supplement, World J Microbiol Biotechnol Accepted: 25 August 2010, DOI 10.1007/s11274-010-0554-9.

91. Ryvarden, L., Can we trust morphology in Ganoderma. In Ganoderma: Systematics, Phytopathology and Pharmacology, Buchanan, 1995.
92. Sahin, K., Onderci, M., Tuzcu, M., Ustundag, B., Cikim, G., Ozercan. I. H., Sriramoju, V., Juturu, V., Komorowski, J. R., Effect of chromium on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotosin-treated rat. *Metabolism*, 56 (9):1233-40, 2007.
93. Satman, I., Yilmaz, T., Sengül, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., Bastar, I., Tütüncü, Y., Sargin, M., Dinççag, N., Karsidag, K., Kalaça, S., Ozcan, C., King, H., Populationbased study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 25(9):1551-6, 2002.
94. Seto, S. W., Lam, T. Y., Tam, H. L., Au, A. L., Chan, S. W., Wu, J. H., Yu, P. H., Leung, G. P., Ngai, S. M., Yeung, J. H., et al. Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water-extract in obese/diabetic(+db/db) mice. *Phytomedicine*, 16, 426–436, 2009.
95. Shacter, E., Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab. Rev.*, 32 3-4:307-26, 2000.
96. Shi, Y. L., Anthony, E., Iris, F. F., John, A., Mushroom-derived preparations in the prevention of HO-induced oxidative damage to cellular DNA. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 22, 103 – 111, 2002.
97. Sliva, D., *Ganoderma lucidum* (Reishi) in Cancer Treatment. *Integrative cancer therapies*, 2(4): 358-364, 2003.
98. Sugiura, M., Ohshima, M., Ogawa, K., Yano, M., Chronic administration of Satsuma mandarin fruit (*Citrus unshiu* Marc.) improves oxidative stress in streptozotosin-induced diabetic rat liver. *Biol Pharm Bull*, 29(3):588-91, 2006.
99. Tabur, S., Torun, A. N., Sabuncu, T., Turan, M. N., Celik, H., Ocak, A. R., Aksoy, N., Non-diabetic metabolic syndrome and obesity do not affect serum

paraoxonase and arylesterase activities but do affect oxidative stress and inflammation. *European Journal of Endocrinology*, 162:535–541, 2010.

100. Tanyeri, F., Diabetes Mellitus snflandrlmasve prevalans. *Aktüel Tp Dergisi*, 7: 500-503, 1996.
101. Tekkeş, Y., Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitamininin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması (tez). Kahramanmaraş: Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fak. 2006.
102. Thekkuttuparambil, A., Ajith and Kainoor, K., Janardhanan, Indian Medicinal Mushrooms as a Source of Antioxidant and Antitumor Agents, *J Clin Biochem Nutr*, 40(3): 157–162, 2007.
103. Turk, Z., Glycations and complications of diabetes. *Diabetol Croat.* 30:49-54, 2001.
104. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 160(1):1-40, 2006.
105. Vallyatyan, V., SHI, X., The role of oxygen free radicals in occupational and environmental lung diseases. *Environ Health Perspect.* 105; 1, 1997.
106. Vardı, N., Iraz, M., Öztürk, F., Gül, M., Uçar, M., Çetin, A., Nalçacı, N., Otlu, A., Deneysel Diyabetin Sıçan Karaciğerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler Üzerine Melatoninin İyileştirici Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, Cilt: 27, Sayı:5, 2007.
107. Varvarovská, J., Racek, J., Stetina, R., Sýkora, J., Pomahacová, R., Rusavý, Z., Lacigová, S., Trefil, L., Siala, K., Stozický, F., Aspects of oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*, 58(10):539-45, 2004.
108. Vessby, J., Basu, S., Mohsen, R., Berne, C., Vessby, B., Oxidative stress and antioxidant status in type 1 diabetes mellitus. *Journal of International Medicine*, 251 (1):69-76, 2002.
109. Wang, S. Y., Hsu, M. L., Hsu, H. C., Tseng, C. H., Lee, S. S., Shiao, M. S., Ho. C. K., Anti-tumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines

- released from activated macrophages and T lymphocytes, *Int. J.Cancer*, 70, 669–705, 1997.
110. Watkins, P. S., Drury, P. L., Howell, S. L., *Diabetes and its management*. Blackwell Co. London, 5th ed., 1996.
  111. Weiss, S. J., Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta. Physiol. Scand*, 548: 9-37, 1986.
  112. Wild, S. H., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27(10), 2569, 2004.
  113. Yang, B. K., Jeong, S. C., Park, J. B., Cho, S. P., Lee, H. J., Das, S., Yun, J. W., Lin. W. J., Song, C. H., Swimming endurance capacity of mice after administration of exo-polymer product from submerged mycelia culture of *Ganoderma lucidum*, *J. Microbiol. Biotechnol*, 11, 902–905, 2001.
  114. Yu, B. P., Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 74:139-162, 1994.
  115. Zhang, H., He, J., Yuan, L., Lin, Z., In vitro and in vivo protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on alloxan-induced pancreatic islets damage, *Life Sciences Volume 73, Issue 18, 19, Pages 2307–2319*, September 2003.
  116. Zhang, H., Lin, Z., Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides, *Acta Pharmacol Sin*, 25 (2): 191-195, 2004.
  117. Zhang, Q., Huang, X., Induction of interleukin-6 by coal containing bioavailable iron is through both hydroxyl radical and ferryl species. *J Biosci*, 28(1):95-100, 2003.
  118. Zhu, S. N., Mori, M., *The Research on Ganoderma lucidum (Part one)*, Shanghai Medical University Press, Shanghai, 346. 1993.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

Aslen Trabzon Of'lu olup, 1981 yılında Tokat İli'nde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Tokat İli'nde tamamladı. Lisans öğrenimini 2006 yılında Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde tamamladı. Mezuniyeti takiben 2 yıla yakın bir süre Erzurum İli Tortum İlçesi'nde özel veteriner kliniğinde serbest veteriner hekim olarak çalıştı. 2008 yılında Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma görevlisi olarak göreve başladı. Yine aynı Anabilim Dalı'nda 2009 yılında doktora öğrenimine başlamış olup halen burada araştırma görevlisi olarak görevine ve doktora öğrenimine devam etmektedir.