



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA  
TİMOKİNON VE VİTAMİN C'NİN KARACİĞER KORUYUCU  
ETKİSİNİN STEREOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL  
OLARAK İNCELENMESİ**

AYŞEGÜL ÖNER  
ANATOMİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Osman YILMAZ

VAN-2024

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA  
TİMOKİNON VE VİTAMİN C’NİN KARACİĞER KORUYUCU  
ETKİSİNİN STEREOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL  
OLARAK İNCELENMESİ**

AYŞEGÜL ÖNER  
ANATOMİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Osman YILMAZ

VAN-2024

Bu araştırma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK 2023 10627 No’lu proje ile desteklenmiştir.

## ETİK BEYAN

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Timokinon ve Vitamin C'nin Karaciğer Koruyucu Etkisinin Stereolojik ve İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan hazırlanmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle danışmanıma aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/ araştırma tarafımızca yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp bu kural ve ilkeler gereği çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin adı: Ayşegül ÖNER

Tarih: 09.12.2024

İmza:

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, en sıkıntılı anlarımda yanımda olduğunu bildiğim eşim Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Cihat ÖNER'e ve bir tanecik kızım Zehra Sena ÖNER'e;

Doktora danışmanlığı süresince emeğini ve desteğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Hüseyin KARADAĞ hocama;

Danışman değişikliği sonrasında danışmanlığımı alan ve bu sürede nazik ve naif tavırları ile her daim desteğini gördüğüm değerli danışman hocam Doç. Dr. Osman YILMAZ'a;

Her zaman yanımda olduklarını bildiğim, bu zamana dek beni büyüten yetiştiren değerli annem ve babam'a; sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu araştırmanın gerçekleşmesi için destek sağlayan, Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Ayşegül ÖNER

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay .....	III
Etik Beyan .....	IV
Teşekkür .....	V
İçindekiler .....	VI
Şekiller Dizini .....	IX
Tablolar Dizini.....	XII
Simgeler ve Kısaltmalar .....	XIII
Özet.....	XV
Abstract.....	XVI
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1    Diyabetin Tanımı ve Sınıflandırılması.....	3
2.1.1. Tip 1 diyabet: .....	3
2.1.2. Tip 2 diyabet: .....	3
2.1.3. Gestasyonel diyabet: .....	4
2.1.4. Diğer nedenlere bağlı diyabet türleri:.....	4
2.2.    Timokinon.....	4
2.3.    Vitamin C.....	7
2.4.    Karaciğer.....	8
2.4.1. Karaciğer Yüzeylei.....	8
2.4.2. Karaciğer Ligamentleri.....	9
2.4.3. Karaciğer Loplari.....	10
2.4.4. Karaciğer damar yapısı.....	12
2.5.    Stereoloji.....	15
2.5.1. Cavalieri yöntemi.....	16
2.5.2. Noktalı alan ölçüm cetvelleri.....	16
2.5.3. Tarafsız sayım çerçevesi.....	17

2.5.4. Sistematik rastgele örnekleme (SRÖ).....	18
2.5.5. Fiziksel disektör sayım yöntemi.....	19
2.6. İmmunohistokimya boyama için belirteçler.....	21
2.6.1. Kaspaz-3.....	21
2.6.2. Bcl-2.....	22
2.6.3. TNF- $\alpha$ .....	23
2.6.4. İnterloklin-10.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	25
3.1 Gereç.....	25
3.1.1. Deney hayvanları.....	25
3.2 Yöntem.....	25
3.2.1. Gruplandırma ve deneysel plan.....	25
3.2.2. STZ ile deneysel diyabetin oluşturulması.....	26
3.2.3. Örneklerin toplanması ve hazırlanması.....	27
3.2.4. Dokuların takibi işlemi.....	27
3.2.5. Hematoksilen Eozin (H&E) boyama.....	28
3.2.6. Stereolojik analiz.....	29
3.2.7. İmmunohistokimyasal boyama.....	30
3.2.8. Biyokimyasal analiz.....	31
3.3 İstatistiksel Analiz .....	31
4. BULGULAR.....	33
4.1 Grupların Kan Glikoz Düzeyleri.....	33
4.2 Stereolojik Bulgular.....	35
4.2.1. Gruplardaki karaciğere ait ortalama toplam hacim değerleri.....	35
4.2.2. Gruplardaki karaciğer ortalama damar hacim yoğunlukları (%)...	36
4.2.3. Karaciğere ait ortalama hacim ölçüm değerleri arasındaki korelasyon.....	38
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	39
4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	43

4.4.1. Kaspaz-3.....	43
4.4.2. Bcl-2.....	47
4.4.3. TNF-alfa (TNF- $\alpha$ ) .....	50
4.4.4. IL-10.....	54
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	58
KAYNAKLAR .....	68
Özgeçmiş.....	76
EKLER.....	77
EK 1. Etik Kurul Raporu .....	77
EK 2. Tez Orijinallik Raporu.....	78

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1	Çörekotu bitkisi tohumu .....	5
Şekil 2	Timokinonun kimyasal yapısı.....	6
Şekil 3	Karaciğerin lob yapısı .....	11
Şekil 4	Rat Karaciğer loblarının şematik olarak gösterimi (ventral).....	11
Şekil 5	Karaciğerin damar yapısı .....	12
Şekil 6	Rat, karaciğer ve ilişkili yapılarının morfometrik veri aralıkları (sırtüstü pozisyon) .....	15
Şekil 7	Noktalı alan ölçüm cetveli.....	17
Şekil 8	Tarafsız sayım çerçevesi.....	18
Şekil 9	Fiziksel disektör uygulamasının şematik gösterimi.....	20
Şekil 10	Disektör ve disektör olmayan taneciklerinin iki boyutlu bir materyalin, iki kesit düzleminde şematik görüntüsü.....	21
Şekil 11	Sıçanlara IP olarak STZ enjeksiyon uygulanması.....	26
Şekil 12	Sayımda kullanılan fotoğraf ataçmanlı araştırma ışık mikroskobu.....	29
Şekil 13	Grupların ortalama kan glukoz düzeylerinin karşılaştırılması.....	34
Şekil 14	Grupların ortalama total karaciğer hacim ölçümlerinin karşılaştırılması	36
Şekil 15	Grupların ortalama damar hacim yoğunluklarının (%) karşılaştırılması.	37
Şekil 16	Gruplara ait ortalama ALT ölçüm değerlerinin karşılaştırılması. ALT: Alanin transaminaz.....	40
Şekil 17	Gruplara ait ortalama AST ölçüm değerlerinin karşılaştırılması. AST: Aspartat transaminaz.....	41
Şekil 18	Gruplara ait ortalama ALP ölçüm değerlerinin karşılaştırılması. ALP: Alkalen Fosfataz.....	42
Şekil 19	Gruplara ait ortalama AST/ALT ölçüm değerlerinin karşılaştırılması...	42
Şekil 20	Kontrol grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	44

<b>Şekil 21</b>	TQ grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	44
<b>Şekil 22</b>	STZ grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	45
<b>Şekil 23</b>	STZ+VİTC grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	45
<b>Şekil 24</b>	STZ+TQ grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	46
<b>Şekil 25</b>	STZ+VİTC+TQ grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	46
<b>Şekil 26</b>	Kontrol grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	47
<b>Şekil 27</b>	TQ grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	48
<b>Şekil 28</b>	STZ grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	48
<b>Şekil 29</b>	STZ+ VİTC grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	49
<b>Şekil 30</b>	STZ+TQ grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	49
<b>Şekil 31</b>	STZ+VİTC+TQ grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x...	50
<b>Şekil 32</b>	Kontrol grubuna ait TNF- $\alpha$ antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	51
<b>Şekil 33</b>	TQ grubuna ait TNF- $\alpha$ antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	51
<b>Şekil 34</b>	STZ grubuna ait TNF- $\alpha$ antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	52
<b>Şekil 35</b>	STZ+VİTC grubuna ait TNF- $\alpha$ antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	52
<b>Şekil 36</b>	STZ+TQ grubuna ait TNF- $\alpha$ antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	53
<b>Şekil 37</b>	STZ+VİTC+TQ grubuna ait TNF- $\alpha$ antikorunun İHK görüntüsü. 40x.	53
<b>Şekil 38</b>	Kontrol grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	54
<b>Şekil 39</b>	TQ grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	55
<b>Şekil 40</b>	STZ grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	55
<b>Şekil 41</b>	STZ+VİTC grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	56
<b>Şekil 42</b>	STZ+TQ grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.....	56



## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>Tablo 1</b>	Doku takip işlemi.....	28
<b>Tablo 2</b>	H&E boyama aşamaları .....	29
<b>Tablo 3</b>	İmmünohistokimya boyama aşamaları.....	30
<b>Tablo 4</b>	Ratların kan glukoz düzeylerine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	33
<b>Tablo 5</b>	Ratların karaciğerlerine ait total hacim ölçüm değerlerinin tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	35
<b>Tablo 6</b>	Ratların karaciğerlerine ait ortalama damar hacim yoğunluklarının (%) tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırma sonuçları.....	36
<b>Tablo 7</b>	Ratların karaciğerlerine ait ortalama total hacim ölçüm değerleri ve damar hacim yoğunlukları arasındaki korelasyon.....	38
<b>Tablo 8</b>	Çalışmada ölçülen bazı biyokimyasal parametrelerin tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırma sonuçları .....	39
<b>Tablo 9</b>	Gruplara göre Ratların karaciğerlerindeki Kaspaz-3, Bcl-2, TNF- $\alpha$ ve IL-10 ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	43

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>STZ</b>	: Streptozotosin
<b>TQ</b>	: Timokinonun
<b>TAS</b>	: Total Antioksidan
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>NS</b>	: Nigella Sativa
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>CK-MB</b>	: Miyokardial Kreatin Kinaz
<b>Fe</b>	: Demir
<b>LHSM</b>	: Lobus Hepatis Sinister Medialis
<b>LHD</b>	: Lobus Hepatis Dexter
<b>LHSL</b>	: Lobus Hepatis Sinister Lateralis
<b>LHDM</b>	: Lobus Hepatis Dexter Medialis
<b>LHDL</b>	: Lobus Hepatis Dexter Lateralis
<b>LC</b>	: Lobus Caudatus
<b>SRS</b>	: Sistemik Rastgele Örnekleme
$\Sigma$	: Toplam
<b>SRÖ</b>	: Sistemik Rastgele Örnekleme
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>PBS</b>	: Fosfat Tamponlu Tuzlu Su

<b>AST</b>	:	Aspartat Aminotransferaz
<b>ALT</b>	:	Alanin Aminotransferaz
<b>ALP</b>	:	Alkalen Fosfataz
<b>R</b>	:	Spearman's Rho Korelasyon Katsayısı.
<b>TNF- <math>\alpha</math></b>	:	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
<b>Bcl-2</b>	:	B-Hücreli Lenfoma Geni 2
<b>IL-10</b>	:	İnterlökin-10
<b>WHO</b>	:	Dünya Sağlık Örgütü
<b>SF</b>	:	Serum Fizyolojik
<b>İP</b>	:	İntra Peritoneal
<b>H&amp;E</b>	:	Hematoksilen Eozin
<b>AH</b>	:	Alzheimer Hastalığı

## Özet

***Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Timokinon ve Vitamin C'nin Karaciğer Koruyucu Etkisinin Stereolojik ve İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van, 2024.*** Diabetes mellitus (DM), insülin yokluğuna veya dokuların insüline duyarlılığında azalmaya bağlı olarak karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında şekillenen bozukluk ile karakterize edilen metabolik bir hastalıktır. Yapılan çalışmada, ratlarda streptozotosin (STZ) ile oluşturulmuş deneysel diyabet modelinde Timokinon ve Vitamin C'nin karaciğer üzerine etkilerinin stereolojik ve immunohistokimyasal (İHK) yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 30 adet erişkin Wistar Albino türü erkek sıçan kullanıldı. Ratlar, Kontrol, Timokinon (TQ), diyabet (STZ), Diyabet+Timokinon (STZ+TQ), Diyabet+Vitamin C (STZ+Vit C), Diyabet+Timokinon+Vitamin C (STZ+TQ+Vit C) olmak üzere 6 gruba ayrıldı (n=6). Kontrol ve TQ grubu hariç diğer 4 gruba deney öncesi STZ (45 mg İ.P) uygulandı. Çalışmanın 3. günü tüm grupların kan şekeri seviyeleri ölçülerek, diyabet gruplarındaki ratlarda diyabet olduğu doğrulandı. Sonrasında tedavi gruplarına oral yolla olarak 21 gün boyunca TQ (50 mg/kg/gün) ve Vit C (500 mg/kg/gün) verildi. Çalışmanın sonunda karaciğer, stereolojik ve İHK olarak değerlendirildi. Stereolojik olarak hacim ölçümleri için Cavalieri metodu uygulandı. İHK olarak, Kaspaz-3, Bcl-2, TNF- $\alpha$  ve IL-10 ekspresyonları değerlendirildi. Bulgularımıza göre; stereolojik olarak hem karaciğerin ortalama total hacim hem de damar hacim yoğunlukları ölçümlerinde STZ grubunda ortalama ölçüm değerinin diğer gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek olduğu tespit edildi (P<0.05). STZ+VİTC+TQ grubu ile Kontrol ve TQ grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (P>0.05). İmmunohistokimyasal olarak, Kaspaz-3 ekspresyonu, STZ grubunda yoğun, STZ+VİTC, STZ+TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarında zayıf, Kontrol ve TQ gruplarında negatif olduğu gözlemlendi. STZ grubunda Bcl-2 aktivasyonu gözlenmezken, diğer grupların hepsinde orta seviyede Bcl-2 ekspresyonu tespit edildi. TNF-  $\alpha$  ekspresyonunun, STZ grubunda yoğun, STZ+TQ grubunda orta, STZ+VİTC grubunda zayıf, Kontrol, TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarında ise negatif seviyede olduğu belirlendi. Kontrol grubunda yoğun, TQ, STZ+VİTC, STZ+TQ, STZ+VİTC+TQ gruplarında orta, STZ grubunda ise zayıf düzeyde IL-10 aktivitesine rastlanıldı. Çalışma sonuçları, STZ ile artan karaciğer hasarının hem TQ hem de C vitamini uygulamalarıyla ayrı ayrı verildiğinde hafiflediğini, ancak birlikte kullanıldıklarında daha etkili sonuçlar elde edildiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabet, Karaciğer, Rat, Timokinon, Vitamin C.

## Abstract

*Stereological and Immunohistochemical Investigation of the Liver Protective Effect of Thymoquinone and Vitamin C in Rats with Experimental Diabetes, Van Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, PhD Thesis, Van, 2024.* Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease characterised by impaired carbohydrate, fat, and protein metabolism due to insulin deficiency or decreased tissue sensitivity to insulin. The aim of this study was to investigate the effects of thymoquinone and vitamin C on the liver in a streptozotocin (STZ)-induced experimental diabetes model in rats using stereological and immunohistochemical (IHC) methods. A total of 30 adult male Wistar albino rats were used in the study. The rats were divided into 6 groups (n=6) as control, thymoquinone (TQ), diabetes (STZ), diabetes+thymoquinone (STZ+TQ), diabetes+vitamin C (STZ+Vit C), diabetes+thymoquinone+vitamin C (STZ+TQ+Vit C). STZ (45 mg i.p.) was administered to the other 4 groups except the control and TQ groups before the experiment. On day 3 of the study, blood glucose levels were measured in all groups and diabetes was confirmed in rats in the diabetes groups. TQ (50 mg/kg/day) and vitamin C (500 mg/kg/day) were then administered orally to the treatment groups for 21 days. At the end of the study, the liver was evaluated by stereology and HRC. The Cavalieri method was used for stereological volume measurements. Caspase-3, Bcl-2, TNF- $\alpha$ , and IL-10 expression were evaluated by IHC. According to our findings; in stereological measurements of both mean total volume and vessel volume densities of the liver, it was found that the mean measurement value in the STZ group was statistically significantly higher than the other groups ( $P<0.05$ ). No significant difference was observed between the STZ+VITC+TQ group and the control and TQ groups ( $P>0.05$ ). Immunohistochemically, caspase-3 expression was intense in the STZ group, weak in the STZ+VITC, STZ+TQ and STZ+VITC+TQ groups and negative in the control and TQ groups. While Bcl-2 activation was not observed in the STZ group, moderate Bcl-2 expression was detected in all other groups. TNF-alpha expression was strong in the STZ group, moderate in the STZ+TQ group, weak in the STZ+VITC group and negative in the control, TQ and STZ+VITC+TQ groups. IL-10 activity was strong in the control group, moderate in the TQ, STZ+VITC, STZ+TQ, STZ+VITC+TQ groups and weak in the STZ group. The results of the study show that STZ-induced liver injury is ameliorated when both TQ and vitamin C are administered separately, but more effective results are obtained when they are used together.

**Keywords:** Diabetes, liver, rat, thymoquinone, vitamin C.

## 1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), insülin yokluğuna veya dokuların insüline duyarlılığında azalmaya bağlı olarak karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında şekillenen bozukluk ile karakterize edilen metabolik bir hastalıktır (Sloten ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2021). Dünya Sağlık Örgütü tarafından, kusurlu insülin sekresyonuna ve/veya etkisine neden olan çeşitli durumların herhangi birinden kaynaklanan kronik hiperglisemi ile karakterize edilen metabolik bir sendrom olarak tanımlanır (Rodriguez-Saldana, 2019).

DM için belirtiler arasında, hiperglisemi, poliüri (idrara çıkmada artış), polidipsi (susuzluk artışı) ve polifaji (artan açlık) söylenebilir. Serum glukoz konsantrasyonunun artması sonucunda günler veya haftalar sonra poliüri, polidipsi ve kilo kaybı görülür. Keton cisimleri insülin eksikliği nedeniyle artar, ciddi ve hayatı tehdit eden asidoz (diyabetik ketoasidoz) meydana gelir (Can, 2022).

Hiperglisemi durumunda, antioksidan savunma sistemindeki eş zamanlı azalma ile glukoz oksidasyonundan ve protein glikasyonundan kaynaklanan serbest radikal üretiminin artması söz konusudur. Oksidatif stres ile birlikte lipid peroksidasyonunun artışı hücrel hasara sebep olur (Dalle-Donne ve ark., 2006). Nigella sativa bitkisinin, en aktif bileşiği olan timokinonun (TQ), tıbbi çalışmalarla doğal bir ilaç olduğu kanaatine varılmıştır (Khader ve ark., 2014).

Ratlarda streptozotosin (STZ) ile şekillenen deneysel diyabet olgusunda TQ'nun hiperglisemiyi azaltıcı, antioksidan ve renoprotektif etkiler gösterdiği çok sayıda bulgularla desteklenmiştir (Al-Trad ve ark., 2016). Tip 2 diyabet çalışmalarında total antioksidan (TAS) miktarında azalma gözlemlendiği ve TQ uygulaması ile total antioksidan kapasitenin yükseldiği rapor edilmiştir (Çelik ve ark., 2014).

Vitamin C bir antioksidan olmasının yanı sıra, bazı genlerin apoptozisine katılmak veya deoksiribo nükleik asit (DNA) onarım olaylarını düzenlemek suretiyle, genetik materyali koruyucu bir madde olarak da öne çıkar. Vitamin C sahip olduğu antioksidan özelliğinden dolayı önemli makromolekülleri (DNA, lipid ve protein) serbest radikallerden korur. Vitamin C ilavesi oksidatif DNA yıkımını önleyebildiğine ve

oksidlenmiş DNA düzeylerini düşürdüğüne dair çalışmalar yapılmıştır (Kanter, 2009; Noroozi ve ark., 1998).

Bu tez çalışmasında, diyabet nedeni ile şekillenebilecek komplikasyonların engellenmesi ve tedavi edilmesinde etkisi olduğu bilinen Timokinon'un, Vitamin C ile ayrı ayrı ve birlikte kullanılması sonucu karaciğerdeki değişimin stereolojik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diyabetin Tanımı ve Sınıflandırılması

En sık rastlanılan metabolik hastalıklar arasında DM'ta yer alır. DM terimi, insülin salgılanması, insülin etkisi veya her ikisindeki kusurlardan kaynaklanan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile kronik hiperglisemi ile karakterize çoklu etiyolojiye sahip metabolik bir bozukluğu tanımlar. (WHO, 1999; Çevik ve ark., 2021). Canlının yaşamı boyunca dikkat etmesi gereken, akut ve kronik etkileri ile hastanın yaşam standartlarını oldukça azaltan DM, morbidite, mortalite ve getirdiği ekonomik yük ile ön plana çıkan metabolik bir hastalıktır (Burgos-Morón ve ark., 2019; Ünver ve ark., 2021).

Diyabetin sınıflandırılmasında en sık görülen formlar tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve gestasyonel diyabetir. Bunun dışında farklı nedenler ile gözlenen tipleri de bulunmaktadır.

#### 2.1.1. Tip 1 diyabet:

Diyabet'in insüline bağımlı şekli olarak tanımlanır. Pankreas  $\beta$  hücrelerinin otoimmün aracılı yıkımı ile karakterize olup insülin eksikliği mevcuttur. Sonuç olarak, hastalar hayatta kalmak için insülin tedavisine ihtiyaç duyar ve insülin tedavisinden çekilme ketoasidoza yol açar (Sadeghi ve ark., 2016). Diyabet olgularının %5-10'unu oluşturur. İnsülin salgılanması yetersizliği ile karakterizedir (Şenyiğit ve Kanat, 2017). Çocukluk ve ergenlik döneminde meydana gelen diyabet olgularının %90'ını oluşturur. Bu nedenle juvenil diyabet ismi de verilir (Karaahmetoğlu, 2019).

#### 2.1.2. Tip 2 diyabet:

Bu tip diyabet ise insüline bağımlı olmayan diyabet şeklinde tanımlanır. Bu durumda hastalar insülin üretir ancak insülini hedef yapılarda etkili olarak kullanamazlar. Yani insüline bağlı olmayan, hedef hücreler üzerinde salgılanan insülinin etki göstermemesi ile ortaya çıkan diyabet şeklidir. Pankreasın insülin direncini yenmek için insülin salgılamasını attırması neticesinde hiperinsülinemi oluşur. Fakat zaman içinde

beta hücreleri bu yanıtı sağlamada yetersiz kalır ve böylece bu diyabet türü meydana gelmektedir (Şenyiğit ve Kanat, 2017).

Tedaviler insülin direncini azaltmayı (örneğin diyet, egzersiz veya ilaç tedavisi ile) ve endojen insülin sekresyonunu arttırmayı amaçlar. Sonunda ekzojen insüline ihtiyaç duyulabilir (Sadeghi ve ark., 2016).

### **2.1.3. Gestasyonel diyabet:**

Gebelik esnasında gözlenen, özellikle gebeliğin ikinci ya da üçüncü döneminde ortaya çıkan diyabet türüdür. Bu diyabet çeşitli düzeylerdeki karbonhidrat ve glukoz tolerans bozukluğudur. Plasentadan salgılanan hormonların sebep olduğu insülin direnci, hiperinsülinemi ve yemek sonrasında oluşan hipergliseminin olduğu bir diyabet türüdür (Uygur ve Yavuz., 2017).

### **2.1.4. Diğer nedenlere bağlı diyabet türleri:**

Farklı nedenlere bağlı olarak diyabet oluşabilir. İnsülin ile ilişkili genetik anormallikler (mutasyonlar, beta hücre olmaması), akromegali ve Cushing sendromu gibi bozukluklardan kaynaklı diyabet türleri, bazı diüretikler veya glukokortikoidlerden kaynaklanan ve beta hücrelerinin yıkımı ile oluşan diyabet, Rubella, Sitomegalovirus kaynaklı enfeksiyon sonrası oluşan diyabet, konjenital bozukluklar (Down sendromu vb) gibi durumlarda da diyabet şekillenebilmektedir (Usta, 2014).

## **2.2. Timokinon:**

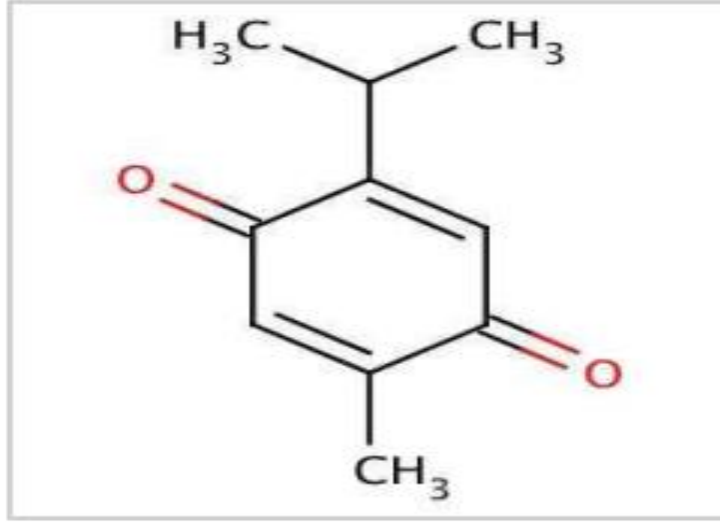
Çörekotu'nun uçucu yağında temel biyoaktif bileşen olarak yer alan TQ binlerce yıldan fazla süredir, anti-inflamatuar, antioksidan vb amaçlarla ilaç olarak kullanılmıştır. Halk içinde çörekotu olarak anılan *Nigella sativa* (NS), Güney Avrupa ve Doğu Avrupa ile Akdeniz'in doğusundaki ülkelerden köken alan otsu bir bitkidir. Ülkemizde bilhassa Antalya bölgesinde, Isparta'da, Konya'da ve Kütahya'da yetişen ince yapraklı tek yıllık bir bitkidir (Altındağ, 2018). Çörek otu ülkemizde aktarlarda tohumu ve tohum yağı olarak satılmaktadır (Şekil 1).



**Şekil 1.** Çörekotu bitkisi tohumu (Altındağ, 2018).

TQ sarı, parlak renkte kristaller içeren, uçucu özellikte monoterpen bir kinondur.  $C_{10}H_{12}O_2$  şeklinde (Şekil 2) formülüne edilen TQ 164.201 g/mol molekül ağırlığına sahiptir (Hosseinzadeh ve Parvardeh, 2004; Pagola ve ark., 2004).

Çörekotu tohumunun yapısında proteinler, amino asitler, karbonhidratlar, uçucu ve sabit yağlar, alkaloidler, tanenler, saponinler, vitamin ve mineraller ayrıca su bulunur. Çörekotu sabit yağında doymuş yağlar (palmitik asit, miristik asit) ve doymamış yağ asitleri (oleik asit, linoleik asit, araşidonik asit ve linolenik asit), ayrıca uçucu yağ türevleri (nigellon, d- limonen, karvakrol,  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen) içerir. Uçucu yağda ayrıca farmakolojik açıdan önemli olan Timokinon (TQ) (%27,8 – 57), ditimokinon, timohidrokinon ve timol bulunur (Ghosheh, 1999; Randhawa, 2013). TQ 1959 yılında sentez edilmiştir (Al-Ghamdi, 2001, Usta, 2014).



**Şekil 2.** Timokinonun kimyasal yapısı (Altındağ, 2018).

Çörek otu tohumu ve biyoaktif bileşenlerinin üzerine yapılan birçok çalışmada birçok kanser çeşidinde hücrelerin proliferasyonu üzerine baskılayıcı etki yaptığı tespit edilmiştir (Altındağ, 2018). Farklı bir araştırmada TQ'nun gastrik lezyonlara karşı koruyucu etki sağladığı ortaya konmuştur (El-Abhar ve ark., 2003).

Ağrı çalışmalarında TQ'nun ağrıyı baskıladığı ve inhibe ettiği gösterilmiştir. İnflamasyon durumlarında ortaya çıkan mediatörlerden sitokinler, eikosanoidler, oksidanlar makrofaj ve nötrofil gibi hücrelerin salgıladığı litik enzimler TQ uygulamaları ile inhibisyona uğramış ve TQ'nun antiinflamatuvar etkili olduğu bildirilmiştir (Altındağ, 2018).

TQ'nun etkileri üzerine yoğun araştırma ilgisi dikkat çekmektedir. Çalışmalarda farklı mekanizmalarla etki gösteren önemli bir antioksidan olduğuna dair ifadeler bulunur. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi karaciğer antioksidan enzimlerinde azalma sağladığı, demir kaynaklı mikrozomal lipid peroksidasyonunu ciddi ölçüde önleyebildiği bildirilmiştir (Altındağ, 2018). Diyabet nedeni ile kalp ve beyinde şekillenen oksidatif hasarın ve miyokardial kreatin kinaz (CK-MB) vb değerlerdeki bozulmanın TQ sayesinde düzeldiği bildirilmiştir (Al-Enazi, 2007; Hamdy ve Taha, 2009).

Anti-histaminik etki üzerine yapılan çalışmalarda da TQ'nun düz kaslarda histamin-serotonin reseptörlerini bloke ederek allerjik etkileri baskıladığı; TQ'nun bir polimeri nigellonun da TQ'na benzer etkileri ile sıçan mast hücreleri'ne verildiğinde histamin salgılanmasını baskıladığı bildirilmiştir (Altındağ, 2018).

### 2.3. Vitamin C

Vitamin C (askorbik asit;  $C_6H_8O_6$ ), canlı vücudunun fonksiyonları için elzem olan, hidrofilik özellikte, çok fonksiyonlu, antioksidan özellikte esansiyel bir vitamin türüdür. 1920 yılında keşfedilmiştir. Bitkiler ve birçok hayvan glukoz üzerinden vitamin C sentez edebilir. Ratlarda Vitamin C sentezinin kendi bünyesi ihtiyacı kadar sentezlenebilme yeteneklerinin olduğu ifade edilmektedir. Sentez yeri bazı memeli canlılarda karaciğer, kanatlı ve sürüngenlerde ise böbreklerdir. Askorbik asit sentezi için elzem olan L-Gulonolakton oksidaz enzimi insanlarda, primat ve kobaylarda olmadığı için askorbik asit sentezi yapamazlar (Okan, 2010).

Tükettiđimiz gıdalarda doğal olarak yer alan vitamin C, süt ve karaciğerde bulunmakla beraber en önemli kaynağı olarak turunçgiller, kuşburnu, domates, yeşil biber, lifli sebzeler ve kuş üzümü gibi taze meyve ve sebzelerdir (Bates, 1997; Gregory, 1993; Uslu, 2013).

Askorbik asit, dönüşümlü olarak dehidroaskorbik asit'e okside olabilmektedir. İnsülinin miktarının artışı, insüline duyarlı hücrelerde dehidroaskorbik asit taşınmasını kolaylaştırır. Böylece hücre içinde askorbik asit düzeyi artar. Tip I diyabet olgularında dehidroaskorbik asit alınımı bozulur. İnsülin yetersizliği ve aşırı glukoz birikimi dehidroaskorbik asit alınmasını engelleyebilir (Uslu, 2013).

Vitamin C, endoplazmik retikuluma yerleşir, kollojen, karnitin, katekolamin, peptit nörohormonların biyosentezi ile birçok enzimin çalışmasında etkin görev yapar. Ayrıca; gıdalarla alınan  $Fe^{+3}$ 'ün  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenmesinde rol oynar. Önemli fonksiyonlarından biri de düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunun başlamasını ve yayılmasını önleyerek LDL kolesterolü oksidatif hasardan korur. Vitamin C'nin hücreye alınmasında glukoz ve insülin rol oynar. Kanda glukoz seviyesi artışı olduğu zaman vitamin C'nin geri emiliminde bozulmalar meydana geldiği bildirilmiştir. Diyabet

çalışmalarında hayvanların farklı dokularında C vitamini seviyelerinin azaldığı rapor edilmiştir (Uslu, 2013). Eksikliğinde de diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, obezite gibi durumların olduğu bildirilmiştir (Uğur ve ark. 2020). Organizmanın savunma mekanizmasında savunma gücünü artırıcı özelliği vardır. Bu etkiyi nötrofil hücrelerini ve interferon düzeyini arttırarak sağlar. Histidin-histamin yapımında azalma sağlayarak alerjik olayların şiddetinde azalma sağlar (Okan, 2010).

## **2.4. Karaciğer**

Diğer memelilerde gözlendiği şekilde rat karaciğeri de multilobülerdir. Rat karaciğer ağırlığı toplam vücudun yaklaşık %5'ini kaplarken, insanlarda bu oran %2,5 tur. Ratlarda (200-300 gr), karaciğer >13 g olabilir. Karaciğer transvers çapı 7,5- 8,0 cm arasındadır. Superior-inferior çap 3,8- 4,2 cm arasında iken, anterior-posterior çap 2,2- 2,5 cm olabilmektedir (Zanchet ve Monteiro, 2002).

### **2.4.1. Karaciğer Yüzeyleri**

Ratlarda karaciğer, rat dekübit pozisyonda iken, temelde 3 yüzey olarak gözlenir. Bunlar: superior yüz, inferior yüz ve posterior yüzdür. İnferior yüzeyi superior yüzeyden belirgin bir kenar boşluğu ayırır. İnsanlardan farklı şekilde, diğer kenarların da belirgin yüzeyi vardır. Ratların karaciğer yapısında loblar birbirlerine yaslanmış şekilde oldukları için yüzeyler oldukça düzgündür (Şekil 3). Bu duruma istisna olan yapı, mide tarafından karaciğerin geri kalanından ayrılan ve posterior yüzeye yerleşen lobus caudatus'tur. (Martins ve Neuhaus, 2007).

Üst (parietal) yüzey, medial lobların bir kısmı ile sol lateral lobları içine alır ve tek parça olarak dışbükey yapı ile diyaframın tonozunun altına sığar. Ligamentum falciforme hepatis'in yapışma hattı dışında tamam peritonla kaplıdır. Ligamentum falciforme hepatis'in bağlantı hattı karaciğeri iki parçaya ayırır. Bu iki parça sağ (lobus hepatis dexter) ve sol lob (lobus hepatis sinister) olarak adlandırılır. İnsan karaciğerinde sağ lob, sol lobdan çok daha büyüktür. Ratlarda ise sol ve sağ loblar yaklaşık olarak benzer hacme sahiptir. İnferior (visseral) yüzey düzensiz, içbükeydir ve mide, duodenum, sağ kolik fleksur, pankreasın superior kısmı, sağ böbrek ve suprarenal bez ile ilişki halindedir. İnsanlardaki gibi rat karaciğer inferior alt yüzeyinde H şeklinde çukurlar

yoktur. Bu bölgenin nerede ise tamamı periton ile kaplıdır. Karaciğer izleri insan karaciğerlerinde olduğu kadar belirgin görünmez. Posterior yüzeyi, genişliğinin bir kısmında peritonla kaplı değildir ve diyaframla doğrudan temas eder. Lobus caudatus ile karaciğerin açık bölgesi arasında eğik olarak ilerler. Vena cava caudalis ise, tamamen intrahepatiktir (Martins ve Neuhaus, 2007).

#### **2.4.2. Karaciğer Ligamentleri**

Rat karaciğeri, insan karaciğerindeki gibi, diyaframın alt yüzeyine ve abdomenin ön duvarına 5 ligament ile bağlıdır: Falciform (ligamentum falciforme hepatis), koroner (ligamentum coronarium hepatis), iki lateral peritoneal foldlar (ligamentum triangulare dextrum ve sinistrum) ve beşincisi ise, yuvarlak ligament, fibröz bir kordondur ve vena umbilicalis'in obliterasyon geçirmesi sonucu oluşan ligamenttir (ligamentum teres hepatis). Karaciğer, ayrıca hepatogastrik ligament (ligamentum hepatogastrica) ile midenin küçük eğrilğine ve hepatoduodenal ligament (ligamentum hepatoduodenale) ile duodenum'a bağlanır (Martins ve Neuhaus, 2007).

Falciform ligament (ligamentum falciforme hepatis), ince bir periton katlantısıdır ve umbilicus seviyesinde diyaframın alt yüzeyine ve sağ rectus abdominis'in arka yüzeyine yapışır. Serbest kenarı yuvarlak bağ ve paraumbilikal damarları içerir. Koroner ligament (ligamentum coronarium hepatis), üst ve alt tabakadan meydana gelir. Üst tabaka karaciğerin açık bölgesinin üst kenarı ile diyaframın alt yüzeyine kadar sürer. Üçgen bağlar sağ ve sol bağlar olarak ikiye ayrılır. Sağ üçgen bağ (ligamentum triangulare dextrum), sağ üst lobun sağ ucunda yer alır ve koroner bağın üst ve alt tabakalarının birleşmesiyle oluşarak diyaframa geçen küçük bir katlantıdır. Sol üçgen bağ (ligamentum triangulare sinistrum) ise, sol lobun üst yüzeyinin arka kısmını diyaframa bağlayan bir katlantıdır. Lobus caudatus'un parakaval kısmını ince bağlarla dorsal diyaframa bağlanır. Alt sağ karaciğer lobu da diyafram ile bağlantılıdır ve infrahepatik vena cava'nın ön kısmında bir başka bağa sahiptir. Yuvarlak bağ (ligamentum teres hepatis), vena umbilicalis'in obliterasyonundan kaynaklanan fibröz bir kordondur. Göbek deliğinden, falciform bağın serbest kenarından karaciğerin göbek çentiğine kadar yükselir (Martins ve Neuhaus, 2007).

### 2.4.3. Karaciğer Lobları

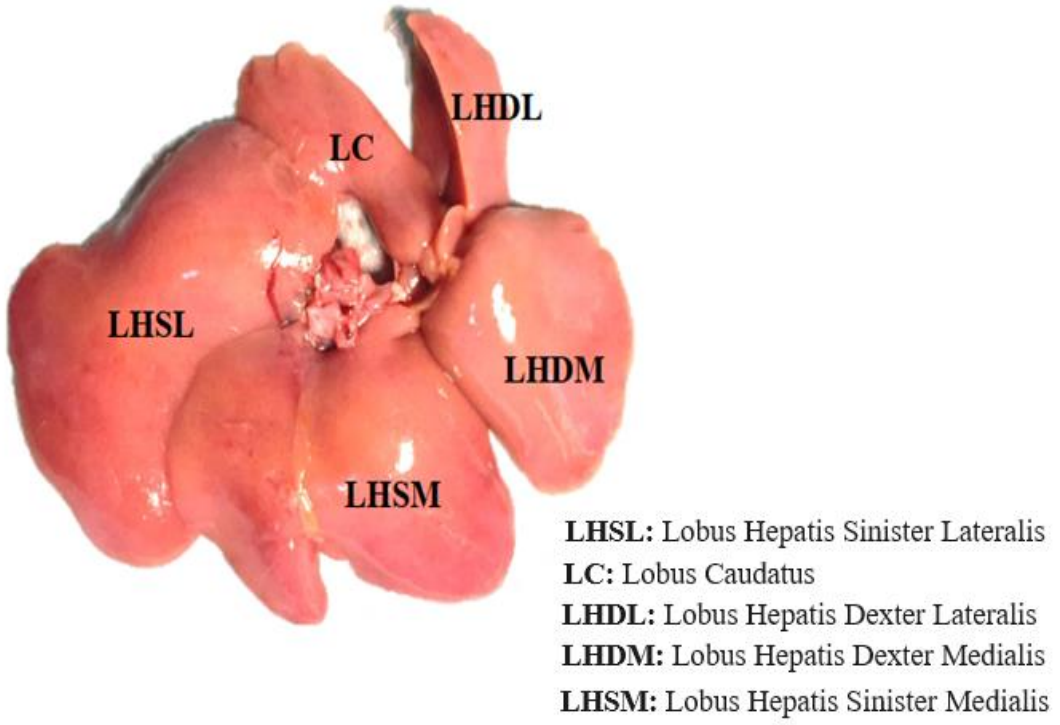
Rat karaciğeri lobları, insan karaciğerine benzer şekilde, kendilerini besleyen portal dalların adını alır. Memelilerdeki gibi, portal sistem en temel anatomik referanstır (Geçin, 2022).

**Lobus Hepatis Sinister Medialis (LHSM):** En büyük lobtur ve karaciğerin ağırlık olarak neredeyse %38'ini oluşturur. Trapezoidal bir şekle sahiptir ve ligamentum falciforme tarafından diyafram ve karın duvarına sabitlenir. Lobus hepatis sinister lateralis ile devamlılık gösterir ve ana fissür veya umbilikal fissür ile büyük bir sağ medial lob (medial lob hacminin 2/3'ü) ve daha küçük bir sol medial lob (medial lob hacminin 1/3'ü) olarak alt bölümlere ayrılır (Martins ve Neuhaus, 2007).

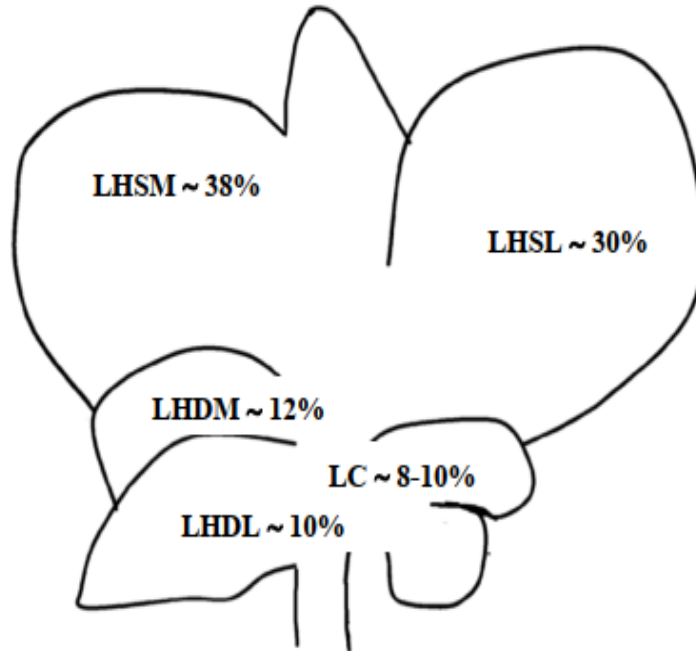
**Lobus Hepatis Dexter (LHD):** Vena cava'nın sağında ve regio hypochondriaca dextra'nın posterior'unda yer alır ve LHSM tarafından neredeyse tamamen örtülür. Karaciğerin ağırlık olarak neredeyse %22'sini oluşturur ve horizontal bir fissürle iki piramidal şekilli lobüle ayrılır: Lobus hepatis dexter medialis (LHDM) ve lobus hepatis dexter lateralis (LHDL) (Martins ve Neuhaus, 2007).

**Lobus Hepatis Sinister Lateralis (LHSL):** Eşkenar yapıdadır, basıktır ve midenin ön yüzünün üzerinde epigastrik ve regio hypochondriaca sinistra'da yer alır. Medial kısım medial lobun sol kısmı tarafından örütülüdür. Üst yüzeyi hafif dışbükeydir ve diyafram üzerine şekillenmiştir. Fissürleri yoktur (Martins ve Neuhaus, 2007).

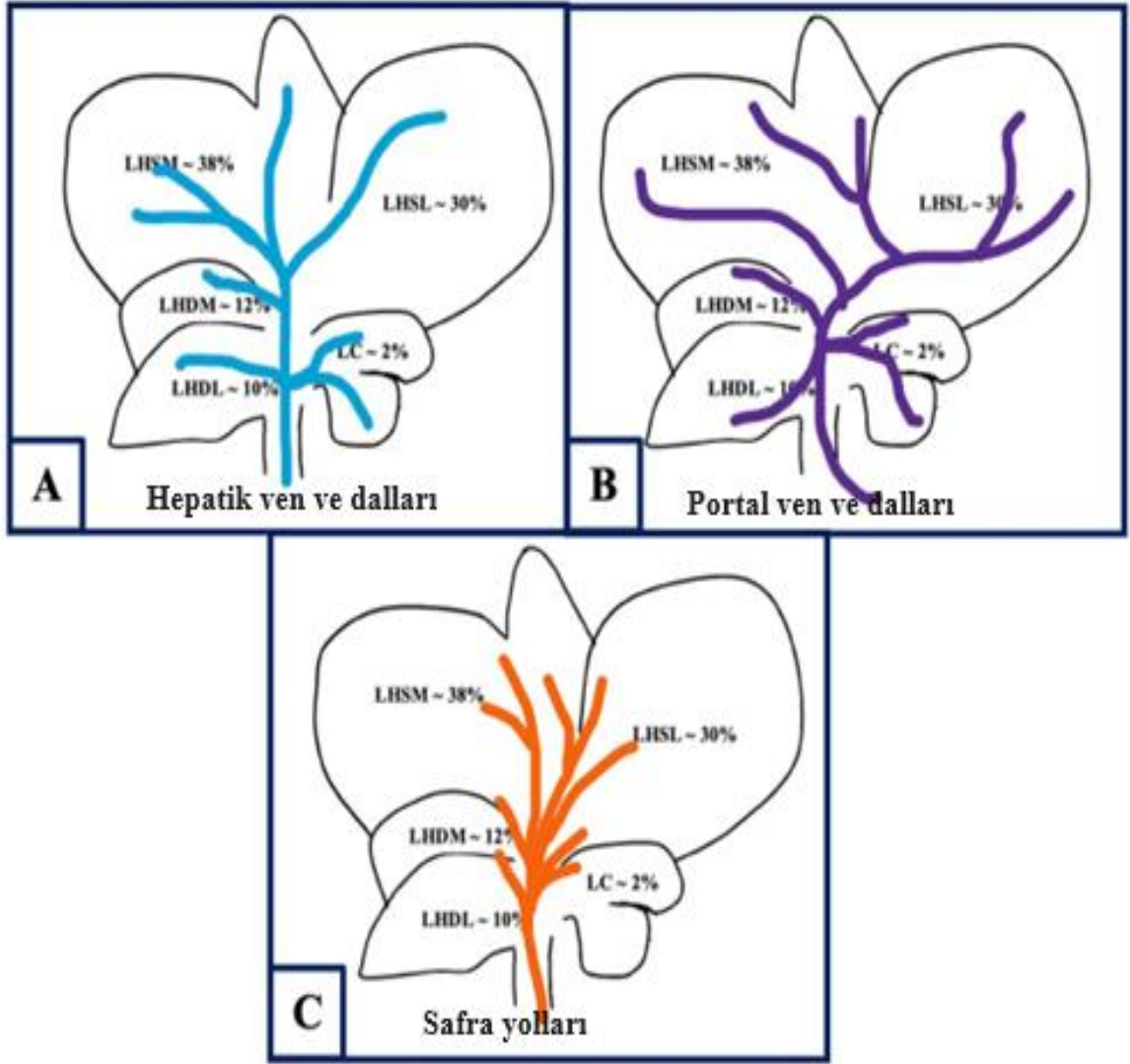
**Lobus Caudatus (LC):** LHSL'nin arkasında ve vena porta ile vena cava caudalis'in solunda yer alır. Karaciğerin ağırlık olarak neredeyse %8-10'unu oluşturur, iki kısma ayrılır: parakaval kısım; (karaciğerin %2-3), alt vena cava'yı çevreler ve LC'ler ile sağ lateral lob arasında köprü yapar. Spiegel lobu; her biri karaciğer kütlelerinin %4'ünü temsil eden disk şeklinde bir anterior (superior) ve bir posterior (inferior) kısma sahiptir. LC'nin anterior kısmı özofagus ve midenin anterior'unda yer alır ve pedikülü superior'da bulunurken, posterior bu yapıların arkasında yer alır ve pedikülü inferior'da bulunur (Martins ve Neuhaus, 2007).



Şekil 3. Karaciğerin lob yapısı (Geçin, 2022).



Şekil 4. Rat karaciğer loblarının şematik olarak gösterimi (ventral) (Geçin, 2022).



Şekil 5. Karaciğerin damar yapısı (Geçin, 2022).

#### 2.4.4. Karaciğer damar yapısı

##### Hepatik Arter

Karaciğer, arteria celiaca'nın trifurkasyosundan çıkan hepatic arter ile desteklenir. Arteria celiaca, diyafram pırlarlarının altında aorta abdominalis'in ön veya sağ tarafından çıkar, 5-7 mm boyunca aort'un yakınında yükselir ve dallanır (Martins ve Neuhaus, 2007).

Ortak hepatic arter, pankreas ile seyrederek, portal ven (vena portae) seviyesinde arteria hepatica ve arteria gastroduodenalis olarak çatallanır. Arteria hepatica'nın çapı

0.2-0.5 mm ve uzunluğu 4 -5 mm arasındadır. Arteria hepatica, portal ven'in arka yüzeyinde seyrederek, karaciğer hilusunda sağ ve sol dallara ayrılır. Arteriyel dallar portal venin ön yüzünde ve safra kanallarının arkasında seyrederek, büyük hepatik kanalların arkasından geçer ve ana lobe dallarına ayrılırken portal ven dallarına paralel bir seyir izler. Bazen iki lobe arter tek bir lobe portal vene eşlik eder. En görünür dallar superior sağ lateral (LHDM), inferior sağ lateral (LHDL) ve medial loblar (LHSM) içindir. Ana hepatik loblara giden dört dala ilaveten arteria hepato-esophagalis olarak adlandırılan, görüntülenmesi zor bir dal verir. Bu dal, uzunluğu 10-12 mm ve çapı 0.1 mm olan, LC ve LHSM-LHSL arasındaki hepatik pedikülden çıkar ve özofagusun alt kısmının üçte ikisini destekler. Sol gastrik arterden köken alan ve LHSL'nin dorso-medial kısmını destekleyen arteria accesorium sinister isminde başka bir sol hepatik arter de bulunabilir ancak literatürde intrahepatik arteriyel dalların tanımında bulunmamıştır (Leneman ve ark. 1967).

### **Portal Ven**

Ekstrahepatik vena portalis, hepatik arter ve ana safra kanalının posterior-lateralinde pozisyonundadır. Vena mesenterica cranialis, vena gastrosplenicus ve vena gastroduodenalis'ten oluşur. Vena pancreaticoduodenalis ve vena mesenterica caudalis, vena mesenterica cranialis'e drene olur. Bu seyirde v. portalis'in çap ve uzunluk aralığı sırasıyla 2-4 ve 4-7 mm olarak ilerler (Innocenti ve ark. 1978).

Sıçan karaciğeri, üç ana portal dala sahiptir: sol portal fissür, sağ portal fissür ve ana portal fissür (Lorente ve ark. 1995).

### **Hepatik Venler**

LHSM de iki ya da üç büyük hepatik ven (sağ, orta ve sol median venler) bulunur. LHSM sağ ve sol kısımları birer ven tarafından drene edilir. İnsanlarda olduğu gibi, orta lobun sol kısmını drene eden ven (vena medialis sinister) vena cava'ya ayrı olarak girebilir veya suprahepatik cava venine katılmadan önce ortak bir gövde oluşturmak üzere sol lateral lobu drene eden venle (sol hepatik ven) birleşebilir (Gershbein ve ark. 1954). Sol ve LC'ler çoğu durumda vena cava'ya ayrı ayrı açılan iki büyük hepatik ven (sol ve sağ) tarafından drene edilir, ancak bazı durumlarda ortak bir gövde tarafından

birleştirilebilirler. Lobus caudatus, birden fazla dal aracılığıyla intrahepatik vena cava'ya drene olur (Martins ve Neuhaus, 2007).

### **Safra yolları**

Ratların safra kesesi yoktur. Sıçanın ekstrahepatik safra kanalları her bir karaciğer lobunun birinci dereceden dalları tarafından oluşturulur ve arteriyel ve portal dallara yüzeysel olarak uzanır. Superior ve inferior LC'ler, sağ orta lob ve lobus caudatus için ikinci dereceden dallar mevcuttur. Sıçan safra yollarının birçok anatomik varyasyonu vardır (Lorente ve ark. 1995).

Genelde, her lob kendi safra kanalları tarafından drene edilir. LHSL en çok iki biliyer dal tarafından drene edilir. LHSM, LHSM'nin sağından (1-4 dal) ve solundan gelen dallar tarafından drene edilir. Araştırmaların %57,5'inde, her bir LC'nin ana safra kanalına akmadan önce ortak bir dal oluşturmak üzere birleşen bir dalı olduğu bildirilmiştir. LC superior kısmı sağ lateral lobun dallarına veya ana biliyer trunkusa drene olurken, inferior kısmı caudat prosesin dallarına veya sağ lateral lobun dalına drene olur (Lorente ve ark. 1995).

Ductus choledochus (ana safra kanalı), ana hepatik kanalların birleşmesiyle meydana gelir. Ana hepatik kanallar caudat proses üzerinde birleşir. Araştırmalarda, ana safra kanal uzunluğu 12-16 mm, çapı da 0.6-1 mm olarak belirtilse de 45 mm uzunluğa kadarda görülebilmektedir (Hebel ve ark. 1976). Ana safra kanalı, caudat proses ve portal ven yüzeyinde arteria hepatica ve vena portalis'in soluna iner ve daha sonra küçük omentumun sağ sınırı boyunca onlardan biraz uzak durur, uzun bir kısmı tamamen pankreas içine gömülü olup, diffüz ve lobüle bir görünüme sahiptir. Ana safra kanalı, duodenum'un pars cranialis'inin medial tarafında, ortasının biraz altında ve pylorus'tan yaklaşık 10-22 mm uzaklıkta açılır. Ratların ekstrahepatik biliyer sistemi birbiriyle bağlantılı küçük dallara sahiptir (Kara, 2005).

<b>KARACİĞER</b>		
Ağırlık		13.31 ± 0.98 (12–15) g
Dorsal – Ventral Çap		2.23 ± 0.17 (2.2–2.5) cm
Lateral – Medial Çap		7.66 ± 0.16 (7.5–8.0) cm
Cranial – Caudal Çap		3.95 ± 0.12 (3.8–4.2) cm
<b>DAMAR YAPISI</b>		
Damar	Çap (mm)	Uzunluk (mm)
Vena Cava Caudalis	5.33 ± 0.49 (5–6)	53.25 ± 1.91 (50–55)
Vena Portalis	2.54 ± 0.62 (2–4)	7.95 ± 0.86 (4–9)
Arteria Hepatica	0.29 ± 0.11 (0.2–0.5)	3.75 ± 0.38 (3–4)
<b>SAFRA YOLU</b>		
Ductus Choledochus	0.85 ± 0.17 (0.6–1.0)	13.25 ± 1.29 (12–16)

**Şekil 6.** Rat, karaciğer ve ilişkili yapılarının morfometrik veri aralıkları (sırtüstü pozisyon) (Geçin, 2022).

## 2.5. Stereoloji

Stereoloji, yalnızca biyolojik araştırmalarda değil, iki boyutlu görüntülerin üç boyutlu yorumlanması için de kullanılan bir tekniktir. Morfometrik çalışmalarda kullanılan önyargılı yöntemlerin aksine, stereolojik yöntemler “tarafsızdır”. Stereolojik yöntemlerde “tarafsızlık” ilkesi kadar “verimlilik” ilkesi de önemlidir. Verimlilik, kısa sürede güvenilir sonuçlara ulaşmak olarak tanımlanabilir. Bu prensip, bu tür örneklemede temel olarak ayrı bileşenler altında incelenmesi gereken yapılar için gerçekleştirilen “Sistemik Rastgele Örnekleme” (SRS) esasına dayanır (Ünal ve ark., 2002; Howard ve Reed, 2015).

Stereoloji Yunanca bir terim olup “stereos” kelimesinden köken alır ve üç boyutlu cisim anlamına gelir. Üç boyutlu olarak canlı ve cansız yapıların, iki boyutlu kesit görünümünden yararlanarak, gerçekte üç boyut (yapısal, sayısal ve geometrik) özellikleri hakkında yorumlar yapmayı sağlayan bir bilim dalıdır (Howard ve Reed, 2015). Mikroskopta incelenebilen tüm biyolojik yapılar gerçekte belirli bir uzunluk, yükseklik ve genişlik gibi üç boyutlu özelliklere sahiptir, oysaki mikroskoplar ve diğer görüntüleme araçlarından genellikle iki boyutlu görüntüler alınır. Biyolojik yapıların iki boyutlu bir platformdaki görünümünden elde edilen alan, hacim,

sayı vb sayıya dayalı morfometrik ölçümlerle araştırılan materyal daha iyi anlaşılacaktır (Ünal ve ark., 2002).

### **2.5.1. Cavalieri yöntemi**

On yedinci yüzyıl matematikçilerinden “B. Cavalieri” ile öne atılan ve en çok rağbet gören stereolojik hacim ölçüm metodudur (Canan ve ark., 2002). Bu yöntem için, hacmi hesaplanmak istenen materyal baştan sona kadar paralel ve eşit aralıklı olarak kesitlere ayrılır. Ardından uygun bir metodla her kesitin aynı tarafa bakan yüzeylerinde alan hesaplanır. Bütün kesitlerden ölçülen toplam yüzey alan değeri, ortalama kesit kalınlığı ile çarpılır ve bunun sonucunda bu materyalin toplam hacmi elde edilir. Formüleştirildiğinde:  $V_{ref} = \Sigma a_i \cdot t$ .  $V_{ref}$ : materyalin toplam hacmini;  $a_i$ : yapı izdüşümlerin yüzey alanını;  $t$  ise ortalama kesit kalınlığını ifade eder. Bu yöntem ile etrafındaki yapılarla ilişkilerine bakılmadan, sınırları belirli olan her türlü materyalin hacmi bulunabilir (Canan ve ark., 2002).

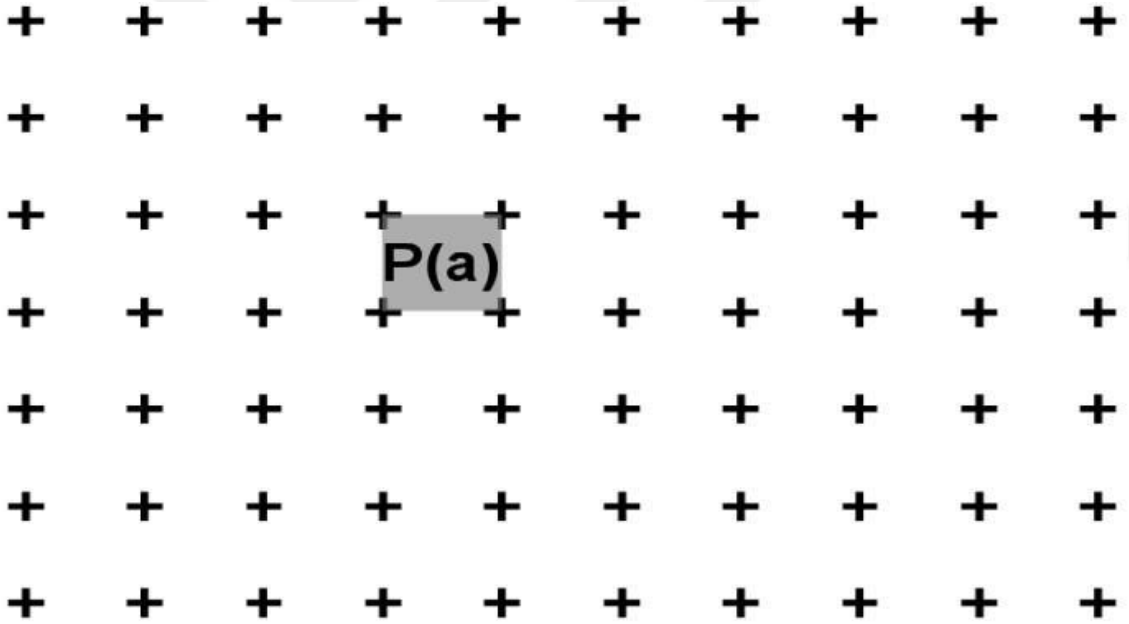
Cavalieri yöntemi ile hacim hesaplaması için ilk olarak, ilgili bölgenin izdüşümlerinin yani kesitlerdeki görüntülerin alanlarını hesaplayıp bulmak gerekir. Bu yöntem bilgisayar yazılımları ile desteklenmiş görüntü analiz cihazları yardımıyla, planimetrik bir şekilde izdüşüm alanlarını doğrudan belirler. Bu yöntemde (mikroskop görüntülerini işleyebilecek ve kalibre edilmiş) bilgisayar yazılımı ile sınırlandırılan herhangi bir bölgenin yüzey alanı hesaplanarak ölçülebilir. Hızlı ve güvenilir bir metottur. Noktalı alan ölçüm cetvelleri, stereolojide en çok tercih edilen izdüşüm alanı hesaplama yöntemidir ve bundan faydalanılmaktadır (Canan ve ark., 2002; Ünal ve ark., 2002; Howard ve Reed, 2015).

### **2.5.2. Noktalı alan ölçüm cetvelleri**

Cavalieri hesaplama yönteminde ilk aşama ilgili yerin izdüşümlerinin yani kesitlerdeki görüntülerin alanlarının hesaplanmasıdır. Bunun için tasarlanmış olan cetvelde, her bir (+) artı işareti orta noktası, cetvel üzerindeki bir noktanın varlığını temsil eder. Bu meydana gelen noktalardan her birisi ise, bir birim cetvel alanını yani dört adet noktanın arasında kalan alanı temsil eder.  $P(a)$  aralıklarında mesafesi bilinen böyle bir ölçüm cetveli, alanı belirlenmek istenen kesit görüntüsünün üstüne rastgele bir şekilde

yerleştirildiğinde, üzerine denk gelen noktaların sayısı bu izdüşümün kesitte ki alan miktarıyla doğru orantılı olacaktır. İzdüşüm büyüklüğünce, içerisine de o bağlamda nokta denk gelecektir. Bu noktaların her biri, belirli bir birim alanını  $P(a)$  temsil eder, materyal sınırları içine düşen nokta sayısının ( $\sum P_i$ ) birim alan değeri ile çarpılması sonucu bize kesitteki izdüşümün toplam alanını ( $A_i$ ) verecektir (Canan ve ark., 2002; Gundersen ve ark., 1987). Saydam bir asetat kâğıda çizilen noktalar dizgesi çoğunlukla yeterlidir ve büyütme oranı doğru bir biçimde belirlendikten sonra mikroskopta veya ekrana yansıtılan veya fotoğraflanmış her türlü görüntü üzerinde rahatlıkla kullanılabilir. Bilinmesi gereken husus, büyütme oranının doku seviyesindeki gerçek uzunluğu ve cetveldeki noktalar arasındaki mesafedir. Mikrometrik bir disk kullanmak büyütme oranını bulmanın en güvenilir yoludur (Canan ve ark., 2002).

$$A_i = \sum P_i \cdot P(a)$$

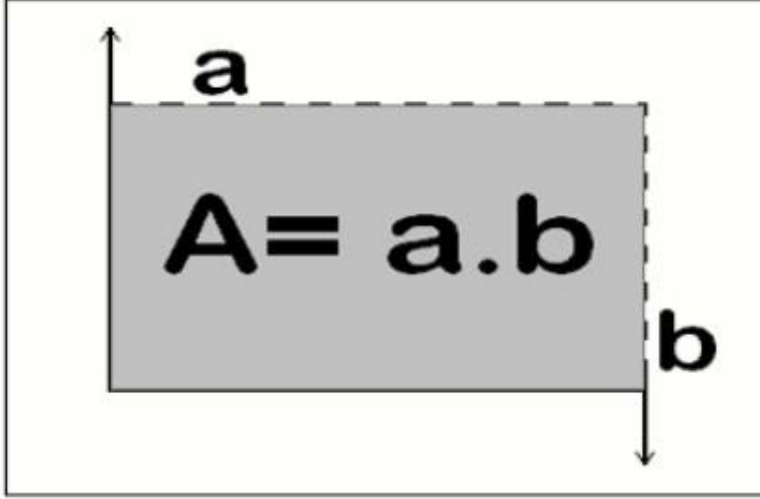


Şekil 7. Noktalı alan ölçüm cetveli (Canan ve ark., 2002).

### 2.5.3. Tarafsız sayım çerçevesi

Stereolojik yöntemlerle sayım yapabilmek için taneciklerin izdüşümlerinden yararlanıldığı durumlarda, kesitlerdeki taneciklerin izdüşümlerinin belli bir alanla sınırlandırıldıktan sonra sayılması gerekmekte olup ve izdüşümlerin birtakım esaslar ile sınırlandırılması gerekmektedir. Gundersen, 1987 yılında “tarafsız sayım

çerçevesi” diye isimlendirdiği bir sayım çerçevesi kalıbı kullanarak iki boyutlu düzlemde gerçek tanecik sayısının nasıl hesaplanacağını göstermiştir (Gundersen, 1987). Tarafsız sayım çerçevesinde sayım yapılırken uyulması gereken hususlar şu şekildedir;



**Şekil 8.** Tarafsız sayım çerçevesi.

Yasak kenarları devamlı çizgiler gösterirken, serbest kenarları ise kesikli çizgiler göstermektedir. İki kenarının çarpımı çerçevenin alanına eşittir (Gundersen, 1987; Ünal ve ark., 2002).

#### **2.5.4. Sistematik rastgele örnekleme (SRÖ)**

Mikroskop ile çalışılacak analizlerde örnekleme için gerekli materyalin her bir parçasının eşit biçimde örnekleme şansı olmalıdır ve üzerinde çalışılacak objenin örnekleme için sistematik taraflılıktan uzak durulmalıdır. SRÖ, rastgele olan örneklemeyle kıyasla, istatistiksel açıdan daha gerçekçi sonuçlara ulaştırır (Gundersen ve ark., 1987). “Sistematik” sözcüğü sistematik aralıklarla örnekleme için yani ilgilenilen yapıdan elde edilen kesitlerden bir ön çalışma sonucunda örnekleme için tekrar edilen periyodunu, “rastgele” kelimesi ise sistematik örnekleme için ilk elemanın tesadüfen (tarafsız olarak) belirlenmesini ifade eder. Yapılacak çalışmalarda gerçek sonuca ulaşmak için işlemlerin her adımında mutlaka SRÖ uygulanmalıdır (Gundersen ve ark., 1987; Ünal ve ark., 2002; Howard ve Reed, 2015).

### 2.5.5. Fiziksel disektör sayım yöntemi

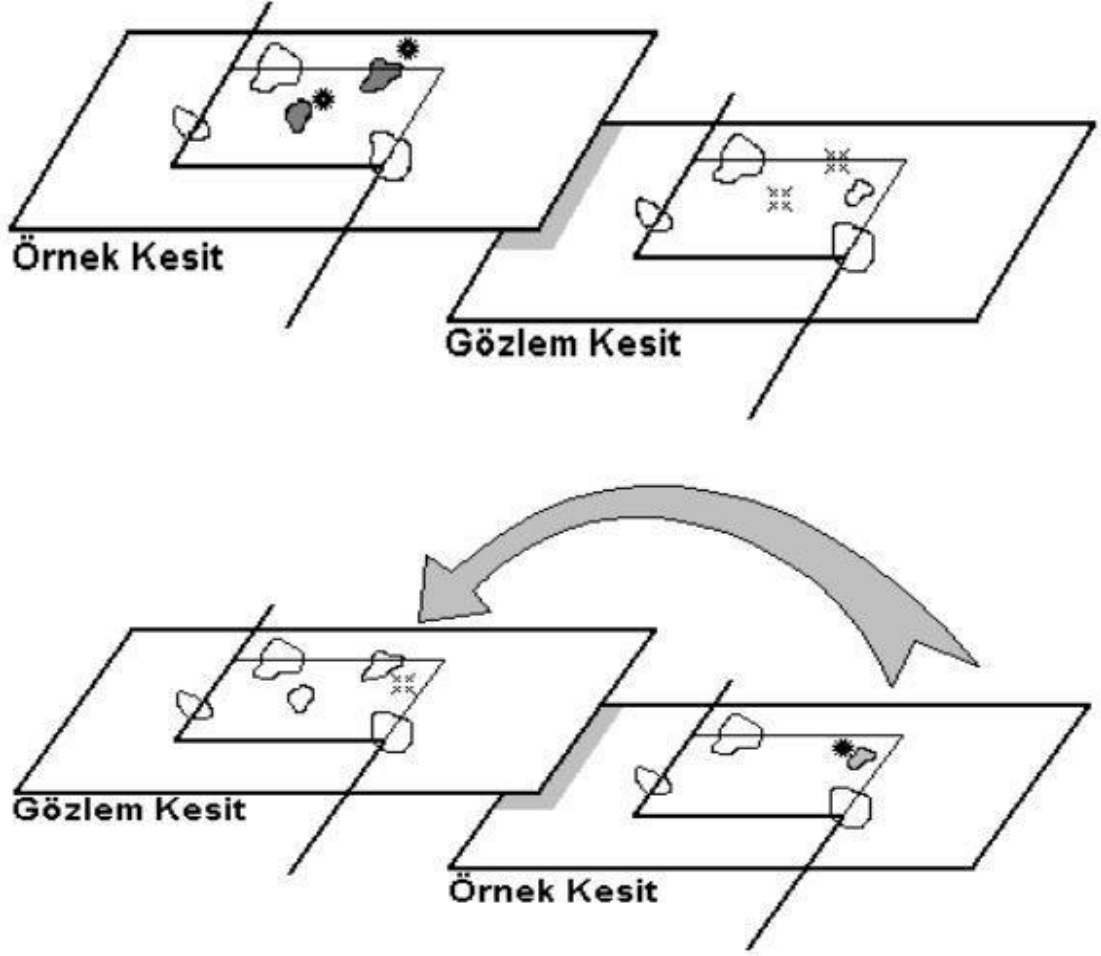
Disektör, birbirinden belirli (t) mesafesi ile ayrılmış, ardışık iki kesit düzleminden meydana gelen üç boyutlu bir hacimdeki nesnenin sayı parametrelerinin belirlenmesine imkân sağlayan spesifik bir yöntemdir. Hem optik hem de fiziksel disektör sayım yönteminin uygulanabilmesi için ardışık görüntülere ihtiyaç vardır (Ünal ve ark., 2002).

Disektör yöntemi üç boyutlu bir örnekleme yöntemi olup ilk olarak 1984 yılında Sterio tarafından geliştirilmiştir. Bu metot sayesinde; araştırılmak istenilen doku ya da organın büyüklüğü, doku ya da organ içerisindeki tanecik sayısı, kesit alınma yönü, taneciğin büyüklüğü, doku içindeki yönelimleri ve dokunun işlemler sırasında büzüşme ve genişlemesi gibi hesaplama hatalarına neden olan tüm hata katsayılarından bağımsız biçimde yani tarafsız bir şekilde hesaplanabilmesidir. Tarafsız sayım çerçevesi tarafsız olarak iki boyutlu düzlemde, disektör yöntemi ise üç boyutlu düzlemde tarafsız olarak örnekleme oluşturur (Gundersen ve ark., 1987; Ünal ve ark., 2002). Disektör yöntemi kullanılarak bir dokudan alınacak seri kesitler vasıtasıyla dokunun tüm bileşenlerinin teker teker değerlendirilmesine gerek kalmadan, biyolojik ortamlardaki nicel verilerin hesaplanması doğru ve tarafsız olarak yapılabilir (Ünal ve ark., 2002).

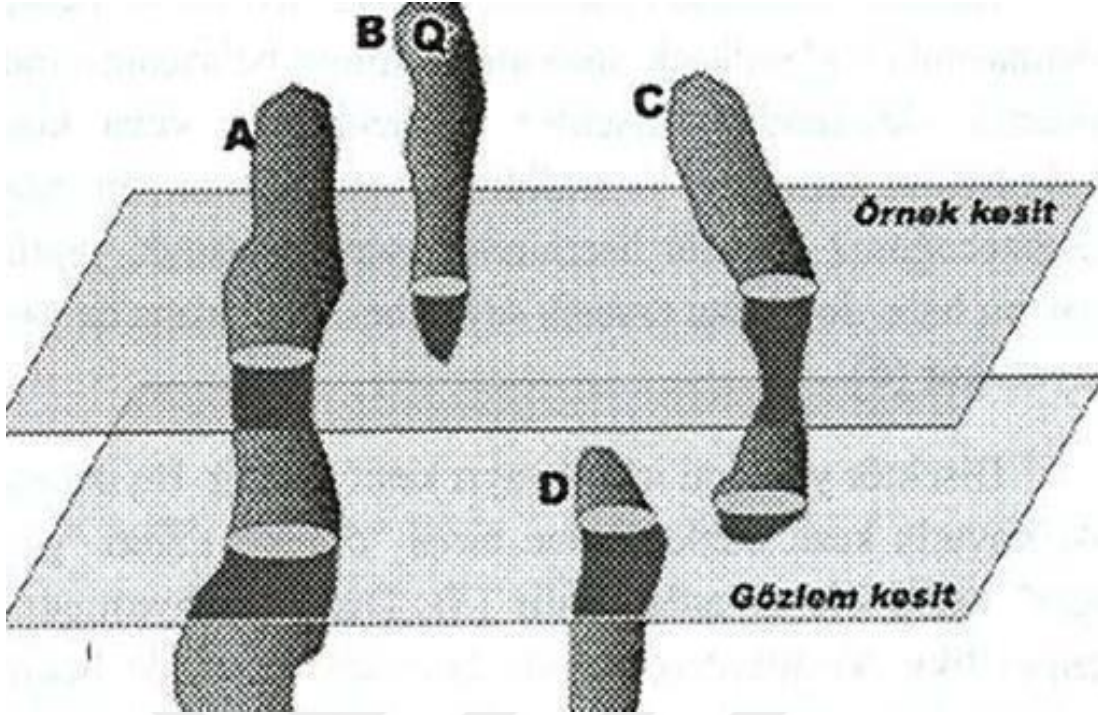
Disektör yönteminde temel mantık, ardışık iki kesit sayesinde, bu iki kesit arasındaki mesafeden oluşan üç boyutlu sanal bir hacim içindeki taneciklerin sayılması şeklindedir. Sayılan hacimler, disektörün yüksekliğinin çarpımına eşittir. Bu hacim içerisinde sayılan her tanecik disektör taneciği olarak tanımlanır. Bir disektör hacminde sayılan toplam tanecik sayısı, disektörün hacmine bölüldüğü zaman, birim hacimde kaç tane tanecik olduğu, taneciklerin sayısal yoğunlukları tarafsız bir şekilde hesaplanmış olur (Ünal ve ark., 2002).

Disektör yönteminde iki ayrı kesit elzemdir. Bu alınan iki adet iki boyutlu kesit düzleminden birisine "örnek", diğerine ise "gözlem" kesiti denir. Disektör sayımının temeli, ardışık alınan kesitlerden birinde yer alıp diğerinde yer almayan aynı taneciğe ait izdüşümlerin sayılması esası üzerine kurulmuştur. Genel kural olarak, örnek kesitte bulunan ancak gözlem kesitinde bulunmayan taneciğin izdüşümü sayıma dahil edilir. Ardışık iki kesit arasındaki mesafe disektör yüksekliği şeklinde isimlendirilir.

Sayım sonrasında disektör yükseklikleri boyunca örneklenebilen tanecik uçlarının sayısı bulunur. Her taneciğin bir yöne doğru bir tane ucu olduğu için, iki kesit düzlemi arasında bulunan taneciklerin uçlarını saymak tanecik sayısı değerinin tarafsız hesaplanabilmesini sağlar. Burada dikkat edilmesi gereken önemli husus, kesitlerin karşılaştırılması sırasında aynı veya farklı taneciklerin iz düşümlerinin doğru bir biçimde birbirinden ayrılmasıdır (Ünal ve ark., 2002)



**Şekil 9.** Fiziksel disektör uygulamasının şematik gösterimi (Ünal ve ark., 2002)



**Şekil 10.** Disektör ve disektör olmayan taneciklerinin iki boyutlu bir materyalin, iki kesit düzleminde şematik görüntüsü. A taneciğinin örnek ve de gözlem kesitinde izdüşümü bulunduğu için sayılmayacaktır. B taneciği yalnızca örnek kesitte gözlemediği için sayılacaktır (Q) olarak gösterilir. C taneciğinin örnek ve gözlem kesitinde izdüşümü yer aldığı için sayılmayacaktır. D taneciğinin ise örnek kesitte gözlenmediğinden dolayı sayılmayacaktır (Ünal ve ark., 2002).

## 2.6. İmmunohistokimya boyama için belirteçler

### 2.6.1. Kaspaz-3

Kaspazlar (cysteine aspartyl protease), inaktif proenzimler halindedir. Kendi ayrılma/kesilme bölgeleri vardır. Hidroliz ile ayrılma olunca aktif form ortaya çıkar. Başlatıcı kaspazlar aktive olunca birbiri ardına gelen kaspaz aktivasyonları olur. Proteinleri aspartik rezidülerinin ardından parçalayan sistein proteazlardır ve zimojen olarak üretilirler. Proteolitik parçalanma ile aktiflenirler. Bu kaspazlar nükleer (endonükleaz) ve hücre iskeleti proteinlerini parçalar. Kaspaz C bütün apoptotik ölümlerin ortak noktası aktivasyonudur. İnflamatuar yanıt, hücre diferansiyasyonu ve proliferasyonu gibi non-apoptotik süreçler ile de yakın bağlantılıdır (Li ve ark., 2021). Kaspaz-3 immunohistokimyasal (İHK) olarak sitoplazma veya nükleer boyanma paterni

gösterir (He ve ark., 2016). Kaspaz-3 apoptozun artmasıyla bağlantılı Alzheimer Hastalığı (AH) ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar; tip 1 diyabet, romatoid artrit, multiple skleroz, Sjögren sendromu ve skleroderma gibi otoimmün hastalıklar, miyokard enfarktüsü ve AIDS gibi iskemik hastalıklarda önemli role sahiptir.

Kaspaz-3, kaspaz ailesinin çekirdek bir üyesidir ve apoptoz sürecini tetiklemek için Kaspaz-8 ve Kaspaz-9 ile etkileşime girer. Normal hücrelerde Kaspaz-3, Pro-Kaspaz-3 adı verilen inaktif zimojen formunda bulunur. Bir hücre apoptoza uğradığında Pro-Kaspaz-3, dışsal (ölüm ligandı) ve içsel (mitokondriyal) yolaklar ile aktive edilir. Aktive Kaspaz-3, apoptoz için önemli bir yönetici faktördür ve DNA replikasyonu ile ilişkili proteinleri, apoptozu inhibe eden proteinleri ve hücre iskeleti proteinlerini vb. bozabilir, böylece hücre apoptozunu teşvik edebilir (Li ve ark., 2021). Kaspaz-3, özellikle nörodejeneratif hastalıkta apoptozda kaspaz kaskadı sırasında kritik bir efektör proteazdır (Amelio ve ark., 2010).

### **2.6.2. Bcl-2**

Apoptozun ana düzenleyicilerinden biri, Bcl-2 ailesi olarak adlandırılan bir dizi sitoplazmik proteindir (Haghir ve ark., 2017; Sadeghian ve ark., 2012). Şu ana kadar memeli hücrelerinde en az 15 adet Bcl-2 ailesi üyesi tanımlanmıştır. Bu ailenin iki ana grubu olan Bcl-2 ve Bax proteinleri işlevsel olarak birbirine karşıttır: anti-apoptotik Bcl-2, bazı apoptoz formlarını inhibe etme görevi görürken, pro-apoptotik Bax bu etkiyi ortadan kaldırır. Apoptoz oluşumu, pro-apoptotik ve anti-apoptotik düzenleyiciler arasındaki denge ile tanımlanabilir. Bu nedenle, anti- ve pro-apoptotik proteinlerin oranı kısmen hücrelerin apoptotik veya hayatta kalma sinyallerine nasıl tepki vereceğini belirler (Haghir ve ark., 2017).

Proapoptotik bir protein olan Bax proteini, oksidatif stres koşullarında artar ve daha sonra sitozolde sitokrom C'nin salınmasıyla membran geçirgenliğinin bozulmasına neden olur. Programlanmış hücre ölümü olan apoptoz, hücre ölümünün aktif, sıkı bir şekilde düzenlenmiş ve genetik olarak kodlanmış bir şeklidir. Apoptozis normal fizyolojik durumlarda meydana gelebilir ve hayvan gelişiminin ve homeostazisinin önemli bir özelliğidir. Bununla birlikte apoptozun düzensizliğinin Parkinson, AH ve Huntington hastalığı gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda rol

oynadığı ortaya çıkmıştır (Delascio Lopes ve ark., 2011; Haghiri ve ark., 2017). Bu kendi kendini yok eden yol, mitokondriyal depolarizasyon, membran taşması, kromatinin yoğunlaşması, çekirdeğin ve sitoplazmanın sıkışması ve DNA parçalanması gibi özel morfolojik özelliklerle karakterize edilir (Jawerbaum ve White, 2011). Apoptozis hücre ölümü uyarılarına yanıt olarak oluşan kaspazlar tarafından yürütülür. Apoptozis esnasında sitozolik sitokrom C ile etkileşen Apaf 1, apoptozomu oluşturur. Bunun sonucunda apoptozisin yürütülmesinde anahtar rol oynayan Kaspas-3'ün aktivasyonu uyarılır (He ve ark., 2016).

### **2.6.3. TNF- $\alpha$**

TNF- $\alpha$  'nın tüm hücreler ve immunositler olmak üzere yüzeyde bağlanabileceği yaklaşık 15 kadar hücre membran reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlerce aktivasyon meydana gelince spesifik hücresel yanıt oluşmaktadır ve bu süreç hücrenin ölümüyle sonuçlanmaktadır. Esas olarak TNF- $\alpha$  'nın TNFR-1 ve TNFR-2 olmak üzere 2 adet spesifik transmembran reseptörü bulunmaktadır. TNFR-1 adhezyon molekül baskılanmasını, sitotoksitesiyi, apoptozisi ve NF- $\kappa$ B aktivasyonundan sorumludur. TNF- $\alpha$  apoptozise neden olmakta ve sıklıkla bu NF- $\kappa$ B aktivasyonu ile paralellik arz etmektedir. Hiperglisemik durumlarda öğrenme ve hafıza bozukluklarının temel olarak insülin reseptör yolağının bozulması, nörotransmitter fonksiyon bozukluğu ve inflamasyon aracılarının artması yoluyla beynin hipokampus bölgesinde meydana gelen değişikliklerden kaynaklandığı belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarla hipergliseminin hipokampusta artan inflamatuvar mediatörlerle ilişkili olduğu, öğrenmeyi ve hafızayı etkilediği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2017).

Hiperglisemik koşullar altında, artan oksidatif hasara veya mitokondri arızasına bağlı olarak reaktif oksijen türlerinin birikmesi de inflamatuvar koşullara sebep olmaktadır (Ahmed ve ark., 2019). Tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalarda serum TNF- $\alpha$  seviyelerinin arttığı bu sitokinin diyabetin kontrolünde ve diyabette meydana gelen proinflamatuvar immun cevapların değerlendirilmesinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (Foss-Freitas ve ark., 2006).

#### 2.6.4. İnterlokın-10

Nöroinflamasyonun sonlandırılması, antiinflamatuvar sitokinlerin katılımıyla gerçekleştirilir ve interlokın-10 (IL-10) bu bakımdan evrensel kabul edilir. Vücudun işlevselliğini artıran anti-inflamatuvar sitokinlerin aynı zamanda bilişsel işlevin iyileştirilmesinde de rol alması beklenebilir (Donzis ve ark., 2014; Vladimir ve ark., 2019). IL-10 reseptörlerinin aktivasyonu, JAK1/Stat3, PI 3-kinazlar, MAPK, SOCS ve NF-kappa B dahil çok sayıda hücre içi sinyal yolunu düzenleyerek hücrelerin hayatta kalmasını sağlar (Lobo ve ark., 2016; Vladimir ve ark., 2019). Anti-inflamatuvar sitokinlerin rolü yalnızca inflamatuvar yanıt bağlamında gösterilmemektedir; aynı zamanda iskemi veya glutamat aracılı eksitotoksisitenin neden olduğu bir hasarda nöronların hayatta kalmasına da katkıda bulunurlar (Tukhovskaya ve ark., 2014).

IL-10'un belirli patolojilerde hafıza işlemede rol oynayabileceği varsayılmaktadır çünkü bu sitokin, dopaminerjik nöronların inflamasyon aracılı dejenerasyonuna karşı koruma sağlar ve bakteriyel enfeksiyonlar sırasında ortaya çıkan davranış bozukluklarını azaltır (Vladimir ve ark., 2019). IL-10, derin modülatör etkiler sergiler ve konakçının bağışıklık tepkilerinin dengesini kritik biçimde kontrol eder (Sabat ve ark., 2010; Uhde ve ark., 2018). IL-10, inflamasyon sırasında normal nöro-immun iletişimin sürdürülmesinde kritik öneme sahiptir (Tegeler ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2019).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Deney hayvanları

Bu çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 36 adet 200-250 gr ağırlığında Wistar-Albino ırkı dişi rat kullanıldı. Ratlar deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlık uygulanmış, sıcaklığı  $22 \pm 2$  °C olarak ayarlanmış odalarda, önlerinde sürekli olarak ad libitum olacak şekilde standart pelet sıçan yemi ve taze su bulunan kafeslerde barındırıldı. Bu çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından 29/12/2022 tarihinde verilen 2022/13-10 nolu karar ile gerçekleştirildi.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Gruplandırma ve Deneysel Plan

Çalışmaya dahil edilen ratlar her grupta 6 adet olacak şekilde toplamda 6 gruba ayrıldı. Çalışmada oluşturulan deney grupları ve her bir grupta yer alan ratlara uygulanan işlemler aşağıda belirtildiği gibi sınıflandırıldı.

- 1- Kontrol grubu:** 0.2 ml serum fizyolojik (SF) intraperitoneal (i.p) yol ile tek doz verildi.
- 2- Timokinon (TQ) Grubu:** Timokinon mısırözü yağında çözdürülerek, 30 mg/kg/gün olarak 21 gün süresince gavaj ile oral yoldan verildi.
- 3- Diyabet (STZ) Grubu:** STZ intraperitoneal (i.p) yoldan tek doz 45 mg/kg olarak uygulandı, 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biyosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan şekerleri 250 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi.
- 4- Diyabet + Timokinon (STZ+ TQ) Grubu:** 45 mg/kg STZ intraperitoneal (i.p) diyabet şekillendirilen ratlara, mısırözü yağında çözdürülen TQ çözeltisi 50 mg/kg/gün olarak 21 gün boyunca gavaj ile oral yoldan verildi.

**5- Diyabet + Vitamin C (STZ+ Vit C) Grubu:** 45 mg/kg STZ intraperitoneal (i.p) diyabet şekillendirilen ratlara, SF içerisinde çözdürülen vitamin C 500 mg/kg/gün olarak 21 gün boyunca gavaj ile oral yoldan verildi.

**6- Diyabet + Timokinon +Vitamin C (STZ+ TQ+ Vit C):** 45 mg/kg STZ intraperitoneal (i.p) diyabet şekillendirilen ratlara, mısırözü yağında çözdürülen TQ çözeltisi 50 mg/kg/gün ve vitamin C 500 mg/kg olarak 21 gün boyunca gavaj ile oral yoldan verildi.

### 3.2.2. STZ ile Deneysel Diyabetin Oluşturulması

STZ deneysel diyabet modeli oluşturmak için oldukça sıklıkla kullanılan yöntemlerden birisidir. Diyabet oluşturulacak sıçanlar için 45 mg /kg tek doz STZ i.p. yolla uygulandı (Şekil 11) (Dey ve ark., 2022). STZ uygulamasından 72 saat sonra sıçanlar bir gece önceden aç bırakılarak kuyruk veninden alınan kandan kan şekeri değerleri PlusMED Accuro marka biyosensor şeker ölçüm cihazı ile ölçüldü. Kan şekeri değeri 250 mg/dL ve üzeri olan sıçanlar diyabetik sıçan olarak kabul edildi (Ravi ve ark., 2005). Çalışmamızda 1., 3., ve 21. gün kan şekeri değerleri düzenli olarak ölçüldü.



**Şekil 11.** Sıçanlara IP olarak STZ enjeksiyon uygulanması.

### 3.2.3. Örneklerin toplanması ve hazırlanması:

Deney sonucunda ratlar, 50 mg/kg dozunda ketalar ve 10 mg/kg dozunda xylazin kombinasyonunun i.p olarak uygulanması ile anesteziye alındı. Daha sonra, anestezi altında ratların torakal bölgesi açılarak kalpten kan alındı ve sakrifiye edildi. Biyokimyasal analizler için, kalbin sol ventrikülünden alınan kanlar biyokimya tüplerine alındı. Bu işlemden sonra, her bir ratın karaciğer dokuları dikkatli bir şekilde diseke edilerek çıkarıldı. Çıkarılan karaciğer dokusu stereolojik, histolojik ve immunohistokimyasal inceleme için %10'luk tamponlu formaldehit içerisine alındı. Formaldehit içerisinde fikse edilen karaciğer dokusu uygun histolojik takip aşamalarından geçirildikten sonra parafin içerisine gömülerek blok haline getirildi.

Doku bloğu haline getirilen karaciğer dokusundan 4 µm kalınlığında ardışık kesitler alındı. İlk ardışık kesit rastgele sonraki ardışık kesitler ise her 30 adımda bir alındı. Alınan kesitlerden karaciğer dokusu, stereolojik ve immunohistokimyasal değerlendirme için Hematoksilen Eozin (H&E) Boyama ile boyandı. İmmunohistokimyasal değerlendirme için karaciğer dokularının Kaspas-3, Bcl-2, IL-10 ve TNF-α antikorları kullanılarak ve ilgili firmaların prosedürüne uygun olarak boyanması sağlandı.

### 3.2.4. Dokuların Takibi İşlemi

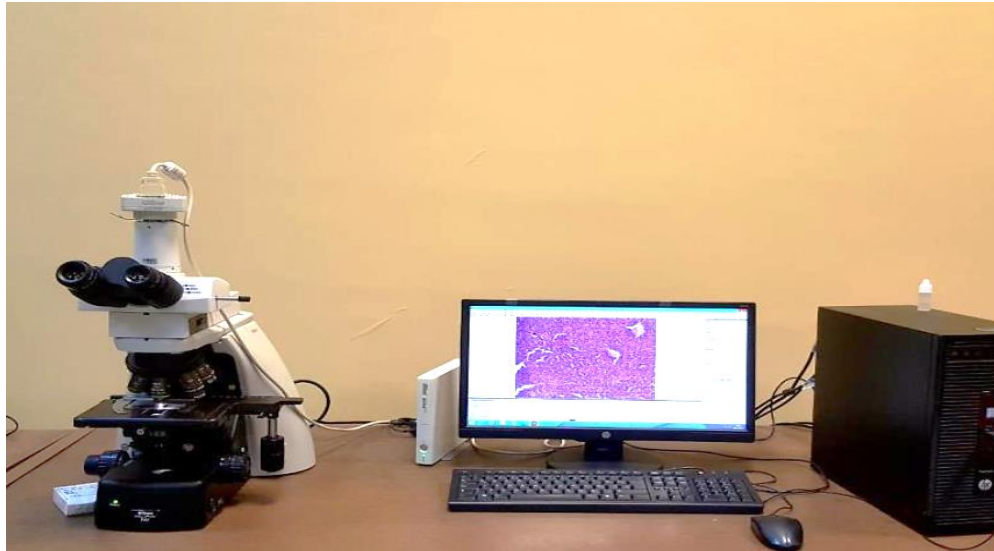
Her bir gruptan çıkartılan karaciğer dokuları %10'luk tamponlu formaldehit çözeltisinde 48 saat boyunca fikse edildi. Tespit işleminden sonra karaciğerler eşit aralıklarla (0.5 cm) fiziksel parçalara (fraksiyonlarına) ayrıldı. Her bir aşamada sistematik ve rastgele olarak seçilen karaciğer dokularından yaklaşık 1 cm<sup>3</sup> kesilerek kasetlerin içerisine konulduktan sonra çeşme suyu altında 4-5 saat yıkandı ve diğer doku takip aşamaları (Tablo 1) otomatik doku takip cihazı (LEICA ASP300S) kullanılarak gerçekleştirildi. Doku takibinden sonra analizler için karaciğer dokusu parafin içerisine gömülerek blok haline getirildi.

**Tablo 1.** Doku takip işlemi

<b>Kullanılan Kimyasal Maddeler</b>	<b>Uygulama Süresi</b>
%70'lik Alkol	1 saat
%80'lik Alkol	1 saat
%90'lık Alkol	1 saat
%96'lık Alkol	1 saat
%96'lık Alkol	1 saat
Ksilen 1	1 saat
Ksilen 2	1 saat
Ksilen 3	1 saat
Parafin 1	1 saat
Parafin 2	1 saat

### **3.2.5. Hematoksilen Eozin (H&E) Boyama**

Parafin bloklardan Leica RM 2125 marka rotary mikrotomda 4 µm kalınlığında alınan kesitlere stereolojik değerlendirme için H&E ile boyama yapıldı. H&E boyama aşamaları Tablo 2'de gösterildi. Çalışmada lamlara alınan tüm kesitlerin mikroskopik incelenmesi Nikon Eclipse Ni-U marka araştırma ışık mikroskopunda gerçekleştirildi (Şekil 12).



**Şekil 12.** Sayımda kullanılan fotoğraf ataçmanlı araştırma ışık mikroskopu (Nikon Y-IM JAPAN 7551012).

**Tablo 2.** H&E boyama aşamaları

3 kez ksilende bekletme	5'er dk
Azalan alkol serilerinden geçirme (%96, %90, %80, %, %70)	5'er dk
Distile suda bekletme 5 dk	5 dk
Hematoksilende bekletme 2 dk	2 dk
Musluk suyundan geçirme 5 dk	5 dk
Eozinde bekletme 1 dk	1 dk
Musluk suyunda çalkalama 5 dk	5 dk
3 kez ksilende bekletme 5'er dk	5'er dk
Dokuların kurutulması	10 dk
Entellan damlatılıp, lamelle kapatılma	---

### 3.2.6. Stereolojik Analiz

Rutin histolojik doku takibinden sonra parafine gömülen karaciğer dokusundan SRÖ (sistemik rastgele örnekleme) ile ortalama 13-17 adet kesit alındı. İlk kesit rastgele sonraki kesitler ise sistemik olarak 30 adımda bir alındı. Alınan kesitler deparafinize edildikten sonra Hematoksilen-eozin boyama yöntemi ile boyandı. Karaciğer dokusunun hacim hesaplama işlemleri için noktalı alan ölçüm cetveli kullanıldı. Bununla birlikte, ölçüm cetvelinde damar kısmına ve alandaki karaciğer kesitlerine denk gelen noktalar sayılarak damar ve karaciğer hacmi hesaplandı. Karaciğer hacmi Cavalieri metodu kullanılarak,  $V = T \cdot a/p \cdot \Sigma P$  formülü ile hesaplandı. Burada V: Toplam hacmi, T: kesit kalınlığını, a/p: bir noktanın kapladığı alanı,  $\Sigma P$ : dokuya denk gelen toplam nokta sayısını ifade etmektedir (İgit, 2024). Her kesit için ayrı ayrı hesaplanan hacimler toplanarak karaciğerin total hacmi bulundu. Damar hacim yoğunluğu için aşağıdaki formül kullanıldı (Noorafshan, 2014).

$$V_{v(\text{structure}/\text{ref})} = V_{(\text{structure})}/V_{(\text{total})} \times 100$$

$V_{(\text{structure})}$ : İlgili yapının (damar) hacmi,  $V_{(\text{total})}$ : Dokunun (karaciğer) hacmi

### 3.2.7. İmmunohistokimyasal boyama:

İmmunohistokimyasal inceleme Tablo 3'te yer alan basamaklar dikkate alınarak yapıldı. İmmunohistokimyasal değerlendirmede ışık mikroskobu kullanıldı (Olympus BX53, Tokyo, Japan). Boyamanın sonrasında her bir örnek mikroskopta 20'lik büyütmede 10 farklı alan incelenerek pozitif boyanan hücrelerin sayımı yapıldı ve ortalamaları hesaplandı. İmmunohistokimyasal analiz için Kaspaz-3 (Cloud-Clone Crop., PAA626Hu01, USA), Bcl-2 (Cloud-Clone Crop., PAA778Mu01, USA), TNF- $\alpha$  (Cloud-Clone Crop., PAA133Ra01, USA) ve IL-10 (Cloud-Clone Crop., PAA056Mu01, USA) antikorları kullanıldı.

Dokulardaki Kaspaz-3 TNF- $\alpha$ , Bcl-2 ve IL-10 ekspresyonları İHK olarak değerlendirildi. İmmunohistokimyasal değerlendirmeler için 40x büyütmede karaciğer dokusundan rastgele seçilen 10 farklı alan incelenerek boyanmanın şiddeti semikantitatif olarak değerlendirildi. Ekspresyon şiddetleri boyanmanın derecesine göre; negatif (-), zayıf (+), orta (++) ve yoğun (+++) olarak belirlendi.

**Tablo 3.** İmmunohistokimya boyama aşamaları

Dokuların etüvde (60 °C) beklemesi	1 saat
Dokuların 3 kez ksilende bekletilmesi	5'er dk
Azalan alkol (%100, %96, %80, %70) serilerinden geçirilmesi	5'er dk
2 Distile su serisinde bekletme	5'er dk
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'de bekletme	10 dk
Dokuları PBS'te 3 kez bekletme	5'er dk
Anti-retrival (sitrat buffer solüsyonu) ile 500 watt mikrodalga fırında	10 dk 2 kez kaynatma
Soğuması beklenen dokuların 3 kez PBS'ten geçirilmesi	5'er dk
Dokunun etrafının Pap Pen hidrofobik doku sınırlama kalemiyle çizilmesi	
Dokuların üzerine protein blok damlatılması	20 dk bekleme
PBS ile 3 defa yıkanması	5'er dk

Doku üzerine primer antikor damlatılması (Kaspaz-3, Bcl-2, IL-6, TNF- $\alpha$ )	4 <sup>0</sup> C’de 1 gece inkübe edildi
3 kez PBS’te bekletme	5’er dk
Biyotinlenmiş sekonder antikor (Biotynitlated Goat Anti-Polyvalant) damlatılması	30 dk bekletme
3 kez PBS’te bekletme	5’er dk
HRP Conjugat (Streptavidin peroxidase) eklenmesi	30 dk bekleme
3 kez PBS’te bekletme	5’er dk
DAB’ın doku üzerine pipetle damlatılması ve kahverengi renk görülünce preparatların hemen distile suda yıkanması	
Distile suda yıkama	
Hematoksilende bekletilme	1 dk
Çeşme suyunda yıkama	
Artan alkol serilerinden geçirme (%70, %80, %96, %100)	5’er dk
Ksilen 1 ve 2 serilerinden geçirilmesi	5’er dk
Entellan damlatıp lamelle kapatma	

### 3.2.8. Biyokimyasal Analiz

Ratlardan alınıp biyokimya tüplerine aktarılan kanlar 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst tarafta kalan serum örnekleri eppendorf tüplere konuldu. Serum örneklerinde Alkalen fosfataz (ALP), Aspartat aminotransferaz (AST) ve Alanin aminotransferaz (ALT) seviyeleri Roche hitachi (C502) marka cihazda ölçüldü. Belirlenen ALP, AST ve ALT seviyeleri U/L olarak ifade edildi.

### 3.3. İstatistik Analiz

Yapılan bu çalışmanın örnek büyüklüğünü hesaplamada, her değişken için Power (Testin Gücü) en az %80 ve Tip-1 hata %5 alınarak belirlendi. Çalışmadaki sürekli ölçümlerin normal dağılıp dağılmadığına Shapiro-Wilk testi ile bakılmış ve ölçümler normal dağılmadığından dolayı Nonparametrik testler uygulandı. Çalışmadaki sürekli

değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart sapma, median ve range olarak ifade edildi.

Gruplara göre karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H testi” kullanıldı. Kruskal-Wallis testini takiben, birbirinden farklı grupları belirlemede “Bonferroni düzeltmeli Post-Hoc Testi” kullanıldı. Ölçekler arası ilişkiyi belirlemede ise Spearman korelasyon katsayıları hesaplandı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi  $P < 0.05$  olarak alındı. Analizler için, SPSS (IBM SPSS for Windows, ver.26) istatistik paket programı kullanıldı.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Grupların Kan Glikoz Düzeyleri

**Tablo 4.** Ratların kan glukoz düzeylerine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

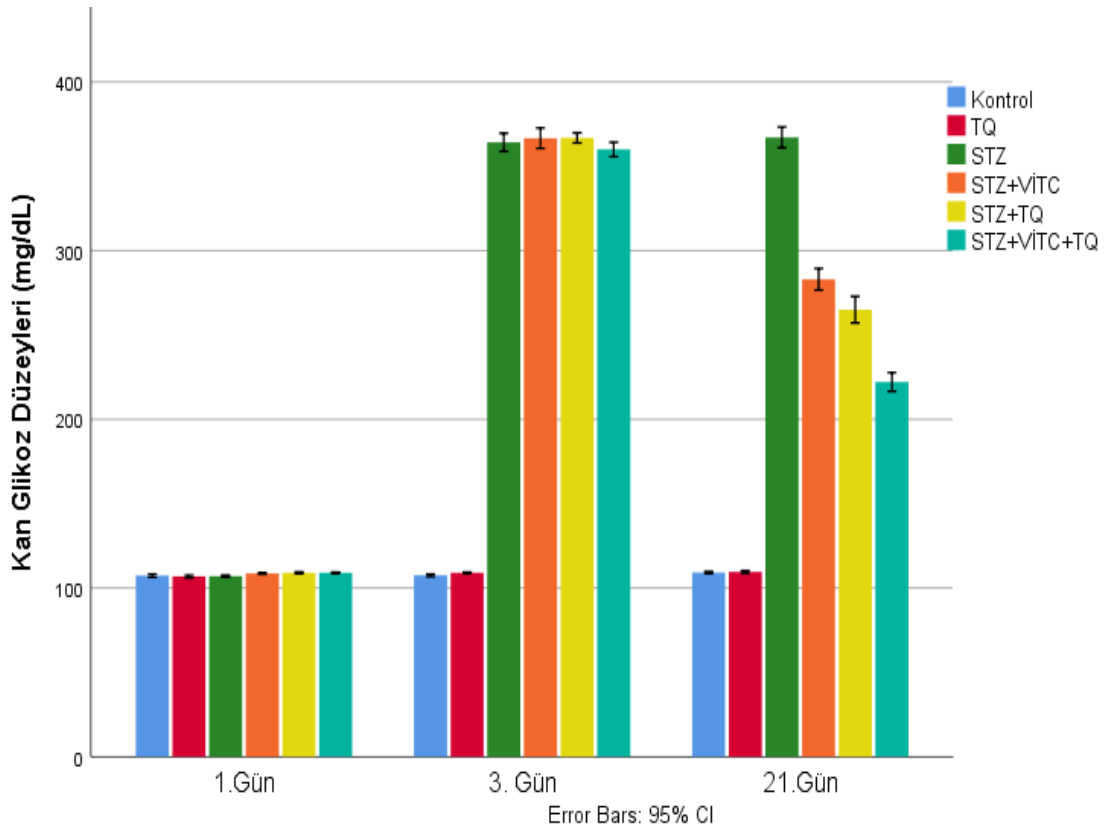
Grup	Gün	Ort.	Std. Sap.	Median	Range	*P.
Kontrol	1. Gün	107.33	2.34	107.00	5.00	0.065
TQ		106.83	1.94	106.50	5.00	
STZ		107.00	1.41	107.00	4.00	
STZ+VİTC		108.67	1.21	108.50	3.00	
STZ+TQ		109.00	1.26	109.50	3.00	
STZ+VİTC+TQ		109.00	0.89	109.00	2.00	
Kontrol	3. Gün	107.50 b	1.87	107.50	5.00	0.001
TQ		109.00 b	0.89	109.00	2.00	
STZ		364.17 a	13.20	365.00	35.00	
STZ+VİTC		366.67 a	14.72	370.00	40.00	
STZ+TQ		366.83 a	7.41	367.00	23.00	
STZ+VİTC+TQ		360.00 a	10.55	360.00	29.00	
Kontrol	21. Gün	109.17 d	1.47	109.50	4.00	0.001
TQ		109.50 d	1.87	109.50	5.00	
STZ		367.17 a	15.11	370.00	40.00	
STZ+VİTC		283.00 b	15.68	279.00	45.00	
STZ+TQ		265.00 b	19.24	260.00	50.00	
STZ+VİTC+TQ		222.17 c	13.57	220.00	35.00	

\*Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi; a, b, c: Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir

Yaptığımız çalışmada 1., 3. ve 21. günlerde grupların hepsinden düzenli olarak kan glukoz düzeyleri alındı, not edildi ve istatistiki analizi yapıldı. Ratların kan glukoz düzeylerine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Tablo 4’de sunuldu. Tablo 4 verilerine göre, 1. gün gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmedi ( $P>0,05$ ). Gruplarda kan glukoz düzeyleri genellikle ortalama olarak yaklaşık 107-109 mg/dL olarak ölçüldü. Gruplardaki kan glukoz düzeylerine 3.günde bakıldığında, kan glukoz düzeylerinin diyabet gruplarının tamamında önemli seviyede yükseldiği saptandı.

Kontrol ve TQ grubuna göre diğer tüm diyabet gruplarında görülen bu farklılığın istatistiki olarak anlamlı olduğu görüldü ( $P<0,05$ ). Gruplardaki görülen bu anlamlı

farklılık Ratların STZ ile diyabet olduğunu gösterdi. Vit C, TQ ve Vit C+TQ kombinasyonları ile yapılan 21 günlük tedavi uygulaması sonucunda, STZ grubu ile tedavi grupları arasında istatistiki olarak anlamlı seviyede kan glukoz düzeyinin düştüğü belirlendi ( $P<0.05$ ). Özellikle STZ+VİTC+TQ ile tedavi edilen grupta 21. günün sonunda kan glukoz düzeyinin  $222.17\pm13.57$  mg/dL olarak hesaplandı.



**Şekil 13.** Grupların ortalama kan glukoz düzeylerinin karşılaştırılması.

Ratların kan glukoz düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 1’de verildi. Grafik verilerine göre, 1. gün tüm gruplarda normal seviyelerde olan kan glukoz düzeyleri, STZ uygulamasını takiben 3. günün sonunda önemli ölçüde yükseldiği ve Ratların diyabete girdiği görüldü. 21 günlük Vit C, TQ ve Vit C+TQ ile yapılan tedavi uygulaması ile diyabet gruplarındaki kan glukoz düzeylerinin önemli ölçüde düştüğü gözlemlendi.

## 4.2. Stereolojik Bulgular

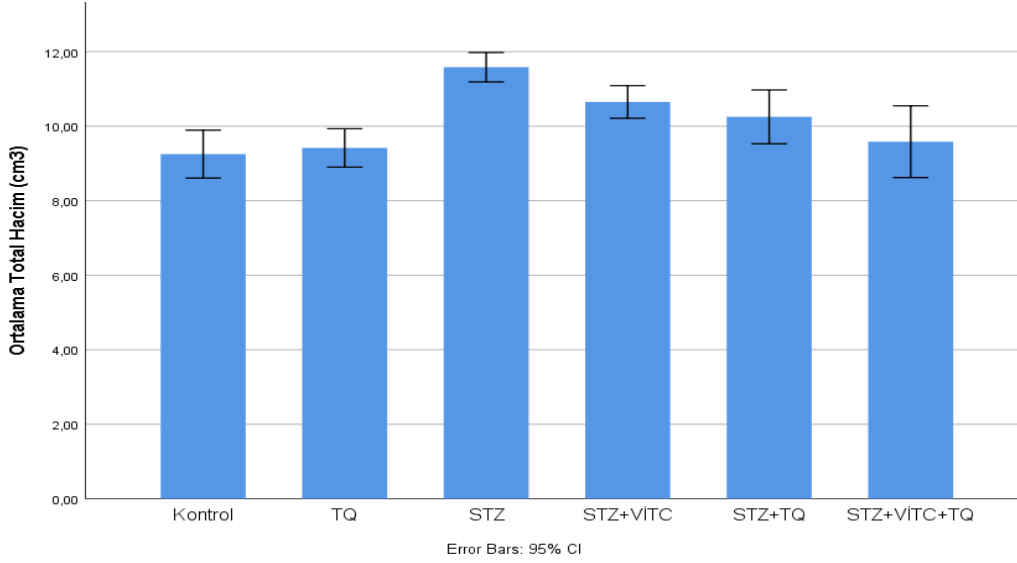
### 4.2.1. Gruplardaki karaciğere ait ortalama toplam hacim değerleri

**Tablo 5.** Ratların karaciğerlerine ait Total Hacim ölçüm değerlerinin tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.

Grup	N	Ort.	Std. Sap.	Medyan	Range	*P.
Kontrol	6	9.25 c	0.61	9.00	1.50	
TQ	6	9.42 c	0.49	9.25	1.00	
STZ	6	11.58 a	0.38	11.50	1.00	<b>0.001</b>
STZ+VİTC	6	10.65 b	0.42	10.75	1.00	
STZ+TQ	6	10.25 b	0.69	10.50	2.00	
STZ+VİTC+TQ	6	9.58 c	0.92	10.00	2.50	

\* Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi; a, b, c: Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir

Çalışmamızda kullanılan tüm grupların ortalama karaciğer hacim değerleri hesaplandı. Karaciğer hacim ölçüm değerleri  $\text{cm}^3$  birimi ile ifade edildi. Gruplara ait karaciğerin ortalama total hacim ölçümü değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırma sonuçları Tablo 5'te verildi. Buna göre, STZ grubunda ortalama hacim değerinin diğer gruplara oranla istatistiki olarak anlamlı seviyede olduğu tespit edildi ( $P < 0.05$ ). STZ+VİTC ve STZ+TQ gruplarının kendi aralarında ortalama total hacim ölçüm değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken ( $P > 0.05$ ), bu gruplar ile STZ, STZ+VİTC+TQ, TQ ve Kontrol grupları arasında anlamlı seviyede farklılık gözlendi ( $P < 0.05$ ). Son olarak, STZ+VİTC+TQ grubu ile Kontrol ve TQ grupları arasında ortalama total karaciğer hacim ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ( $P > 0.05$ ).



**Şekil 14.** Grupların ortalama total karaciğer hacim ölçümlerinin karşılaştırılması.

Ratların ortalama total karaciğer hacim ölçümlerinin Şekil 14’te sunuldu. Buna göre, STZ grubunda Ratların ortalama total hacim ölçüm değerlerinin en yüksek seviyede olduğu görüldü. Ayrıca, Vit C, TQ ve VİTC+TQ kombinasyonları ile yapılan tedaviler sonucunda karaciğerin ortalama total hacim değerlerinin Kontrol ve TQ grupların ortalama ölçüm değerlerine yaklaştığı gözlemlendi.

#### 4.2.2. Gruplardaki karaciğere ait ortalama damar hacim yoğunlukları (%).

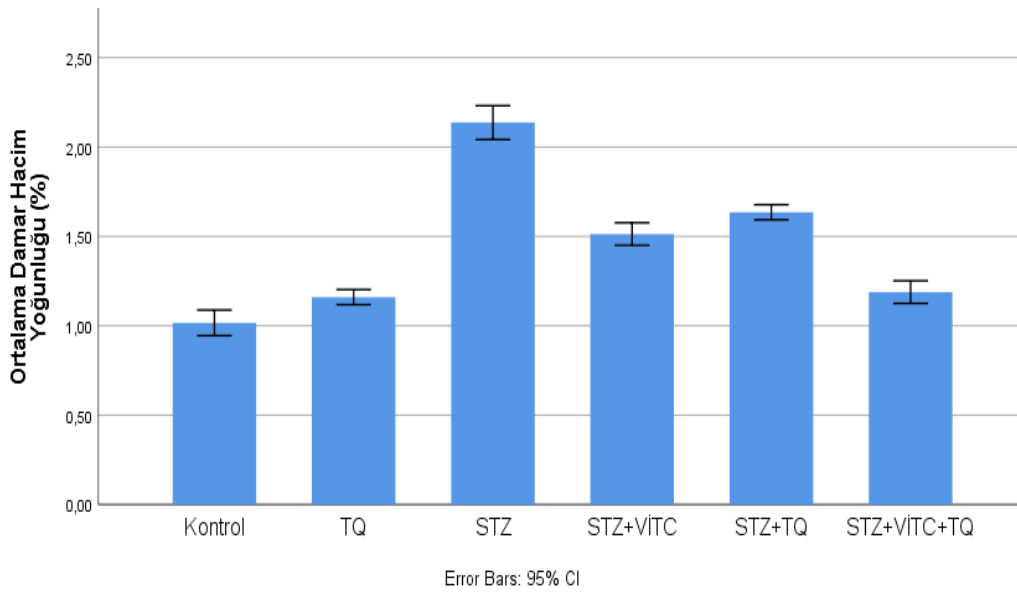
**Tablo 6.** Ratların karaciğerlerine ait ortalama damar hacim yoğunluklarının (%) tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırma sonuçları

Grup	N	Ort.	Std. Sap.	Medyan	Range	*P.
Kontrol	6	1.017 c	0.176	1.020	0.460	<b>0.001</b>
TQ	6	1.160 c	0.104	1.155	0.250	
STZ	6	2.137 a	0.232	2.105	0.550	
STZ+VİTC	6	1.513 b	0.155	1.510	0.430	
STZ+TQ	6	1.635 b	0.103	1.640	0.310	
STZ+VİTC+TQ	6	1.188 c	0.155	1.135	0.380	

\* Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi; a, b, c: Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir

Çalışmamızda kullanılan tüm grupların ortalama damar hacim yoğunlukları daha önce belirtilen yöntemdeki formül kullanılarak % olarak hesaplandı. Gruplara ait karaciğerin ortalama damar hacim yoğunlukları ölçüm değerlerinin tanımlayıcı

istatistikleri ve karşılaştırma sonuçları Tablo 7’de verildi. Tablo verilerine göre, Total hacim değerinde olduğu gibi STZ grubunda ortalama damar hacim yoğunluğu ölçüm değerinin diğer gruplara oranla istatistiki olarak anlamlı düzeyde fazla olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ). Kontrol, TQ ve STZ+VİTC+TQ grupları arasında ortalama damar hacim yoğunluğu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $P>0.05$ ). STZ+VİTC ve STZ+TQ gruplarının kendi aralarında ortalama damar hacim yoğunlukları ölçüm değerleri bakımından istatistiki olarak anlamlı seviyede bir farklılık gözlenmezken ( $P>0.05$ ), bu iki grup ile kontrol, TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarının ortalama ölçüm değerleri arasında istatistiki olarak önemli seviyede farklılıklar görüldü ( $P<0.05$ ).



**Şekil 15.** Grupların ortalama damar hacim yoğunluklarının (%) karşılaştırılması.

Ratların ortalama damar hacim yoğunlukları Şekil 15’te sunuldu. Buna göre, STZ grubunda karaciğere ait ortalama damar hacim yoğunluğu ölçüm değerinin en yüksek seviyede olduğu görüldü. Ayrıca, STZ+Vit C ve STZ+TQ gruplarında ortalama damar hacim yoğunluğunun azalmaya başladığı tespit edildi. STZ+VİTC+TQ grubuna ait ortalama damar hacim yoğunluğunun Kontrol ve TQ gruplarının ortalama ölçüm değerleri düzeyine yaklaştığı gözlemlendi.

#### 4.2.3. Karaciğere ait ortalama hacim ölçüm değerleri arasındaki korelasyon

**Tablo 7.** Ratların karaciğerlerine ait ortalama total hacim ölçüm değerleri ve damar hacim yoğunlukları arasındaki korelasyon

		Damar Hacim Yoğunluğu (%)					
		Kontrol	TQ	STZ	STZ+VİTC	STZ+TQ	STZ+VİTC+TQ
<b>Total</b>	R	0.185	0.494	0.617	0.091	-0.455	-0.152
<b>Hacim</b>							
<b>(cm<sup>3</sup>)</b>	P	0.725	0.320	0.192	0.864	0.364	0.774

R: Spearman's rho korelasyon katsayısı.

Tablo 7’de, gruplara ait karaciğerlerin ortalama total hacim ölçüm değerleri ve damar hacim yoğunlukları arasındaki ilişkiye bakıldı. Buna göre, tüm gruplarda karaciğerlere ait ortalama total hacim ölçüm değerleri ve damar hacim yoğunlukları arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki tespit edilmedi ( $P>0.05$ ). Bununla birlikte, Kontrol, TQ ve STZ gruplarında Damar Hacim Yoğunluğu ölçüm değeri ile Total Hacim değerleri arasında pozitif yönlü, STZ+TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarında ise bu değerler arasında negatif yönlü korelasyonlar gözlemlendi. Son olarak, STZ grubunda ortalama Damar Hacim Yoğunluğu ve Total Hacim değerleri arasında %61,7 oranında istatistiksel olarak anlamlı seviyede olmasa da pozitif yönlü bir ilişki görüldü ( $P>0.05$ ).

### 4.3. Biyokimyasal Bulgular

**Tablo 8.** Çalışmada ölçülen bazı biyokimyasal parametrelerin tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırma sonuçları

Grup	Parametre	N	Ort.	Std. Sap.	Medyan	Range	*P.
Kontrol	ALT (IU/L)	6	40.293 e	1.352	40.230	3.800	<b>0.001</b>
TQ		6	43.633 e	1.546	43.300	3.500	
STZ		6	150.833 a	5.437	149.200	13.100	
STZ+VİTC		6	118.067 b	3.456	117.250	8.000	
STZ+TQ		6	107.133 c	3.296	105.800	8.900	
STZ+VİTC+TQ		6	97.750 d	1.487	97.650	4.000	
Kontrol		AST (IU/L)	6	58.150 f	2.144	58.450	
TQ	6		62.383 e	1.202	62.350	3.400	
STZ	6		183.067 a	2.896	182.150	8.100	
STZ+VİTC	6		149.033 b	1.618	149.000	4.700	
STZ+TQ	6		134.383 c	2.082	135.000	4.800	
STZ+VİTC+TQ	6		113.400 d	1.970	113.800	5.100	
Kontrol	ALP (IU/L)		6	98.883 f	2.050	98.200	5.800
TQ		6	102.483 e	1.784	102.650	4.500	
STZ		6	197.700 a	2.847	197.200	8.100	
STZ+VİTC		6	159.483 b	1.380	159.750	3.600	
STZ+TQ		6	154.017 c	1.026	154.200	3.000	
STZ+VİTC+TQ		6	132.500 d	2.920	131.900	6.900	
Kontrol		AST/ALT (IU/L)	6	1.445 a	0.078	1.412	0.203
TQ	6		1.432 a	0.071	1.449	0.177	
STZ	6		1.215 b	0.048	1.218	0.132	
STZ+VİTC	6		1.263 b	0.040	1.272	0.089	
STZ+TQ	6		1.255 b	0.034	1.258	0.096	
STZ+VİTC+TQ	6		1.160 c	0.020	1.170	0.046	

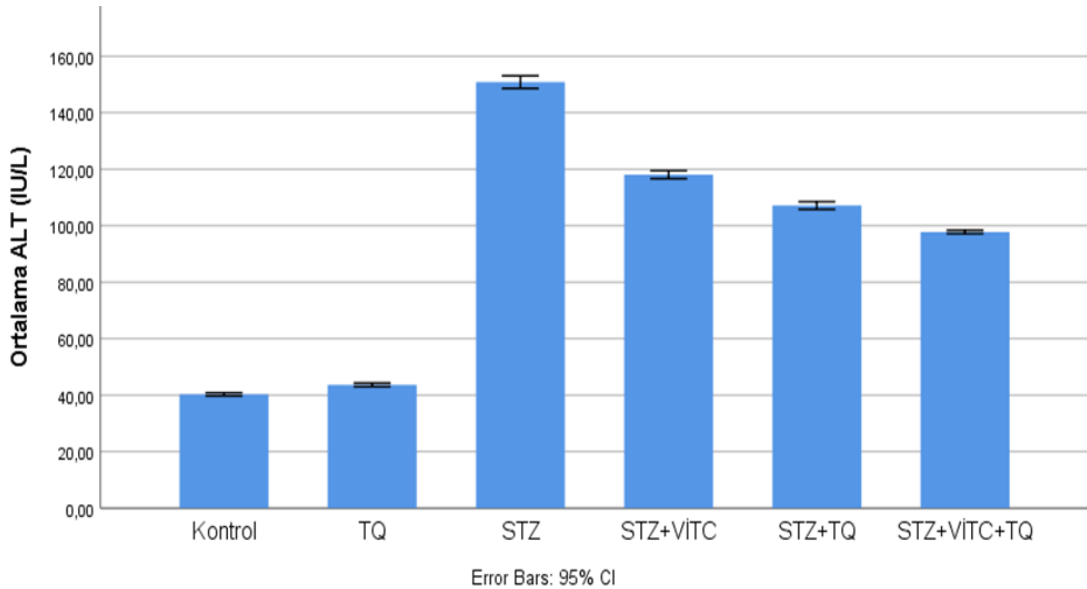
\* Kruskal-Wallis H testine göre gruplar arası anlamlılık düzeyi; a, b, c, d, e, f: Bonferroni Post-Hoc testine göre gruplar arası farkı gösterir

Çalışmada ölçülen ALT, AST, ALP ve AST/ALT biyokimyasal parametrelerinin ölçüm değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Tablo 4'te sunuldu. Tablo 5'teki ALT (IU/L) verileri incelendiğinde; STZ grubunun ortalama ALT ölçüm değerinin diğer gruplara oranla istatistiki olarak anlamlı seviyede yüksek bulundu ( $P<0.05$ ). Ayrıca, ALT ölçüm değeri bakımından, Kontrol ve TQ gruplarının kendi aralarında ortalama ALT ölçüm değeri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken ( $P>0.05$ ), bu iki grup ile STZ, STZ+VİTC, STZ+TQ, STZ+VİTC+TQ gruplarının hepsi arasında istatistiki olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi ( $P<0.05$ ).

AST'nin ortalama ölçüm değerlerinin en yüksek seviyede olduğu grubun yaklaşık  $183.067 \pm 2.896$  (IU/L) ölçüm değeri ile STZ grubunda olduğu gözlemlendi. AST ölçüm değerleri bakımında tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $P < 0.05$ ).

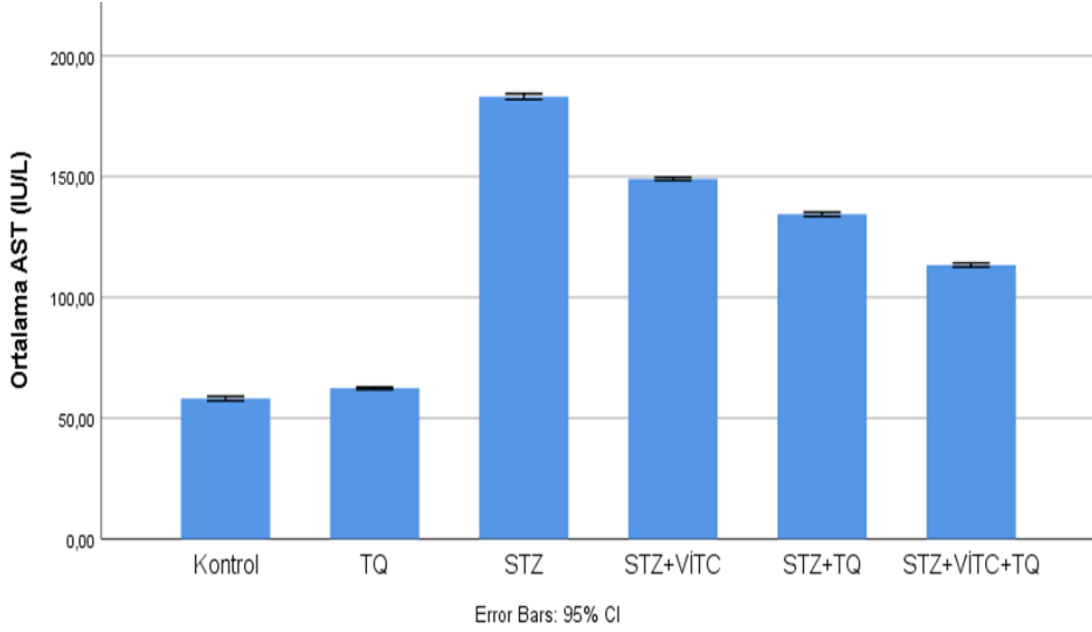
ALP ölçümüne bakıldığında, ortalama ölçüm değerlerinin en yüksek seviyede olduğu grubun yaklaşık  $197.700 \pm 2.847$  (IU/L) ölçüm değeri ile STZ grubunda olduğu gözlemlendi. Tıpkı AST ölçüm değerinde olduğu gibi, ALP ölçüm değerlerinde de tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı seviyede olduğu belirlendi ( $P < 0.05$ ).

Son olarak, AST/ALT oranlarının ortalama ölçüm değerlerine bakıldığında, kontrol grubu ile TQ grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmedi ( $P > 0.05$ ). Benzer şekilde STZ, STZ+VİTC ve STZ+TQ grupları arasında da AST/ALT oranları bakımından istatistiksel olarak önemli seviyede bir farklılık bulunmadı ( $P > 0.05$ ). Ancak, STZ+VİTC+TQ grubu ile tüm gruplar arasında anlamlı farklılık görüldü ( $P < 0.05$ ). Aynı şekilde, Kontrol ve TQ grupları ile STZ, STZ+VİTC ve STZ+TQ gruplarının her biri arasında ortalama AST/ALT ölçümleri arasında görülen farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu tespit edildi ( $P < 0.05$ ).



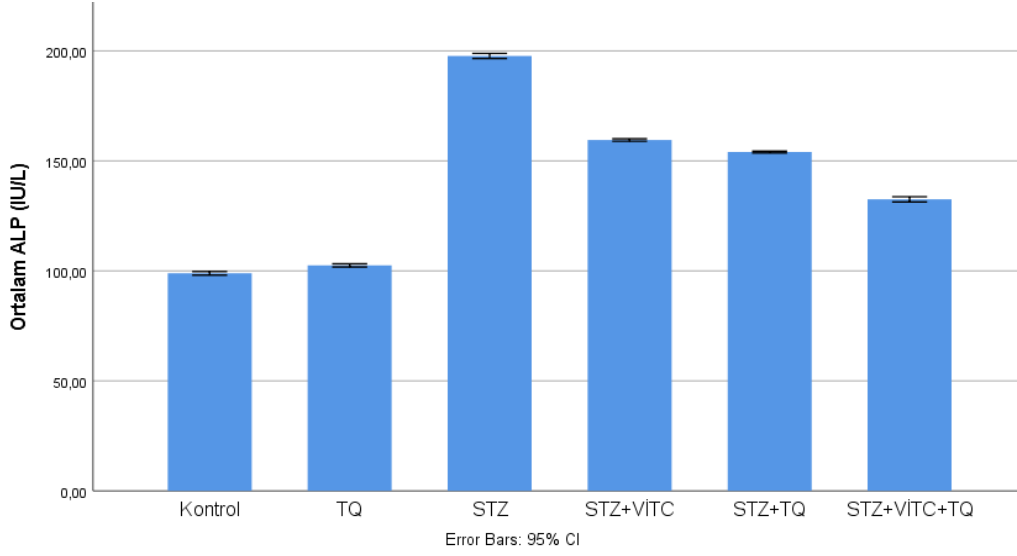
**Şekil 16.** Gruplara ait ortalama ALT ölçüm değerlerinin karşılaştırılması. ALT: Alanin transaminaz.

Gruplara ait ortalama ALT ölçüm değerleri Şekil 16’da verildi. Buna göre, ortalama ALT ölçüm değerlerinin STZ grubunda olduğu görüldü. Daha sonra, STZ+VİT C, STZ+TQ, STZ+VİT C+TQ gruplarında ortalama ALT ölçüm değerinin sırasıyla azaldığı gözlemlendi. Kontrol ve TQ gruplarında ise, ALT ölçüm değerinin en düşük olduğu saptandı.



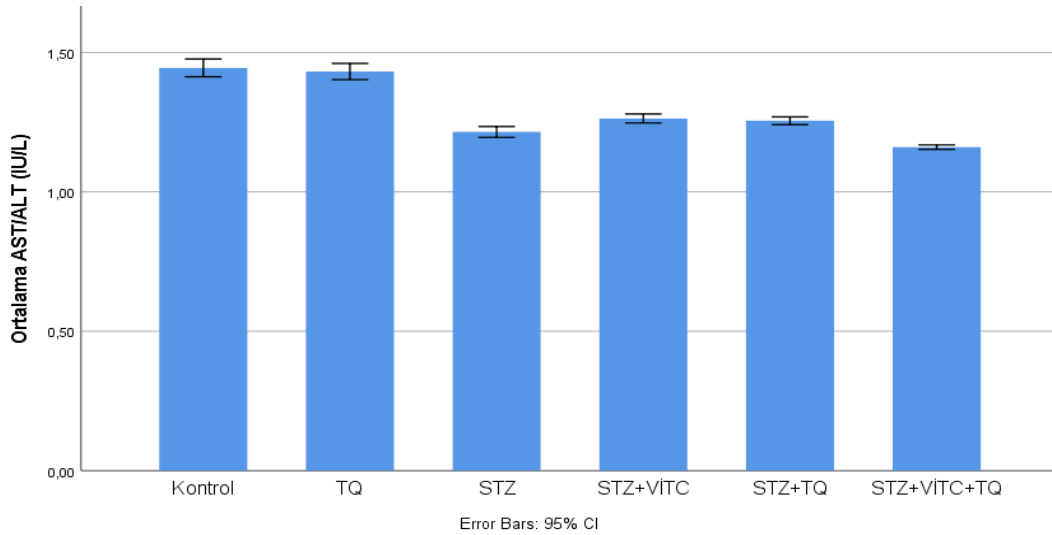
**Şekil 17.** Gruplara ait ortalama AST ölçüm değerlerinin karşılaştırılması. AST: Aspartat transaminaz.

Gruplara ait ortalama AST ölçüm değerleri Şekil 17’te gösterildi. Buna göre, AST ölçüm değeri ölçümlerinin de ALT ölçüm değerlerinde olduğu gibi, en yüksek ölçüm değerinin STZ grubunda olduğu ve sırasıyla STZ+VİT C, STZ+TQ, STZ+VİT C+TQ, TQ ve Kontrol gruplarında sırasıyla azaldığı tespit edildi.



**Şekil 18.** Gruplara ait ortalama ALP ölçüm değerlerinin karşılaştırılması. ALP: Alkalen Fosfataz.

Gruplara ait ortalama ALP ölçüm değerleri Şekil 18’de sunuldu. Buna göre, ortalama ALP ölçüm değerleri verilerinin en yüksekten en düşüğe doğru sıralamasının ALT ve AST ölçüm değerleri ile aynı olduğu gözlemlendi. Grafik verilerine göre, Ortalama ALP ölçüm değerinin en yüksek olarak STZ grubunda ve en düşük olarak ise, Kontrol gruplarında olduğu belirlendi.



**Şekil 19.** Gruplara ait ortalama AST/ALT ölçüm değerlerinin karşılaştırılması.

Gruplara ait ortalama AST/ALT ölçüm değerleri Şekil 19’da gözlemlendi. Buna göre, Kontrol ve TQ gruplarında AST/ALT oranlarının en yüksek seviyede olduğu görüldü. Daha sonra, hemen hemen aynı seviyede olan, STZ+VİTC ve STZ+TQ gruplarının geldiği tespit edildi. Bu ölçüm değerlerini sırasıyla STZ grubunun takip ettiği belirlendi. Son olarak, ortalama AST/ALT oran ölçüm değeri en düşük olarak STZ+VİTC+TQ grubunda tespit edildi.

#### 4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular

**Tablo 9.** Gruplara göre Ratların karaciğerlerindeki Kaspaz-3, Bcl-2, TNF- $\alpha$  ve IL-10 ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Gruplar	Kaspaz-3	Bcl-2	TNF- $\alpha$	IL-10
Kontrol	-	++	-	+++
TQ	-	++	-	++
STZ	+++	-	+++	+
STZ+VİTC	+	++	+	++
STZ+TQ	+	++	++	++
STZ+VİTC+TQ	+	++	-	++

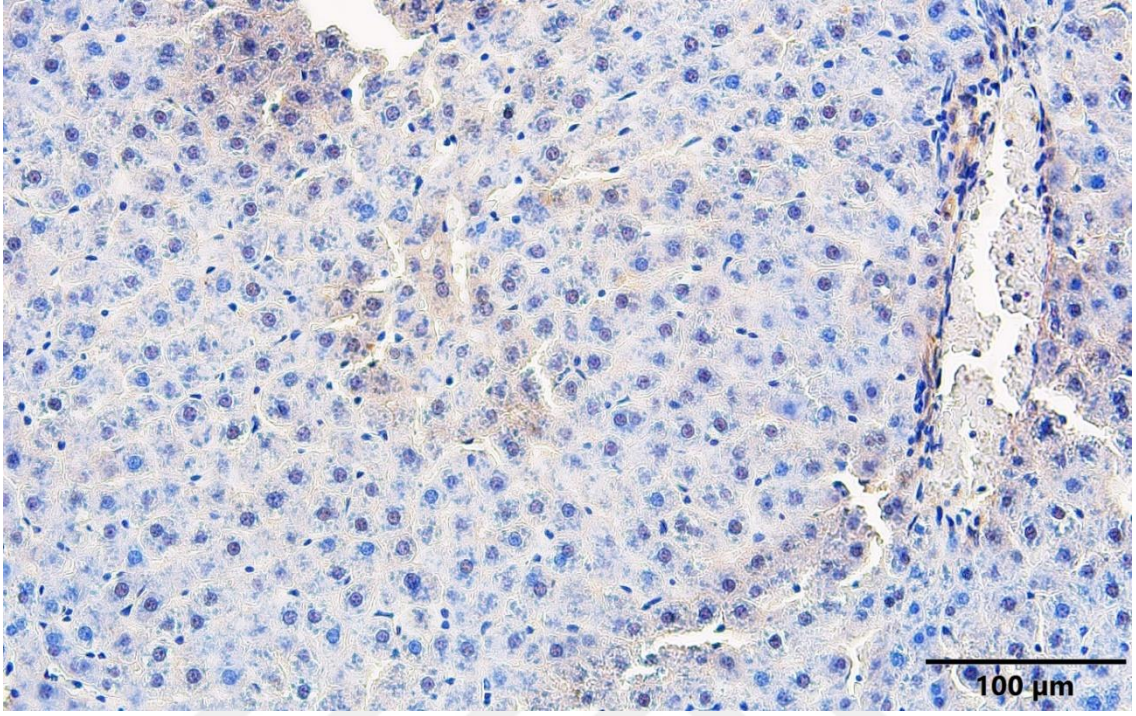
**Boyama dereceleri:** (-) = negatif; (+) = zayıf; (++) = orta; (+++) = yoğun.

##### 4.4.1. Kaspaz-3

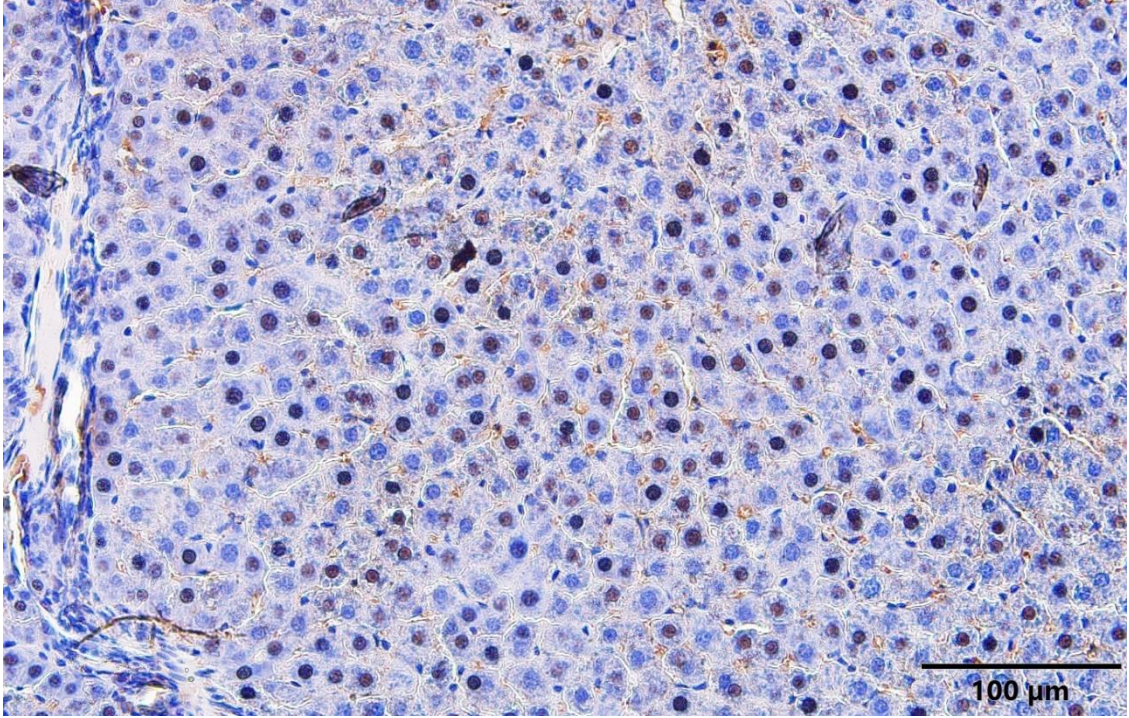
Hücrel işleyişin bozulması sonucu olarak, apoptotik ürünlerin ortaya çıkmasını sağlayan Kaspaz-3’ün gruplara göre Ratların karaciğerinde immunohistokimyasal ekspresyonları Tablo 9’da gösterildi. Buna göre, STZ grubunda yoğun olarak bulunan Kaspaz-3 ekspresyonunun, STZ+VİTC, STZ+TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarında zayıf olarak tespit edildi. Kontrol ve TQ gruplarında ise, Kaspaz-3 ekspresyonu gözlenmedi.

Gruplara göre Kaspaz-3 kullanılarak Ratların karaciğerlerine ait immunohistokimyasal boyama sonuçları Şekil 18-23 arasında verildi. Buna göre, Kaspaz-3 pozitif boyanan hücreler değerlendirildi. Yapılan immunohistokimyasal boyamada Kaspaz-3 ekspresyonunun yüksek oranda tespit edildiği alanlar koyu kahverengi boyanırken, ekspresyonun zayıf olduğu ya da bulunmadığı bölgelerde ise boyanma gözlenmedi. Bu bağlamda; Kontrol (Şekil 18) ve TQ (Şekil 19) gruplarında Kaspaz-3 aktivasyonu gözlenmezken, STZ grubunda (Şekil 20) yoğun, STZ+VİTC (Şekil 21),

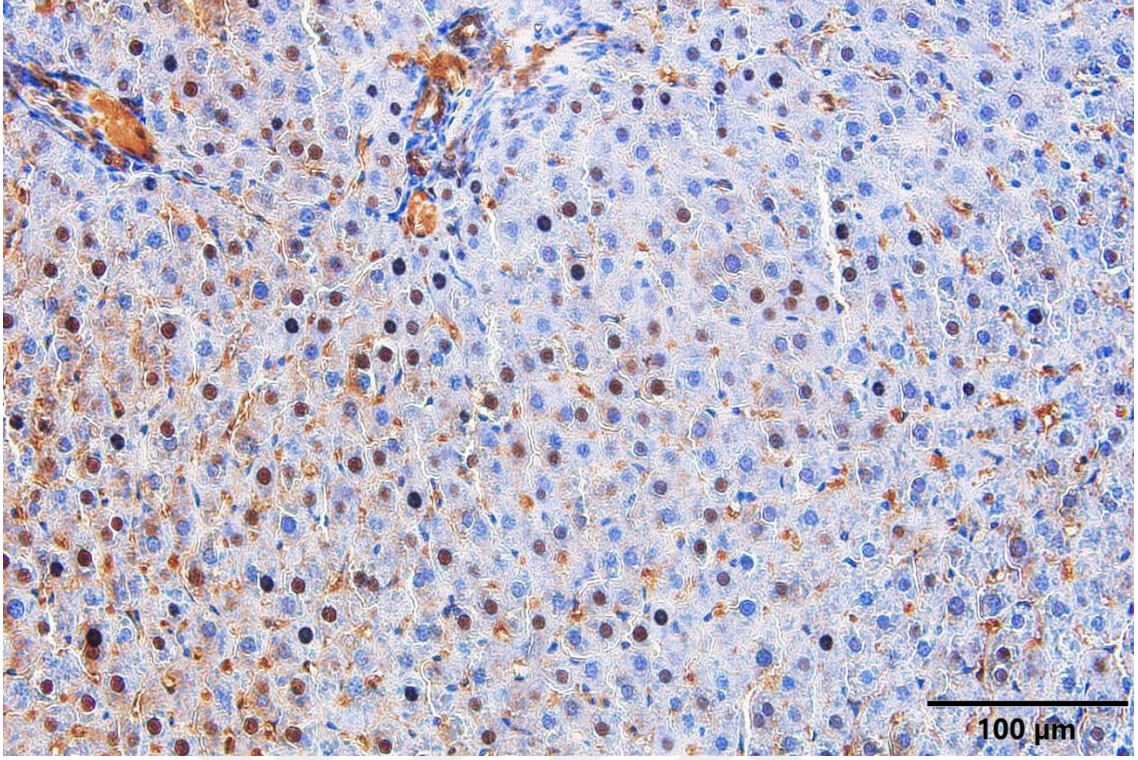
STZ+TQ (Şekil 22) ve STZ+VİTC+TQ (Şekil 23) gruplarında ise zayıf seviyede Kaspaz-3 ekspresyonuna rastlandı.



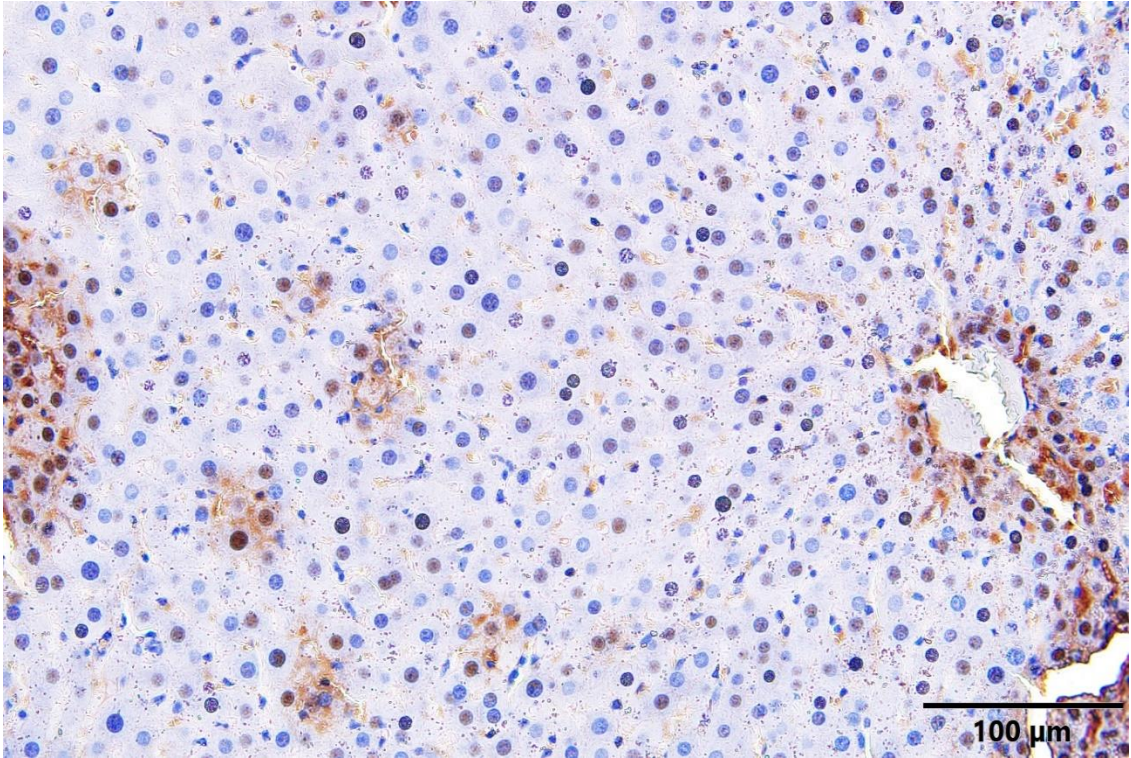
Şekil 20. Kontrol grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



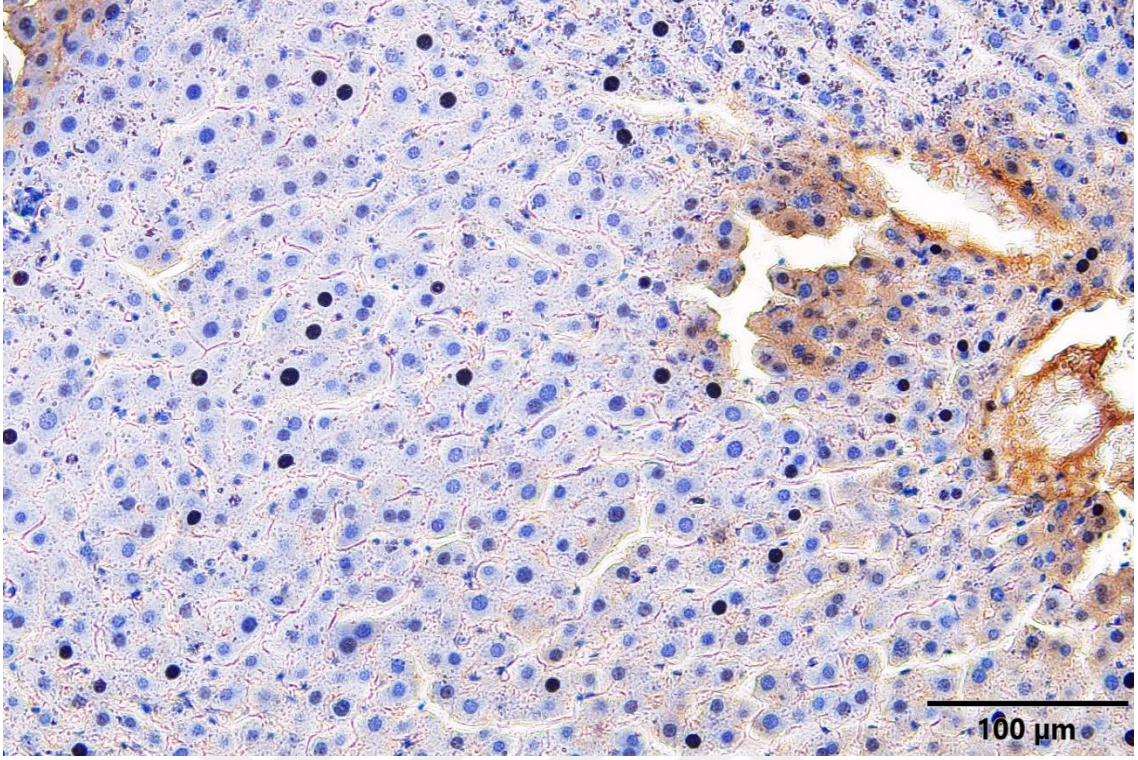
Şekil 21. TQ grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



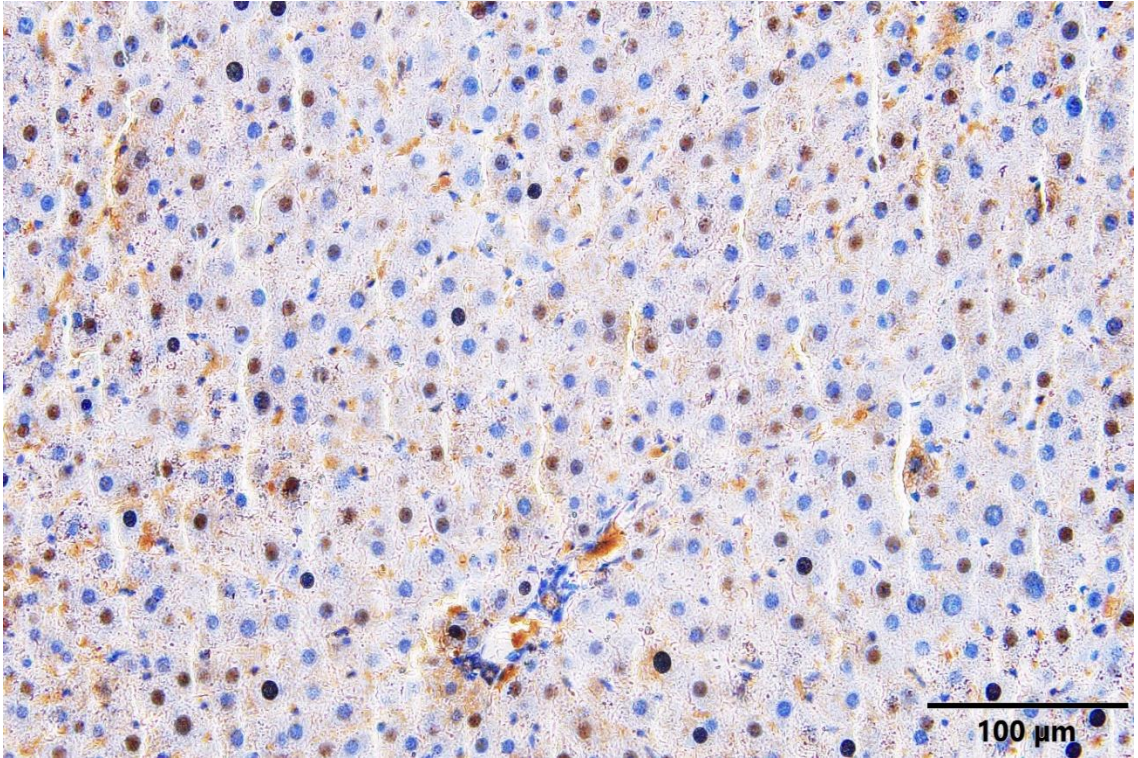
**Şekil 22.** STZ grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



**Şekil 23.** STZ+VİTC grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



**Şekil 24.** STZ+TQ grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.

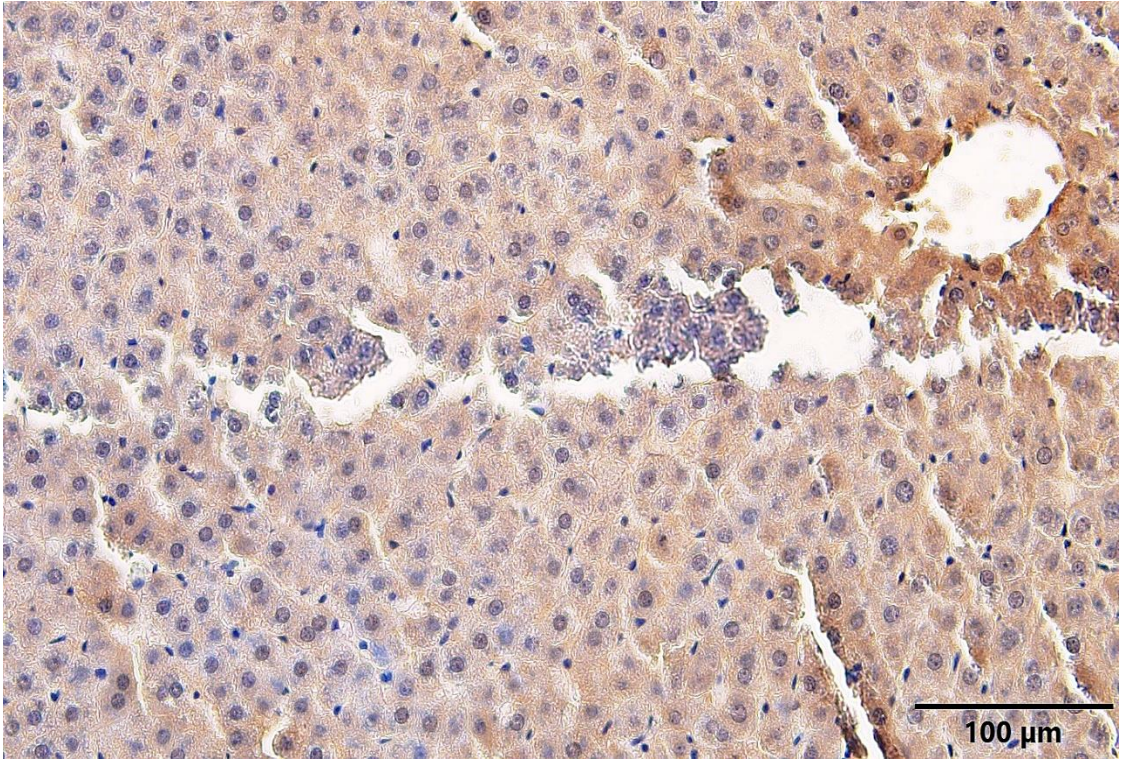


**Şekil 25.** STZ+VİTC+TQ grubuna ait Kaspaz-3 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.

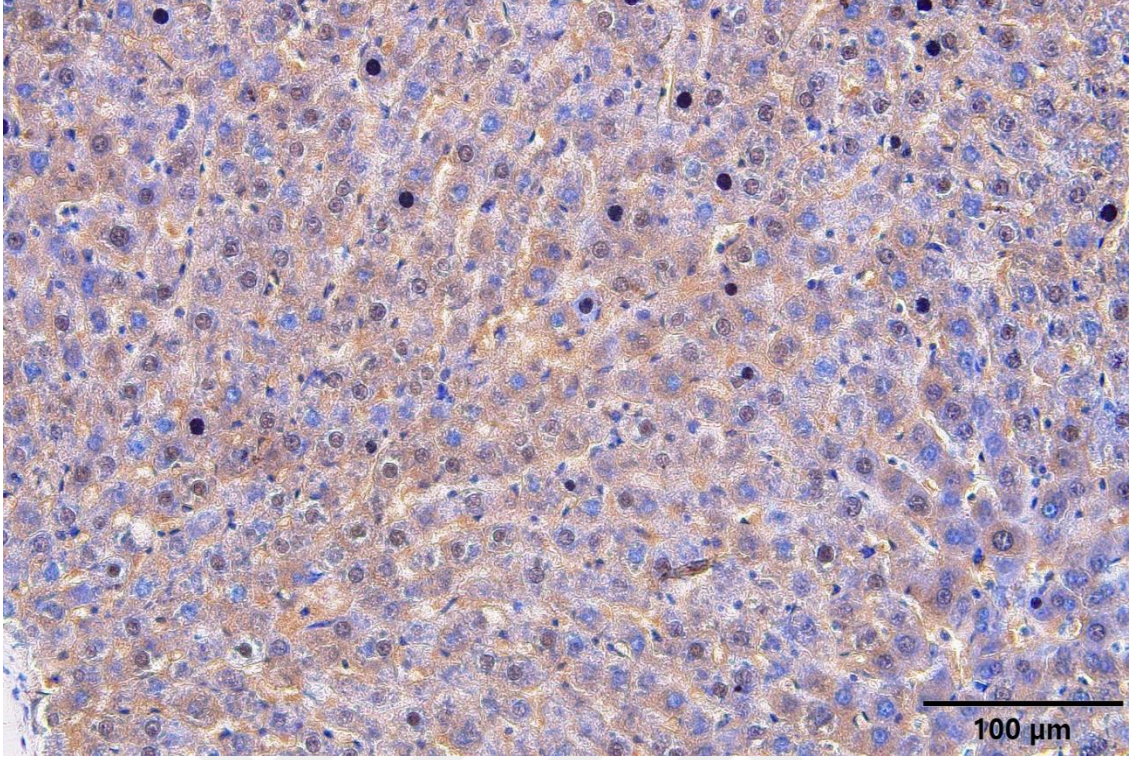
#### 4.4.2. Bcl-2

Apoptozisi düzenleyici proteinler grubunda yer alan Bcl-2'nin gruplara göre Ratların karaciğerlerinde tespit edilen immunohistokimyasal aktiviteleri Tablo 9'da sunuldu. Buna göre, STZ grubunda Bcl-2 aktivasyonu gözlenmezken, diğer grupların hepsinde orta seviyede Bcl-2 ekspresyonu tespit edildi.

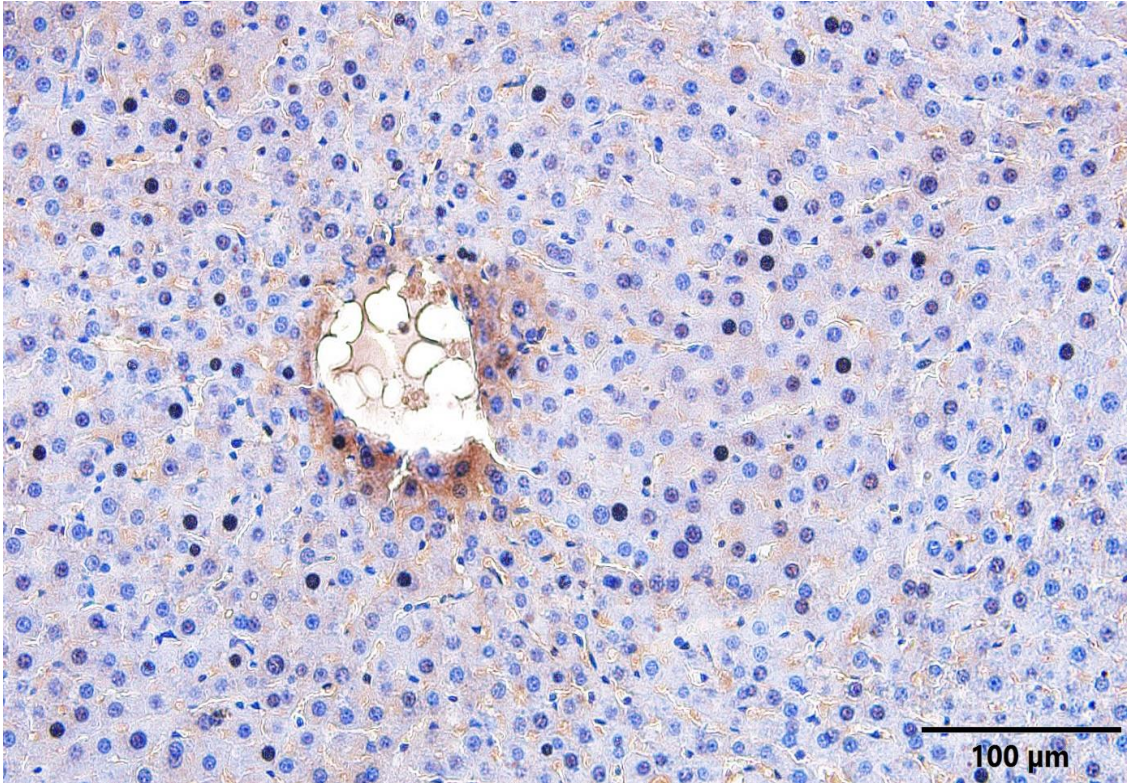
Gruplara göre Bcl-2 kullanılarak Ratların karaciğerlerine ait immunohistokimyasal boyama sonuçları Şekil 24-29 arasında verildi. Bu sonuçlara göre, Bcl-2 pozitif boyanan hücreler değerlendirildi. Anti apoptotik bir protein olan Bcl-2, apoptozisin olmadığı ya da zayıf olduğu bölgelerde koyu kahverengi boyanırken, apoptotik aktivitenin yüksek olduğu alanlarda ise boyama odağı ya çok zayıftı ya da gözlenmedi. Bu bağlamda; Kontrol (Şekil 24) ve TQ (Şekil 25) gruplarında orta, STZ grubunda negatif (Şekil 26), STZ+VİTC (Şekil 27), STZ+TQ (Şekil 28) ve STZ+VİTC+TQ (Şekil 29) gruplarında ise orta düzeyde Bcl-2 aktivitesi gözlemlendi.



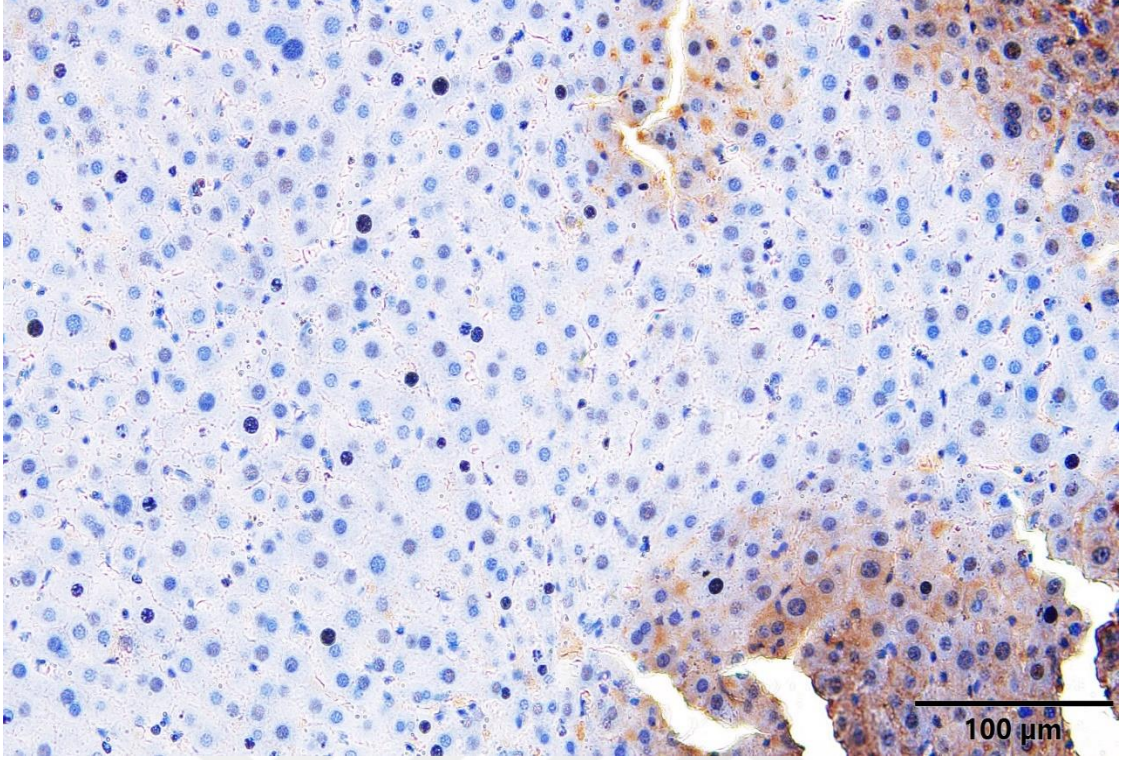
**Şekil 26.** Kontrol grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



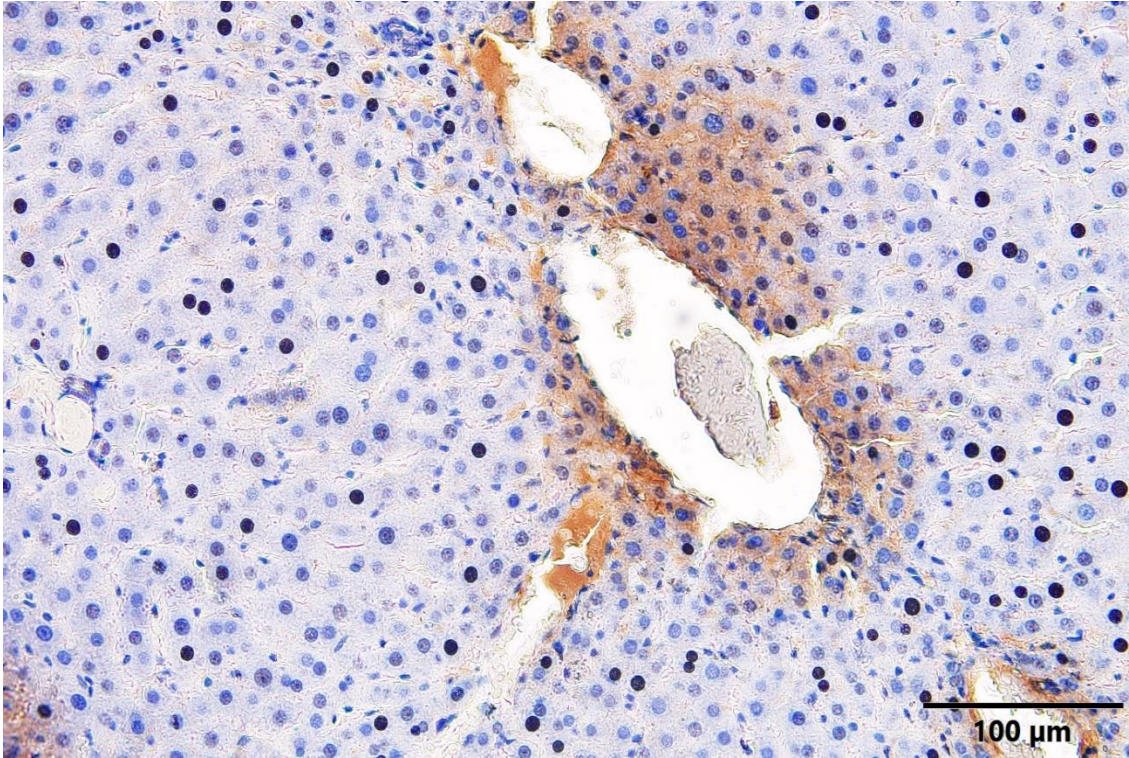
Şekil 27. TQ grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



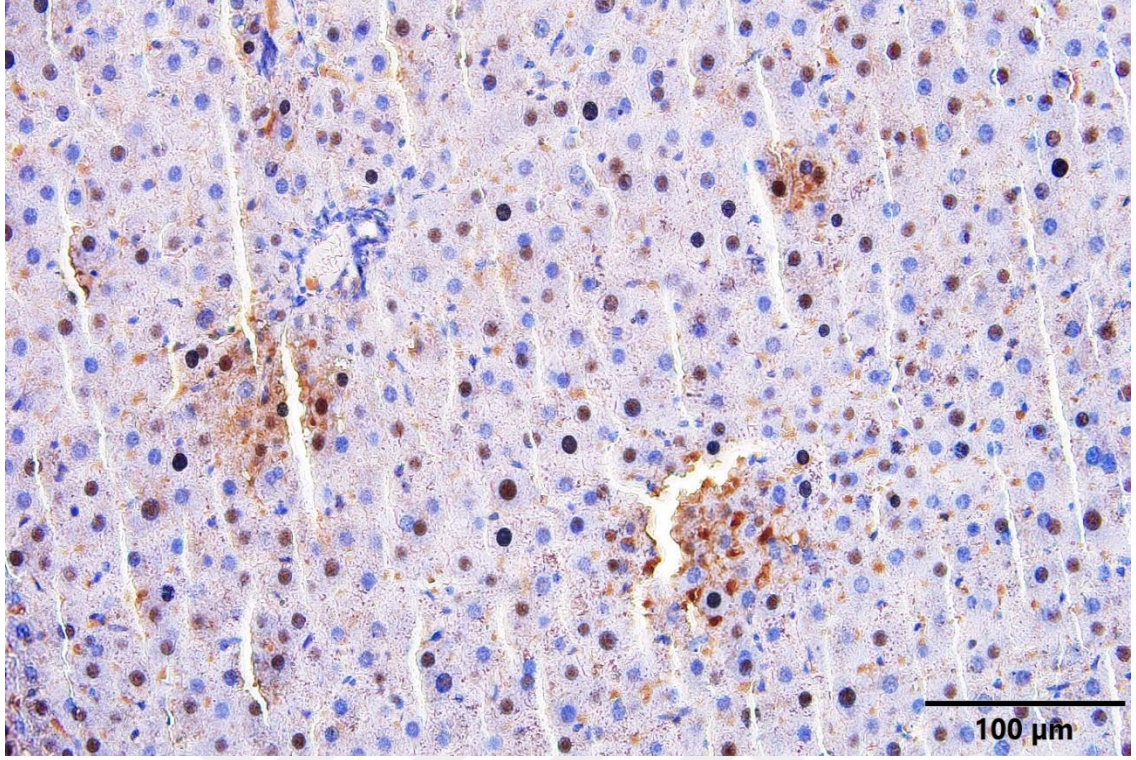
Şekil 28. STZ grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



**Şekil 29.** STZ+ VİTC grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



**Şekil 30.** STZ+TQ grubuna ait Bcl-2 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.

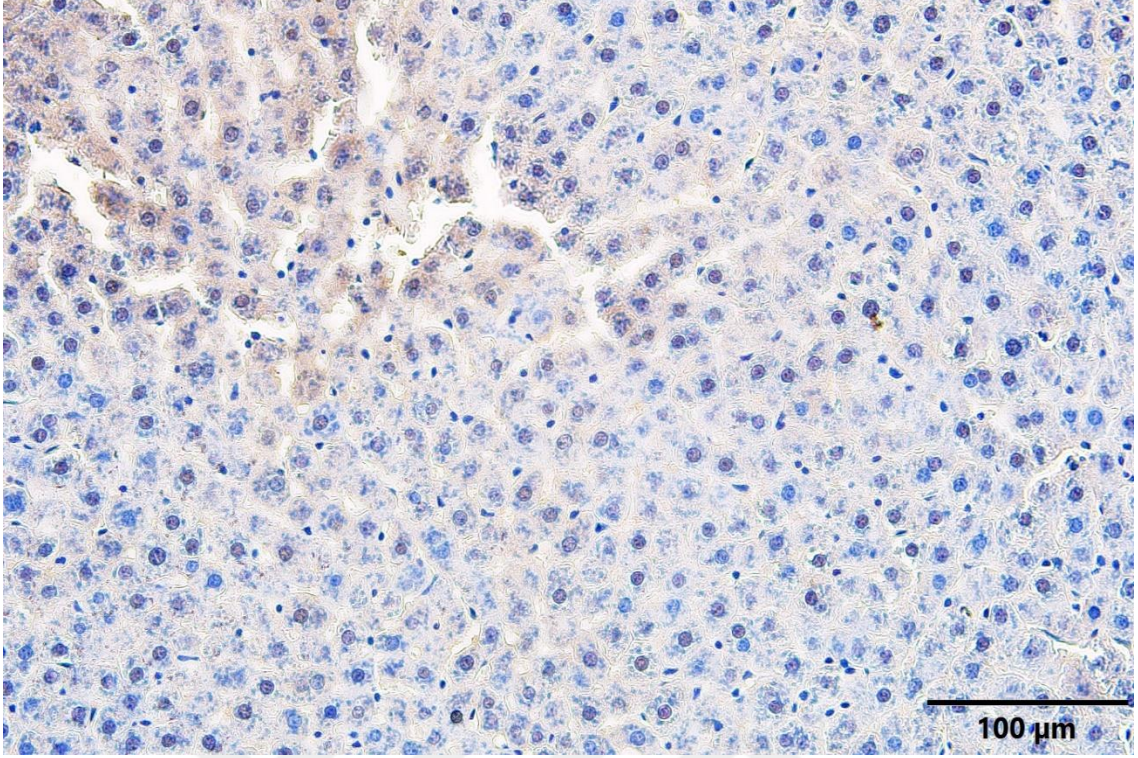


**Şekil 31.** STZ+VİTC+TQ grubuna ait Bcl-2 antikorumun İHK görüntüsü. 40x.

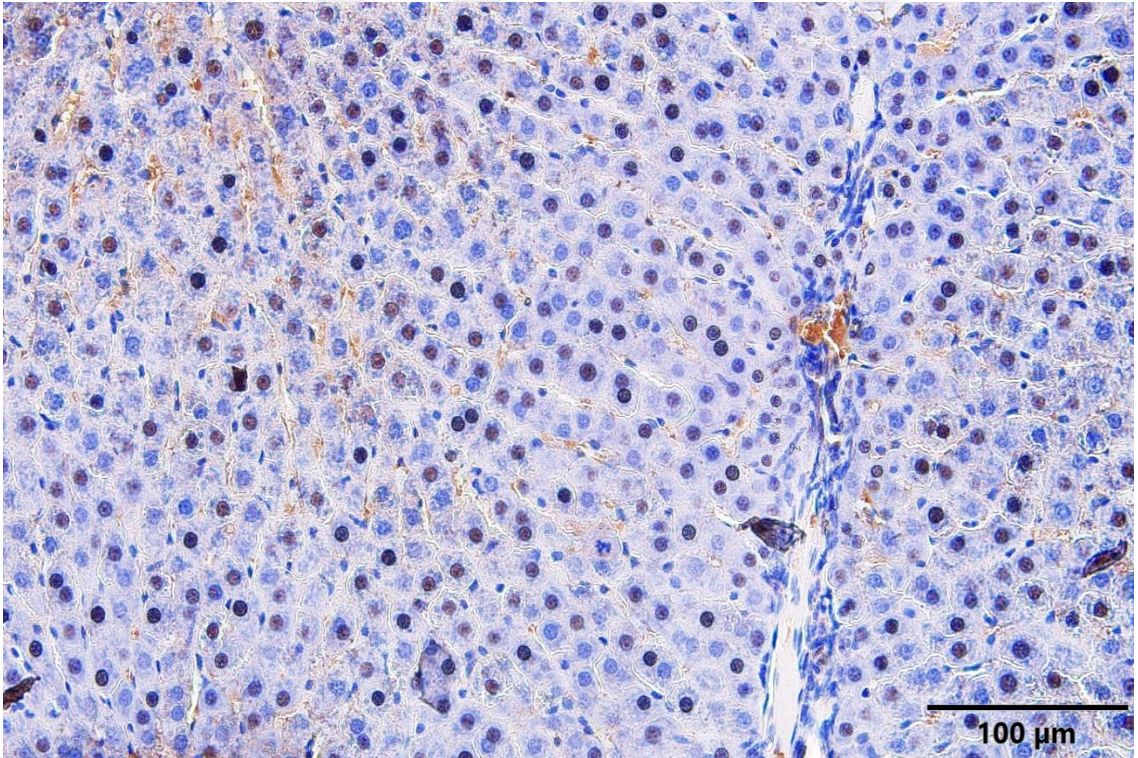
#### **4.4.3. TNF-alfa (TNF- $\alpha$ )**

Reaktif oksijen radikallerinin birikmesi ve inflamatuvar koşullara bağlı olarak hücrede apoptozis şekillenmesine neden olan TNF- $\alpha$ 'nın gruplara göre Ratların karaciğerinde immunohistokimyasal ekspresyonları Tablo 9'da verildi. Buna göre, STZ grubunda yoğun olarak bulunan TNF- $\alpha$  ekspresyonunun, STZ+TQ grubunda orta, STZ+VİTC grubunda zayıf, Kontrol, TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarında ise negatif seviyede olduğu belirlendi.

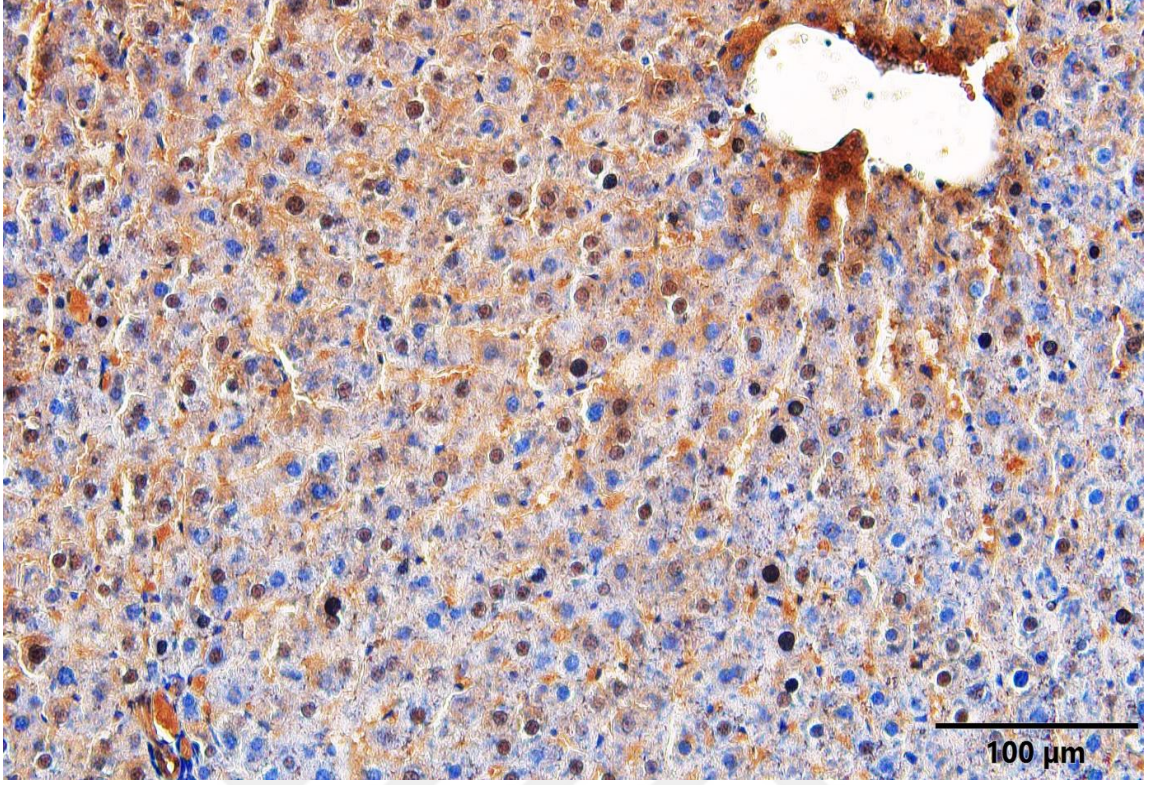
Gruplara göre TNF- $\alpha$  kullanılarak Ratların karaciğerlerine ait immunohistokimyasal boyama sonuçları Şekil 30-35 arasında verildi. Bu sonuçlara göre, TNF- $\alpha$  pozitif boyanan hücreler değerlendirildi. Apoptotik bir belirteç olan TNF- $\alpha$  ekspresyonu inflamasyonun yoğun olduğu alanlarda koyu kahverengi boyanırken, inflamasyonun zayıf veya bulunmadığı alanlarda boyama paterni gözlenmedi. Bu bağlamda; Kontrol (Şekil 30) ve TQ (Şekil 31) gruplarında negatif, STZ grubunda yoğun (Şekil 32), STZ+VİTC grubunda zayıf (Şekil 33), STZ+TQ grubunda orta (Şekil 34) ve STZ+VİTC+TQ grubunda ise negatif (Şekil 35) düzeyde TNF- $\alpha$  ekspresyonu belirlendi.



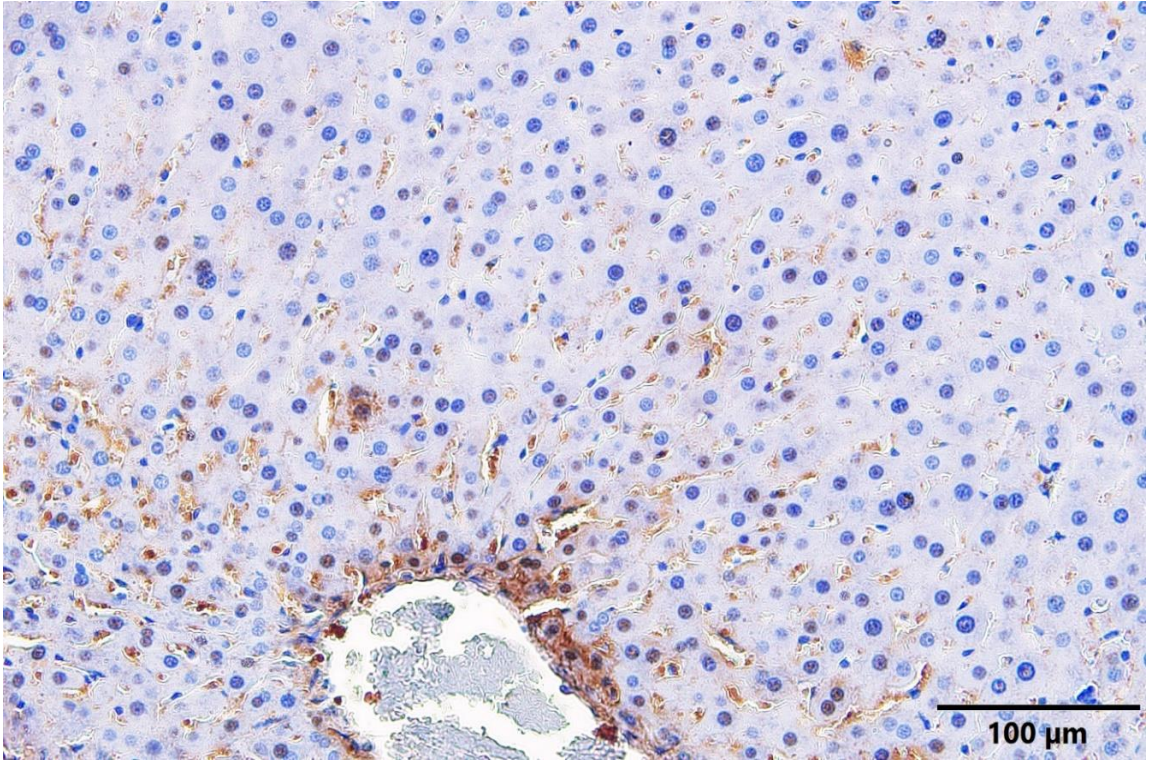
Şekil 32. Kontrol grubuna ait TNF- $\alpha$  antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



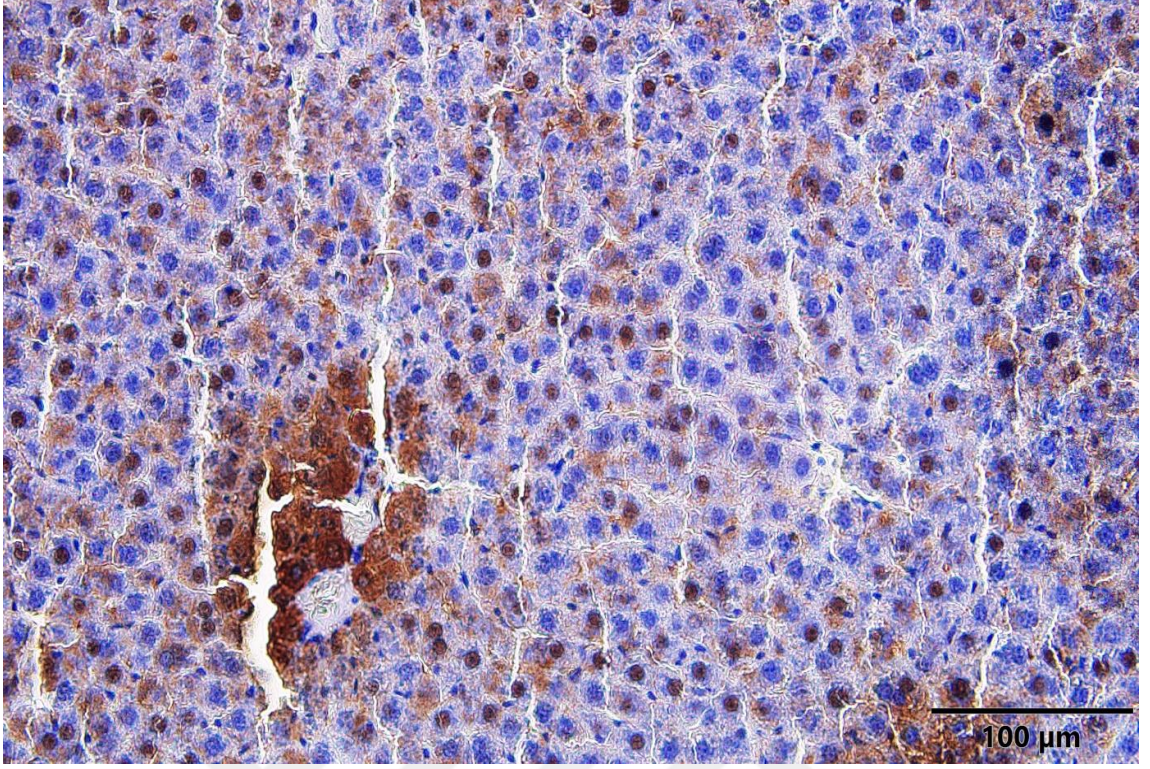
Şekil 33. TQ grubuna ait TNF- $\alpha$  antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



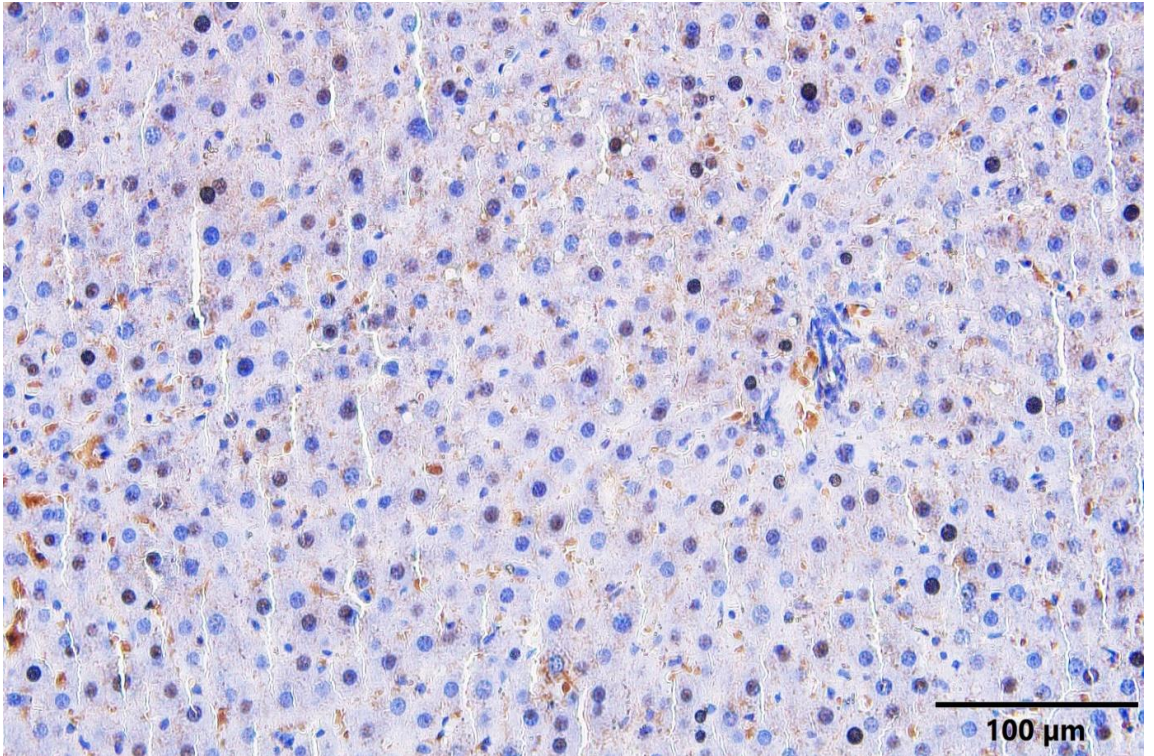
Şekil 34. STZ grubuna ait TNF- $\alpha$  antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



Şekil 35. STZ+VİTC grubuna ait TNF- $\alpha$  antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



Şekil 36. STZ+TQ grubuna ait TNF- $\alpha$  antikorunun İHK görüntüsü. 40x.

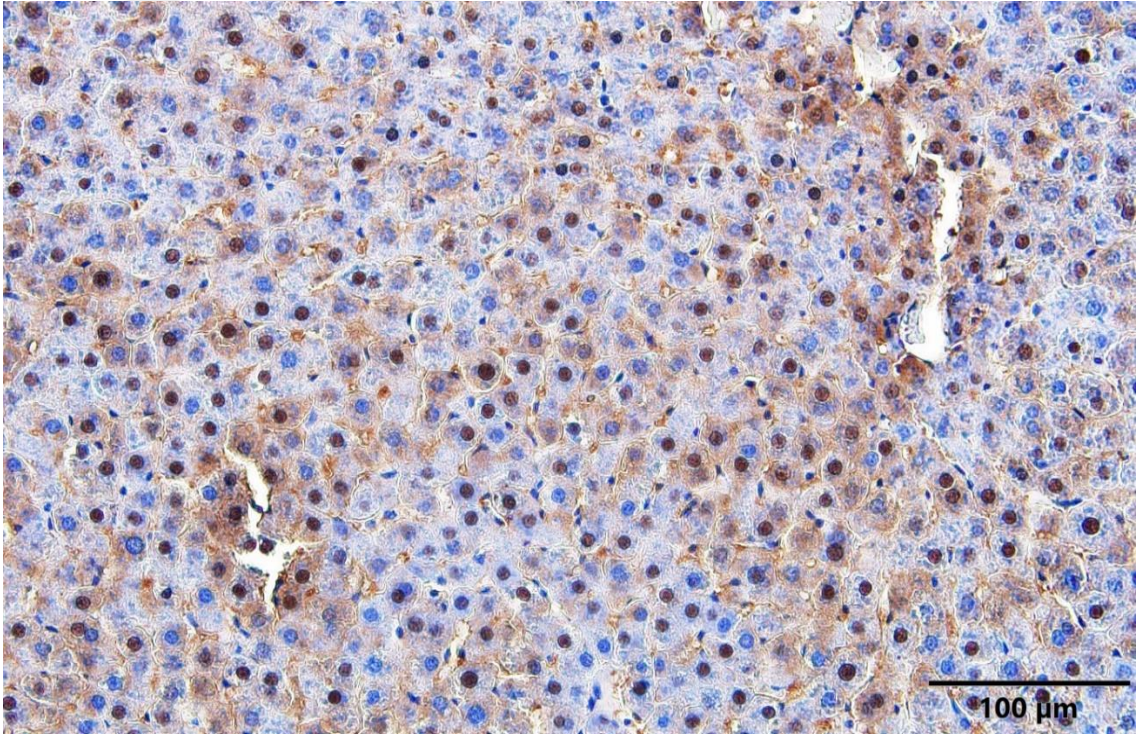


Şekil 37. STZ+VİTC+TQ grubuna ait TNF- $\alpha$  antikorunun İHK görüntüsü. 40x.

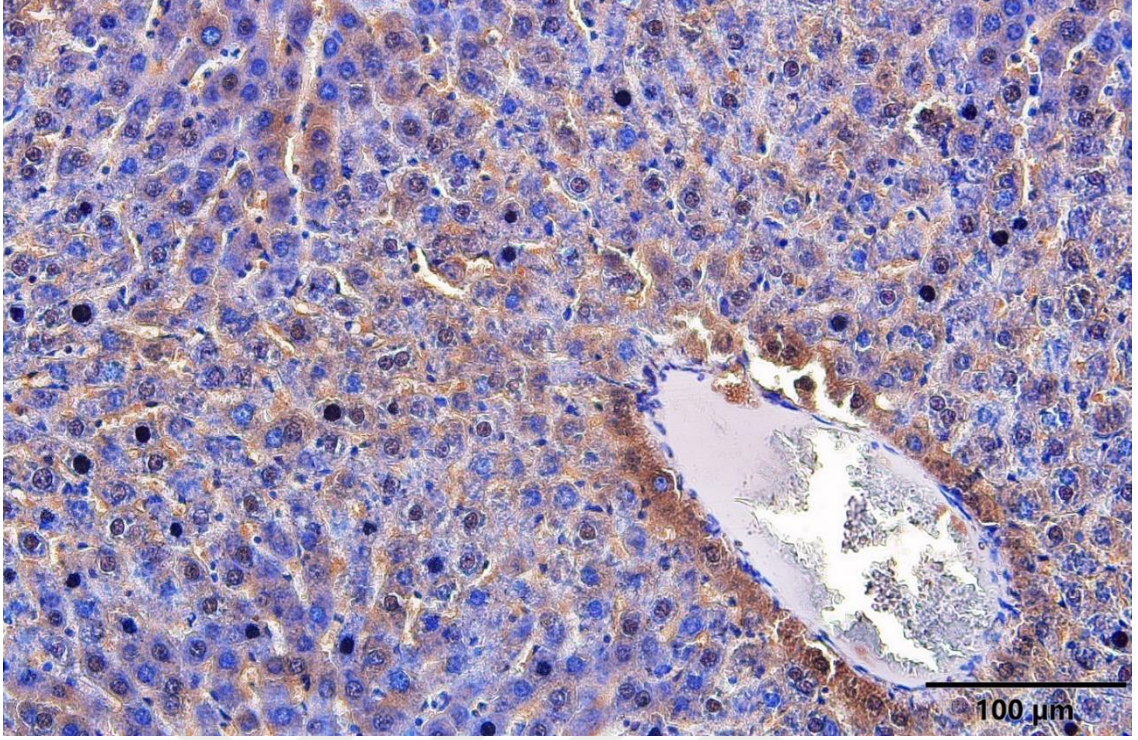
#### 4.4.4. IL-10

Hücre içi sinyal yolunu düzenleyerek hücrelerin hayatta kalmasını sağlayan, aynı zamanda anti-inflamatuar sitokinlerin iyileştirilmesi ve inflamasyonun önlenmesi bakımından önemli bir protein olan IL-10'nun gruplara göre Ratların karaciğerlerinde tespit edilen immunohistokimyasal aktiviteleri Tablo 9'da incelendi. Buna göre, Kontrol grubunda yoğun, TQ, STZ+VİTC, STZ+TQ, STZ+VİTC+TQ gruplarında orta, STZ grubunda ise zayıf düzeyde IL-10 aktivitesine rastlanıldı.

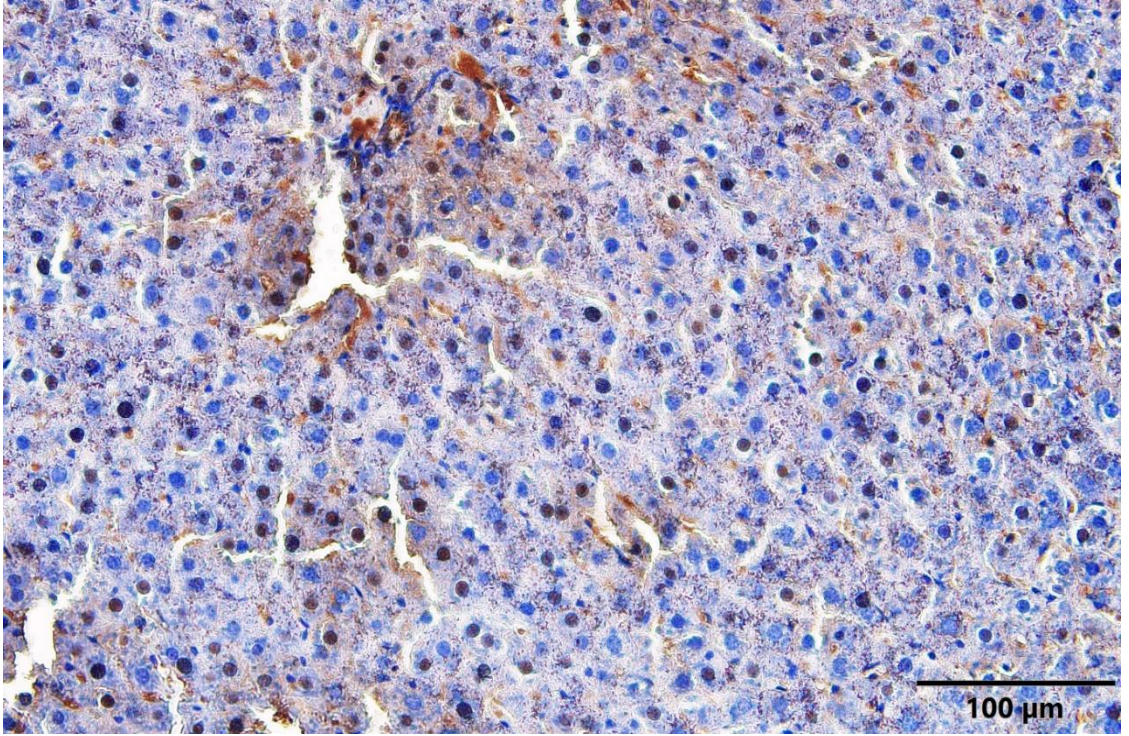
Gruplara göre IL-10 kullanılarak Ratların karaciğerlerine ait immunohistokimyasal boyama sonuçları Şekil 36-41 arasında verildi. Anti-inflamatuar ve Proinflamatuvar bir sitokin olan IL-10, inflamasyonun olmadığı ya da zayıf olduğu alanlarda yoğun ekspresyondan dolayı hücrelerin koyu boyandığı, inflamasyonun bulunduğu alanlarda ise ekspresyonun gittikçe azalmasına bağlı olarak, boyama odağının zayıfladığı gözlemlendi. Bu bağlamda; Kontrol grubunda yoğun (Şekil 36) ve TQ grubunda orta (Şekil 37), STZ grubunda zayıf (Şekil 38), STZ+VİTC (Şekil 39), STZ+TQ (Şekil 40) ve STZ+VİTC+TQ (Şekil 41) gruplarında ise orta düzeyde IL-10 aktivitesi görüldü.



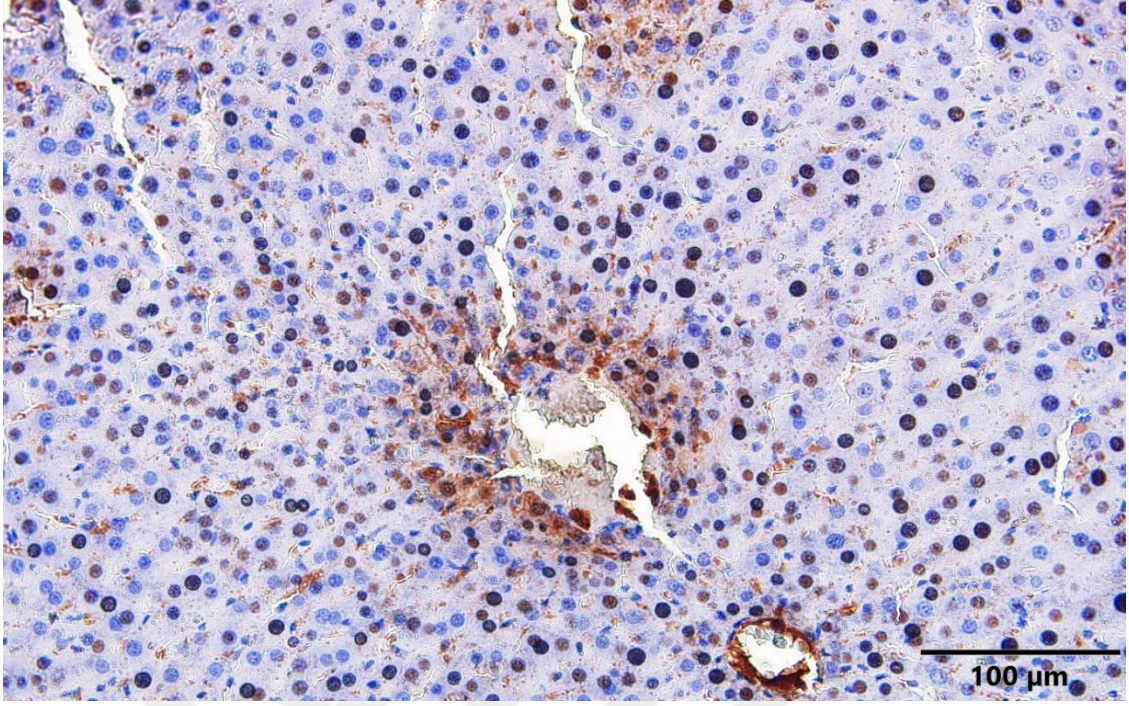
Şekil 38. Kontrol grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



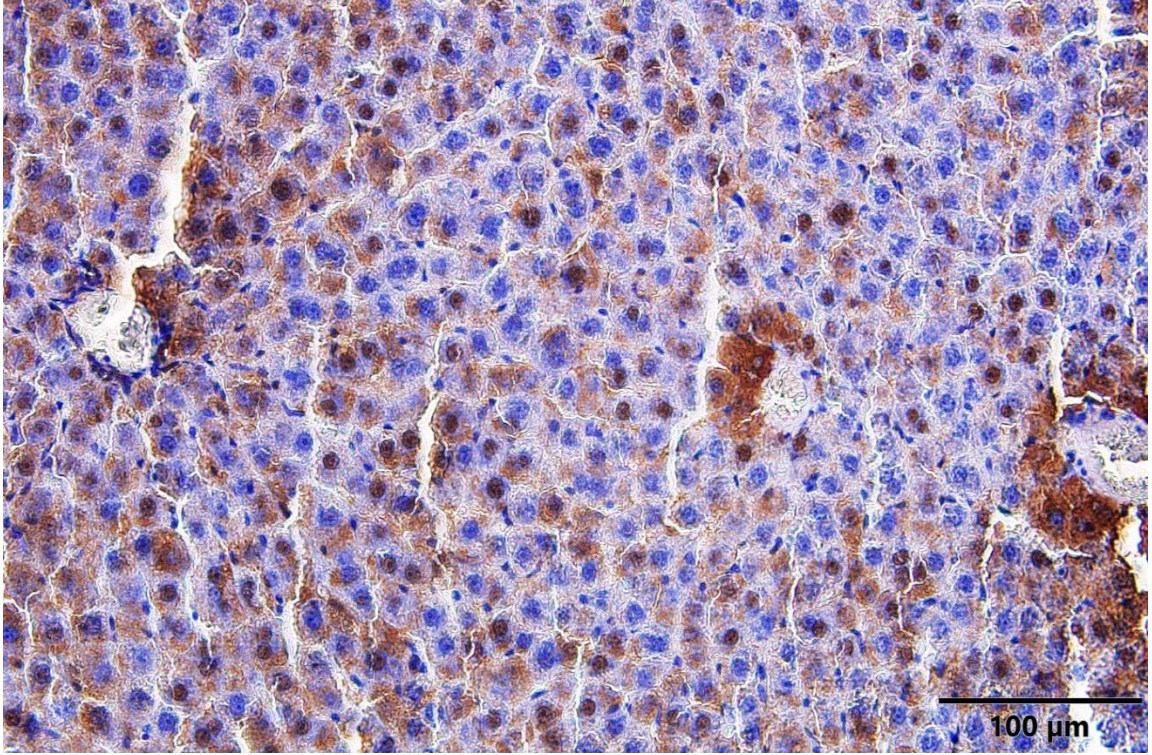
Şekil 39. TQ grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



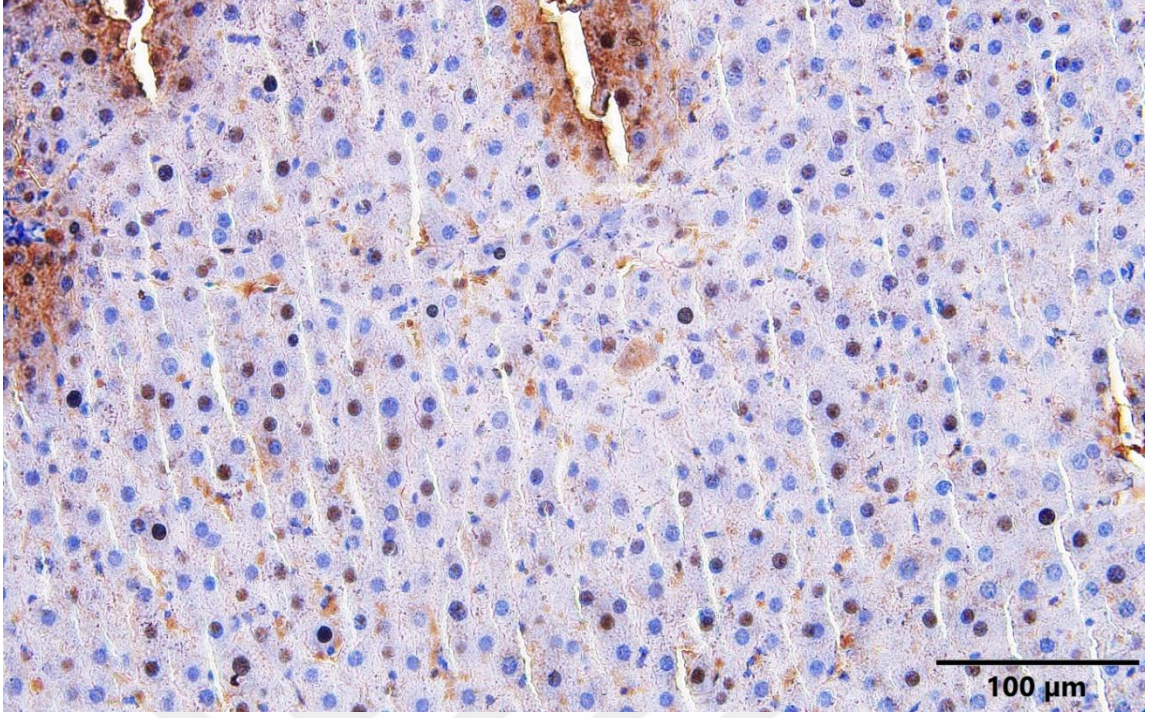
Şekil 40. STZ grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



Şekil 41. STZ+VİTC grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



Şekil 42. STZ+TQ grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.



Şekil 43. STZ+VİTC+TQ grubuna ait IL-10 antikorunun İHK görüntüsü. 40x.

## 5. TARTIŞMA SONUÇ

Karaciğer, birçok yaşamsal olayın düzeninde merkezi bir organ görevinde olduğu için, üstlendiği bu görev sonucunda metabolik olaylar ve bağırsak sistemi bağlantısı ile birçok aktif metabolite maruz kalır. Metabolitlerin hepatositlerde bulunan protein ya da nükleik asite bağlanmasıyla ciddi hasarlar oluşabilmektedir. Sonuçta karaciğerin üzerindeki bu toksik yükün diğer organlara göre fazla olması beklenen bir durum olmaktadır (Clemens ve ark., 2019).

Diyabet, dünya genelinde fert, aile ve toplumları etkileyen önemli ve uzun vadeli bir hastalıktır. Yapılan bir araştırmada 2019 yılında ki 20-79 yaş aralığında diyabetli hasta sayısının ortalama 463 milyon civarında olduğu bildirilirken, araştırmada 2030 ve 2045 yıllarında ki tahmini rakamlar da verilmiştir. Bu tahmine göre 2030 yılında 578 milyon, 2045 yılında ise 700 milyon insanın diyabetli olmasından bahsedilmektedir (Saeedi ve ark., 2019).

Streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabet modeli, DM'nin hayvan modellerinden biridir. Oghbaei ve ark. (2020), yaptığı bir çalışmada, STZ uygulanmasından üç gün sonra diyabetik sıçanlarda kan şekerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli derecede yükseldiği tespit edilmiştir. Taşkıran ve ark. (2020), yaptıkları çalışmada STZ uygulanan grup, kontrol grubu ile kıyaslandığında açlık glukoz seviyesinin anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda, kan glukoz konsantrasyonu normal sıçanlarınkinden 4 kat fazla iken, vücut ağırlığı ve kalp ağırlığının anlamlı derecede daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak polidipsi, poliüri ve glukozüri gözlenmiştir (Qi ve ark., 2004). Çalışmamızda diyabet grubunda, kontrol grubuna kıyasla kan şekeri seviyesinde anlamlı derecede yükselme olduğu görüldü.

Stereoloji sayısal veriler kullanılarak analizlerin yapıldığı yöntemlerden biridir. Üç boyutlu olan yapıların iki boyutlu fotoğraflarının kullanılmasıyla gerçekte üç boyutlu olan yapısı hakkında verilerin elde edilmesini sağlar (İkinci Keleş, 2019). Yıldız ve ark., (2023) tarafından farklı dozlarda uygulanan STZ sıçan karaciğer dokusunun stereolojik olarak etkilerinin inceleyen bir çalışmada, STZ enjeksiyonu sonucunda meydana gelen diyabetin karaciğer hacminde ve hepatosit sayılarında ciddi derecede artışlar olduğu

bildirilmiştir. Fareler üzerinde yapılan ve 60 mg/kg STZ ile indüklenen diyabet çalışmasında, hepatositler, merkezi damarlar, sinüzoidler, portal damarlar, hepatic arterler ve safra kanallarının hacimlerinin arttığı ve dolayısıyla karaciğerin ağırlığında ve hacminde artışa yol açan önemli bir hipertrofiye sahip olduğu bildirilmiştir (Zangeneh ve ark. 2018). Ayrıca, Zheng ve ark., (2021) yılında yaptıkları çalışmada STZ ile oluşturulan diyabetik sıçan karaciğerinde kontrol grubuna kıyasla karaciğer hacmi ve ağırlığı ile birlikte hepatositlerin sayısının arttığı ve sinüzoidlerin toplam hacminin ise önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Yine STZ ile indüklenen başka bir diyabet çalışmasında, STZ'nin sıçan kan ve karaciğerinde biyokimyasal değişikliklere neden olduğu, bu değişikliklerin insan karaciğerindeki benzer steatozdan steatohepatite ve karaciğer fibrozuna kadar değişebilen etkiler gösterebildiği bildirilmiştir (Bilal ve ark. 2016).

Tek doz STZ (150 mg/kg, ip) uygulanan başka bir araştırmada histolojik olarak inceleme yapılmış, karaciğer ağırlığının yüzdesinde artış, glikojen azalması, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kupffer hücre hiperplazisi görülmüştür (Al-Ani ve ark. 2009). Bununla birlikte, Boğokşayan (2021) yılında ratlarda diethylnitrosamine ile oluşturulan deneysel karaciğer hasarında eumelaninin etkilerinin incelendiği çalışmada, eumelaninin oluşan hepatotoksik etkiye karşı, koruyucu etkiye sahip olduğu, ancak damar hacim yoğunlukları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın görülmediği tespit edilmiştir.

Çalışmamızda alınan karaciğer hacimleri ve ortalama damar hacim yoğunluğu incelenmiştir. STZ grubunda ortalama karaciğer hacim değerinin diğer gruplara oranla istatistiki olarak anlamlı seviyede yüksek olduğu tespit edildi ( $P<0.05$ ). STZ+VİTC ve STZ+TQ gruplarının kendi aralarında ortalama total hacim ölçüm değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken ( $P>0.05$ ), bu gruplar ile STZ, STZ+VİTC+TQ, TQ ve Kontrol grupları arasında anlamlı seviyede farklılık gözlendi ( $P<0.05$ ). Tedavi grubu olarak, STZ+VİTC+TQ grubu ile Kontrol ve TQ grupları arasında ortalama total karaciğer hacim ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $P>0.05$ ). Bu durum, STZ ile oluşturulan diyabetin meydana getirdiği karaciğer hasarına ve artan karaciğer angiogenezine karşı Vitamin C ve Timokinon'un kombine uygulanmasının protektif etkiler oluşturup, inhibe ederek faydalı sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Damar hacim yoğunluklarına bakıldığında ise; STZ grubunda ortalama damar hacim yoğunluğu ölçüm değerinin diğer gruplara oranla istatistiki olarak anlamlı düzeyde fazla olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ). Kontrol TQ ve STZ+VİTC+TQ grupları arasında ortalama damar hacim yoğunluğu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $P>0.05$ ). STZ+VİTC ve STZ+TQ gruplarının kendi aralarında ortalama damar hacim yoğunlukları ölçüm değerleri bakımından istatistiki olarak anlamlı seviyede bir farklılık gözlenmezken ( $P>0.05$ ), bu iki grup ile kontrol, TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarının ortalama ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak önemli seviyede farklılıklar görüldü ( $P<0.05$ ).

Hayvan deneylerinde TQ'nun hipoglisemik (Badary ve ark 1997, Badary 1999, Hawsawi ve ark 2001, El-Mahmoudy ve ark 2005b) ve antidiyabetik (Fararh ve ark. 2005) etkisinin olduğu bildirilmektedir. Hawsawi ve ark (2001) ratlarda (0.5, 1, 2, 4, 6 ve 8 mg/kg) intraperitoneal yolla verilen TQ'nun glukoz düzeylerini düşürdüğünü rapor etmiştir. Streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan ratlarda kalp ve beyindeki oksidatif stres araştırılmış ve diyabetlilerde glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon (GSH) ve katalaz (CAT)'daki belirgin azalma ile oksidatif stresin olduğu, bu düşük düzeylerin çörek otu yağı (TQ) verilmesi ile iyileştirildiği belirtilmektedir (Hamdy ve Taha 2009).

Alla ve arkadaşlarının (2017) yaptıkları çalışmada bisfenol A toksisitesine karşı timokinon ve vitamin C uygulamasının etkilerini incelemişler, C vitamini ve timokinonun sıçan modelinde, BPA ile indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve serbest radikalleri temizleyerek doğrudan veya lipid peroksidasyonunu artırmasından dolayı olabileceğini iddia etmişler; C vitamini ve timokinon'un, özellikle oksidatif hasarın neden olduğu karaciğer ve böbrek hastalıklarını önlemek ve tedavi etmek için birlikte kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Usta A (2014), deneysel diyabetli ratlarda timokinon uygulanmasının Nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) ve DNA hasarı üzerine etkisini araştırdığı çalışmasında STZ ile oluşturulan deneysel diyabette artan glukoz ve HbA1c düzeyleri ile karaciğer ve böbrek hasar göstergelerinin TQ uygulanmasını takiben önemli oranda düştüğü ve kontrol grubuna yaklaştığını, NF $\kappa$ B düzeyleri ve DNA hasarını gösteren 8-OHdG'nin ise diyabetli grupta arttığını, TQ uygulanmasının istatistiksel olarak önemsiz bir azalmaya neden olduğu bildirmiştir.

STZ ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda TQ çözeltisi 30 mg/kg/gün olarak 21 gün boyunca gavaj ile oral yoldan verilmesi ile karaciğer ve böbrek dokusu TAS seviyelerinin önemli oranda azaldığı ve STZ ile birlikte TQ ilavesiyle bu değerlerin kontrol grubu düzeyine yaklaştığı, aynı şekilde STZ ile birlikte TQ uygulanan gruptaki karaciğer dokusu OSİ değerlerinin de kontrol grubuna yaklaştığı bildirilmiştir (Usta ve ark., 2018).

Timokinonun insülin sekresyonu üzerindeki moleküler mekanizması henüz aydınlatılmış olmamakla birlikte, insülin sekresyonunu artırarak glukoz kullanımında artışa ve glikoneogenezi engelleyerek kan glukozunun düşmesine neden olduğu belirtilmektedir (Sankaranarayanan ve Pari 2011).

TQ'nun (3 mg/kg, 3 gün) insüline bağlı diyabette (tip1) STZ'nin toksik etkisini indirgeyerek patojenik prosesi azaltmada etkili olabileceği, insüline bağlı olmayan diyabette (tip 2) ise yüksek glukoz düzeylerini normalize ederek iyileştirici etkiye sahip olabilecekleri belirtilirken, TQ'nun bu etkisi serbest radikalleri toplayıcı ve sitoprotektif özelliklerine bağlanmaktadır (El- Mahmoudy ve ark 2005a). Benzer şekilde aynı araştırmacılar, STZ'li (45 mg/kg, i.p.) ratlara TQ (3 mg/kg, i.p., 3 ve 30 günlük iki grup) vermişler, 3. ve 30. günlerde insülin düzeylerinin STZ'li grupla karşılaştırıldığında TQ ilave edilen grupta belirgin olarak yükseldiğini ve kontrol grubundaki seviyelere yaklaştığını belirtmektedirler (El- Mahmoudy ve ark 2005b).

Tek doz STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan ratlara enjeksiyondan 3 gün önce başlanarak 4 hafta boyunca 50 mg/kg/gün TQ oral verildiği çalışmada, TQ'nun yüksek olan serum glukoz seviyesini düşürdüğü, düşük olan serum insülin konsantrasyonunu ise arttırdığı bildirilmektedir. Belirlenen bu bulgular ışığında TQ'nun diyabetin neden olduğu oksidatif stresin azalmasında ve  $\beta$  hücre bütünlüğünün korunmasında tedavi edici etki gösterdiği ve bunun sonucunda da TQ'nun oksidatif strese karşı  $\beta$ -hücrelerinin korunmasında klinik olarak kullanımının faydalı olabileceği belirtilmektedir (Kanter 2009).

Çalışmamızda TQ uygulamasının tek başına yeterli olamadığı, karaciğer ve damar hacim seviyelerinde, biyokimyasal verilerde ve immunohistokimyasal verilerde

kullanmış olduğumuz dozda diyabet üzerinde etkisi olsa da kontrol grubu ile aralarında istatistiksel fark olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

C Vitamini, lipit fazda çözünebilir, antioksidanları oksidatif hasardan koruyan, kollajen, nitrik oksit sentezi ve kolesterol metabolizması gibi mekanizmalar üzerinde etkili olabilen bir antioksidandır. C vitamininin hücrel alınımını hem glukoz hem de insülin düzenlediğinden, Askorbik asitin biyosentezinde C vitamini-glukoz arasındaki ilişki kadar C vitamini insülin arasındaki ilişki de oldukça önemlidir. Bu nedenle kanda glukoz seviyesi yükseldiğinde C vitamininin geri emiliminde bozulmalar olduğu belirtilmiştir. Keza, dışarıdan alınan C vitamininin Tip I diyabette kandaki glukoz seviyesini düşürdüğü ifade edilmiştir (Uslu, 2013).

Cameron ve ark. (1993), diyabetik ratlara C vitamini takviyesinin plazma, kas ve karaciğer dokularında lipit peroksidasyonunu azaltıp, diyabetle birlikte azalan GSH düzeylerini ise yükselttiğini rapor etmişlerdir. Özer ve Gönül (2006) STZ ile diyabet oluşturdukları Wistar Albino ratlara 21 gün süre ile verdikleri 20 mg/kg dozundaki C vitamininin diyabete bağlı olarak artan MDA düzeylerini düşürdüğünü bunun yanı sıra azalan GSH düzeylerini ise arttırdığını bildirmişlerdir.

Çay ve ark. (2001) da diyabet öncesi 4, sonrası ise 21 gün olmak üzere toplam 25 gün süreyle C vitamini uygulamasının diyabetik ratlarda plazma, karaciğer ve kas dokularında oksidan düzeylerini düşürdüğünü, antioksidan düzeylerini ise yükselttiğini göstermişlerdir. Uslu (2013) araştırmasında 60 mg/kg dozundaki C vitamininin plazma oksidan seviyelerini değiştirmeden, total antioksidan seviyelerini istatistiksel açıdan önemli olmasa da arttırdığını ve C vitamininin diyabet grubunun karaciğer total oksidan ve total antioksidan seviyelerinde azalışlara neden olduğunu bildirmiştir.

Diyabetik ratlarda hepatik glukoneojenezde timokinon etkisiyle bir azalma olduğu, antidiyabetik etkinin karaciğerde glukoz üretimini azalttığı gösterilmiştir (Fararh ve ark., 2005). Eidi ve ark. (2006), deneysel diyabetik ratlarda AST ve ALT değerlerinde önemli bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir.

Asitaminofen ile oluşturulan hepatoksisitenin önlenmesinde TQ'nun, ağız yoluyla üç ayrı dozda (0.5, 1 ve 2 mg/kg/gün) 5 gün boyunca uygulandığı bir çalışmada,

TQ ilavesinin asitaminofen kaynaklı hepatotoksisiteyi azalttığıının kanıtı olarak serum ALT aktivitesinde azalma olduğu bildirilmektedir (Nagi ve ark., 2010).

Erdemli ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada 30 gün süreyle 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin uygulaması ile AST ve ALT düzeylerinde anlamlı derecede artış olan sıçanlara antioksidan amaçlı uygulanan TQ ile AST ve ALT düzeylerinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada fipronil uygulanan hayvanların hepatik biyobelirteçleri (AST ve ALT) önemli ölçüde artarken, TQ ile tedavi sonrasında artan biyobelirteçlerin ciddi anlamda normal seviyeye yaklaştığı bildirilmiştir (Abdel-Daim ve ark. 2018).

Sargassum muticum'un Wistar albino ratlarda STZ ile indüklenen diyabetik karaciğer hasarına karşı sitokinleri ve apoptoz yolağını inhibe ederek hepatoprotektif potansiyeli'nin araştırıldığı bir çalışmada, ALT, AST, ALP değerlerinin diyabet ile yükseldiği ortaya konmuştur (Safhi ve ark. 2019).

Aflatoksin B1 (AFB1)'in neden olduğu karaciğer zehirlenmesine karşı TQ kullanımının etkili olduğu görülmüş ve hepatotoksisiteye bağlı olarak artan AST, ALT, ALP aktivitelerinin düzeldiği görülmüştür (Nili-Ahmadabadi ve ark., 2011). Deneysel formaldehit uygulanan ratlarda timokinon uygulamasının artan AST ve ALT seviyelerini azalttığı rapor edilmiştir (Aksu, 2021).

Bu tez çalışmasında, ALP, ALT ve AST düzeylerinin; diyabet grubunda istatistiksel önemde yükseldiği ( $P<0.05$ ), STZ+TQ grubunda azaldığı kontrol grubunda yakın değerler aldığı ancak STZ+TQ+Vit C grubunda ise kontrol grubuna daha yakın bir değere düştüğü gözlemlendi. Bu durumun TQ'nun karaciğer koruyucu etkisinden kaynaklandığı ve vitamin C'nin bu etkiyi artırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Hücre içi ve hücre dışı apoptozda kaspaz-3 görev alan önemli bir proteindir. Kaspas-3'ün aktivasyonu apoptozisi indükte eden irreversible bir aşama olduğu için çalışmalarda apoptozisi değerlendirmek için sıkça kullanılır (Nna ve ark. 2018a). Nna ve ark. (2018b) araştırmalarında Malezya propolisinin diyabetik sıçanlarda karaciğeri koruduğunu göstermiştir. Diyabet ile serum AST, ALT, ALP ve GGT seviyelerinin

yükseldiğini, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , kaspaz-3 ekspresyonlarında artış, IL-10 ekspresyonunda ise azalma gözlemlendiğini bildirmiştir.

Safhi ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada *Sargassum muticum*' un diyabet üzerine etkisini incelerken, inflamatuvar sitokin (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-1beta) düzeylerinin ve kaspaz-3 ve kaspaz-9 seviyelerinin de diyabet ile birlikte yükseldiğini bildirmiştir.

Liu ve ark. (2018) Trigonellin, streptozotosin ile indüklenen tip 1 diyabetik farelerde  $\beta$  hücrelerini apoptozdan korumak için kaspaz 3'ü inhibe ettiğini gösterdikleri araştırmalarında, trigonellinin kaspaz-3 ekspresyonunu azaltarak  $\beta$  hücrelerinin apoptozunu kısmen baskıladığını bildirmişlerdir.

Bcl-2 ve Kaspaz-3 hücre apoptoz sürecindeki anahtar moleküllerdir. Bcl-2 proteini hücre apoptozunu inhibe eder. (Li ve ark., 2021). Bcl-2 ailesindeki proteinler mitokondrial apoptotik yolağı düzenleyerek hücre ölümünü ve sağ kalımını denetler. Anti-apoptotik bir protein olan Bcl-2 mitokondrial membran bütünlüğünü sürdürür (Moghaddam ve ark., 2014).

Bcl-2 ekspresyonu diyabet tarafından önemli ölçüde azaltıldığı birçok araştırmada bildirilmektedir (Mellado-Gil and Aguilar-Diosdado 2004, Hashish ve Kamal; 2015). Bu çalışmada da STZ uygulaması ile Bcl-2 ekspresyonun azaldığı vitamin C ve Timokinon uygulaması ile ekspresyonun arttığı tespit edildi.

Chandirasegaran ve ark. (2018) berberin klorid'in diyabet üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada berberin klorid ile tedavi edilen diyabetik sıçanların karaciğerinde anti-apoptotik Bcl-2 protein ekspresyon seviyesinin diyabetik kontrol sıçanlarına kıyasla arttığı bulunmuştur. Ayrıca aynı çalışmada berberin klorid ile tedavi edilen diyabetik sıçanların karaciğerinde bölünmüş kaspaz-3'ün İHK boyanması çok küçük bir bölge olarak bulunmuştur. Bu kaspaz-3 aktivitesinin STZ ile arttığı ve tedavi gruplarında azaldığını göstermektedir.

Çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer şekilde diyabet grubunda bcl-2 aktivitesinin azaldığı ve kaspaz-3 ekspresyonun arttığı gözlenmiştir. Bcl-2 ekspresyon düzeyi kontrol grubunda orta düzeyde iken, tedavi gruplarında kontrol grubuna benzer şekilde gözlemlendiği belirlenmiştir. Kaspaz-3 aktivitesinde ise kontrol ve TQ gruplarında

gözlenmezken, diğer çalışmalara benzer sonuçlar elde edilmiş, STZ ile yükselen kaspaz-3 aktivitesinin tedavi gruplarında zayıf seviyeye indirildiği belirlenmiştir.

Hepatotoksik etkenler karaciğerde nekroz oluşumunu uyararak akut inflamatuvar yanıtın oluşumunu sağlar. İnflamatuvar yanıt oluşturularak hasarlanan dokunun yok edilmesi, dokuların onarımı veya rejenerasyonun oluşumu beklenmektedir. Rejenerasyon inflamasyon ile uyarılıp öncesinde TNF- $\alpha$  (tümör nekroz faktörü  $\alpha$ ) ve IL-6 (interlökin-6) ile tetiklenmektedir (Tao ve ark., 2017). Kumar ve ark. (2013) sıçanlarda STZ ile yaptıkları deneysel çalışmada diyabetik grubun plazmasında proinflamatuvar sitokinlerin TNF-a, IFN-c, TGF- $\beta$ 1 ve IL-10 düzeylerinde anlamlı bir artış olduğunu ELISA yöntemi ile rapor etmişlerdir.

Kılıncarslan ve Donmez (2019), Kuersetin'in diyabet üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada; IL-1, IL-6, IL-10 ve TNF- $\alpha$  gibi bazı sitokinlerin insülin direnci ve diabetes mellitus ile ilişkili olduğu ve sitokinlerin diabetes mellitus patogenezini etkileyebileceğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada kuersetin verilmesi ile diyabet sonrası yükselen TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokin düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir. Öte yandan proinflamatuvar sitokin olan IL-10 seviyesinin diyabet ile düştüğü, tedavi için verilen kuersetin ile yükseldiği bildirilmiştir. Liu ve ark. (2018) diyabet ile TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1B düzeylerinin yükseldiğini verilen trigonelline ile yükselen sitokin seviyelerinin aşağı çekildiğini göstermişlerdir.

İmmun aracılı diyabet gelişiminde IL-10'un multifaktöriyel rolü tartışmalıdır. IL-10'un hem patojenik ve hemde koruyucu rol oynadığına ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. IL-10'un otoimmün sürecin düzenlenmesinde etkili olduğu ve inflamasyonu önlediği tespit edilmiştir (Roep ve ark., 2010). IL-10 anti-inflamatuvar sitokin olmasına ve immunolojik etkisi IL-6'nın tersi olmasına rağmen, beyin hasarından sonra bu iki sitokinin aktivitesinde benzerlik vardır (Majkutewicz ve ark., 2016).

İğit T (2024) tez çalışmasında STZ ile diyabet yapılan ratlarda hipokampus üzerine N asetilsistein etkisini araştırmış, IL-10 düzeyi için diyabet grubunda yoğun ekspresyon görülmesini, diyabet durumunda gerçekleşen proinflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımına karşı bir tepki olarak vücut inhibisyon gerçekleştirme amacıyla aşırı miktarda IL-10 salınımını oluşturarak antiinflamatuvar yanıt vermiştir şeklinde yorumlamışlardır.

Çalışmamızda STZ ile indüklenen diyabet sonrasında sitokinlerin ekspresyonu İHK olarak incelenmiş, TNF- $\alpha$  ekspresyonu için diğer çalışmalara uyumlu olarak kontrol grubunda artış gözlenmemiştir. Benzer şekilde TQ grubunda da artış gözlenmemiştir. STZ ile artan TNF- $\alpha$  ekspresyonunun tedavi gruplarında azaldığı STZ+ Vit C de zayıf, STZ+ TQ grubunda orta, STZ+ Vit C+ TQ grubunda ise kontrol'e benzer şekilde negatif olduğu tespit edilmiştir. Il-10 ekspresyonu için ise kontrol grubunda beklendiği gibi artış göstermiş, STZ ile zayıf bir düzeye gerilemiş TQ grubunda orta derecede eksprese olmuştur. Tedavi gruplarında ise TQ grubuna benzer şekilde orta derece eksprese olduğu yine de STZ nin etkisinin azaldığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak, ratlarda streptozotosin (STZ) ile oluşturulmuş deneysel diyabet modelinde Timokinon ve Vitamin C'nin karaciğer üzerine etkilerinin stereolojik ve İHK olarak incelendi ve morfometrik verilerinin istatistiksel olarak dataları elde edildi.

Stereolojik sonuçlara göre;

1- Karaciğerin hem ortalama total hacim hem de damar hacim yoğunlukları ölçümlerinde STZ grubunda ortalama ölçüm değerinin diğer gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek olduğu tespit edilirken, STZ+VİTC+TQ grubu ile Kontrol ve TQ grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Bu durum diyabette Vitamin C ve Timokinon'un kombine uygulanmasının faydalı sonuçlar verdiğini göstermektedir.

İmmunhistokimyasal sonuçlara göre;

1- Hücresel işleyişin bozulması sonucu olarak, apoptotik ürünlerin ortaya çıkmasını sağlayan Kaspaz-3 ekspresyonunun, STZ grubunda yoğun, STZ+VİTC, STZ+TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarında zayıf olarak bulunduğu, ancak Kontrol ve TQ gruplarında ise ekspresyonu gözlenmedi.

2- Apoptozisi düzenleyici proteinler grubunda yer alan Bcl-2 ekspresyonunun, STZ grubunda Bcl-2 aktivasyonu gözlenmezken, diğer grupların hepsinde orta seviyede olduğu gözlemlendi.

3- Reaktif oksijen radikallerinin birikmesi ve inflamatuvar koşullara bağlı olarak hücrede apoptozis şekillenmesine neden olan TNF-  $\alpha$  ekspresyonunun, STZ grubunda

yoğun, STZ+TQ grubunda orta, STZ+VİTC grubunda zayıf, Kontrol, TQ ve STZ+VİTC+TQ gruplarında ise negatif seviyede olduğu tespit edildi.

4- Hücre içi sinyal yolunu düzenleyerek hücrelerin hayatta kalmasını sağlayan, aynı zamanda anti-inflamatuar sitokinlerin iyileştirilmesi ve inflamasyonun önlenmesi bakımından önemli bir protein olan IL-10 ekspresyonunun, Kontrol grubunda yoğun, TQ, STZ+VİTC, STZ+TQ, STZ+VİTC+TQ gruplarında orta, STZ grubunda ise zayıf düzeyde olduğu belirlendi.

Çalışma sonucunda hem stereolojik hem de immunohistokimyasal olarak elde edilen değerlere göre, STZ ile artan karaciğer hasarının TQ uygulaması ve vitamin C uygulaması ile ayrı ayrı verildiklerinde hafiflediği ancak birlikte kullanımlarında daha etkili sonuç verdiği gözlenmiştir.

## KAYNAKLAR

Abdel-Daim MM, Shaheen HM, Abushouk AI, Toraih EA, Fawzy MS, Alansari WS ve ark. Thymoquinone and diallyl sulfide protect against fipronil-induced oxidative injury in rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018; 25(24): 23909-23916.

Ahmed A, Zeng G, Jiang D. Time-dependent impairments in learning and memory in Streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Metab Brain Dis.* 2019; 34:1431–46.

Aksu F. Deneysel Formaldehit Uygulanan Sıçanların Karaciğer Dokusunda Apoptozis ve Cd68 İmmünreaktivitesi Üzerine Ozon ve Timokinonun Etkilerinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi: Elâzığ. T.C. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı. 2021.

Al-Ani IMD, Al-Mishadani NMS, Muslih RK, Hamoodi SR. Histological liver changes in streptozotocin induced diabetic mice. *Med J Malaysia.* 2009; 8 (1).

Al-Enazi MM. Effect of thymoquinone on malformations and oxidative stress-induced diabetic mice, *Pak J Biol Sci.* 2007;10,18: 3115-3119.

Al-Ghamdi MS. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*, *J Ethnopharmacol.* 2001;76(1):45-48.

Alla AG, Alla MG. Effect of vitamin c and thymoquinone on experimentally bisphenol a induced hepato-renal toxicity in adult male albino rats. *Al-Azhar Med J.* 2017; 46(3):643-656.

Altındağ F. Prenatal Uygulanan Diklofenak Sodyum ve Timokinonun Postnatal Sıçan Testis Histolojisine Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması. Doktora Tezi: Van. Van YYÜ Sağlık bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. 2018.

Al-Trad B, Al-Batayneh K, El-Metwally S, Alhazimi A, Ginawi I, Alaraj M ve ark. *Nigella sativa* oil and thymoquinone ameliorate albuminuria and renal extracellular matrix accumulation in the experimental diabetic rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016; 20, 2680-2688.

Amelio MD, Cavallucci V, Cecconi F. Neuronal caspase-3 signaling: not only cell death. *Cell Death Differ.* 2010; 17:1104–14.

Badary OA, Nagi MN, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Sohaibani MO, Al-Bekairi AM. Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity, *Can J Physiol Pharmacol.* 1997; 75, 12, 1356-1361.

Badary OA. Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *J Ethnopharmacol.* 1999; 67, 2, 135-142.

Bates CJ. Bioavailability of vitamin C. *Eur J Clin Nutr Suppl.* 1997;51(1), S28-S33.

Bilal HM, Riaz F, Munir K, Saqib A, Sarwar MR. Histological changes in the liver of diabetic rats: A review of pathogenesis of non alcoholic fatty liver disease in type 1 diabetes mellitus. *Cogent Medicine.* 2016; 3 (1), 1275415.

Boğokşayan S. Sıçanlarda Diethylnitrosamine ile Oluşturulan Deneysel Karaciğer Hasarında Eumelaninin Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi: Van YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. 2021.

Burgos-Morón E, Abad-Jiménez Z, de Marañón AM. Relationship between oxidative stress, ER stress, and inflammation in type 2 diabetes: the battle continues. *J Clin Med*. 2019; 8:1–22.

Cameron NE, Cotter MA, Maxfield EK. Antioxidant treatment prevents the development of peripheral nerve dysfunction in streptozotocine-diabetic rats. *Diabetologia*. 1993; 36:299-304.

Can S. Streptozotocin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda prebiyotik ve probiyotik kombinasyonunun karaciğer üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi: İstanbul. T.C. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 2022.

Canan S, Şahin B, Odacı E, Ünal B, Aslan H ve ark. Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri prensibi. *T Klin J Med Sci*. 2002; 22(S):7-14.

Chandrasegaran G, Elanchezhiyan C, Ghosh K. Effects of Berberine chloride on the liver of streptozotocin-induced diabetes in albino Wistar rats. *Biomed Pharmacother*. 2018; 99, 227–236.

Clemens MM, McGill MR, Apte U. Mechanisms and biomarkers of liver regeneration after drug-induced liver injury. *Adv Pharmacol*. 2019; 85:241-62.

Çay M, Naziroğlu M, Şimşek H, Aydilek N, Aksakal M, Demirci M. Effects of intraperitoneally administered vitamin C on antioxidative defense mechanism in rats with diabetes induced by streptozotocin. *Res Exp Med (Berl)*. 2001; 200: 205-213.

Çelik F, Göçmez C, Karaman H, Kamaşak K, Kaplan I, Akıl E ve ark. Therapeutic effects of thymoquinone in a model of neuropathic pain. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2014; 76, 11-16.

Çevik AB, Olgun N. The Predictors of Painful Diabetic Neuropathy and Its Effect on Quality of Life. *Pain Manag Nurs*. 2021;23(3):345-352.

Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem*. 2006; 52, 601-623.

Delascio LC, Coimbra SR, Mazzola J, Camano L, Mattar R. Neurofunctional evaluation of young male offspring of rat dams with diabetes induced by streptozotocin. *ISRN Endocrinol*. 2011; 480:656.

Dey P, Kundu A, Lee HE, Kar B, Vishal V, Dash S, Kim IS, Bhakta T, Kim HS. *Molineria recurvata* Ameliorates Streptozotocin-Induced Diabetic Nephropathy through Antioxidant and Anti-Inflammatory Pathways. *Molecules*. 2022; 27(15):4985.

Eidi A, Eidi M, Esmaili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *Phytomedicine*. 2006; 13, 9-10, 624-629.

El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S. Gastroprotective activity of nigella sativa oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats, *J Ethnopharmacol.* 2003; 84(2-3): 251-258.

El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, El-Sayeda M, Takewaki T. Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism. *Int Immunopharmacol.* 2005b; 5: 195-207.

El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, Nikami H, Takewaki T. Macrophage-derived cytokine and nitric oxide profiles in type I and type II diabetes mellitus: effect of thymoquinone. *Acta Diabetol.* 2005a; 42: 23-30.

Erdemli ME, Yigitcan B, Gul M, Bag HG, Gul S, Aksungur Z. Thymoquinone is protective against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced hepatotoxicity. *Biotech Histochem.* 2018; 93(6): 453-462.

Fararh KM, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Ghanem MM, Takewaki T. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters, *Res Vet Sci.* 2005; 79, 3, 219–223.

Foss-Freitas MC, Foss NT, Donadi EA, Foss MC. In vitro TNF-alpha and IL-6 production by adherent peripheral blood mononuclear cells obtained from type 1 and type 2 diabetic patients evaluated according to the metabolic control. *Ann NY Acad Sci.* 2006; 1079:177-80.

Geçin MN. Genç erişkin ratlara intraperitoneal olarak verilen kurkumin (*curcuma longa*) maddesinin karaciğer, safra kesesi ve kanalları üzerine etkilerinin morfometrik ve makroanatomik olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi: Aksaray. T.C. Aksaray Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anatomi Anabilim Dalı. 2022.

Gershbein LL, Elias H. Observations on the anatomy of the rat liver. *Anat Rec.* 1954; 120, 85–98.

Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*L. Nigella sativa*), *J Pharm Biomed Anal.* 1999; 19(5):757–762.

Gregory JF (3rd). Ascorbic acid bioavailability in foods and supplements. *Nutrition reviews.* 1993; 51(10), 301-303.

Gundersen HJG, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microscopy.* 1987; 147(3)229-263.

Haghir H, Hami J, Lotfi N, Peyvandi M, Ghasemi S, Hosseini M ve ark. Expression of apoptosis-regulatory genes in the hippocampus of rat neonates born to mothers with diabetes. *Metab Brain Dis.* 2017; 32:617-28.

Hamdy NM, Taha R. Effects of nigella sativa oil and thymoquinone on oxidative stress and neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacology.* 2009; 8, 127-134.

Hashish HA, Kamal RN. Effect of curcumin on the expression of Caspase-3 and Bcl-2 in the spleen of diabetic rats. *Journal of Experimental and Clinical Anatomy.* 2015; 14,1.

Hawsawi ZA, Basil AA, Bamosa AO. Effect of Nigella Sativa (Black Seed) and Thymoquinone on Blood Glucose in Albino Rats. *Annals of Saudi Medicine*. 2001; 21, 3-4.

He J, Ji X, Li Y, Xue X, Feng G, Zhang H ve ark. Subchronic exposure of benzo (a) pyrene interferes with the expression of Bcl-2, Ki-67, C-myc and p53, Bax, Caspase-3 in sub-regions of cerebral cortex and hippocampus. *Exp Toxicol*. 2016; 68(2-3):149-56.

Hebel R, Stromberg MW. Anatomy of the Laboratory Rat Digestive system. *Mol Nutr Food Res*. 1978;22(4), 43-52.

Hosseinzadeh H, Taiari S, Nassiri-Asl M. Effect of thymoquinone, a constituent of Nigella sativa L. on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2012; 385, (5): 503–508.

Howard CV, Reed MG. Unbiased stereology: three-dimensional measurement in microscopy. Taylor & Francis. 2015; 34–9.

Innocenti P, Cotellesse R, Falcone A, Gargano E, Piattelli A. Anatomia chirurgica del sistema portale nel ratto. *Boll Soc Ital Biol Sper*. 1978; 54, 2421–2425

İğit T. Streptozotosin ile Oluşturulan Deneysel Diyabette Berberin ve N-Asetil Sisteinin Hipokampus Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi: Van. Van Yü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (Tıp Programı). 2024.

İkinci Keleş A. Sağlık alanında kullanılan kantitatif yöntem, Stereoloji. *Dicle Med J*. 2019; 46(3):615-21.

Jawerbaum A, White V. Animal models in diabetes and pregnancy. *Endocr Rev*. 2011; 31:680–701.

Kanter M. Protective effect of thymoquinone on  $\beta$  cell damage in STZ induced diabetic rats. *Tıp araştırmaları dergisi*. 2009; 7(2), 64-70.

Kara ME. The anatomical study on the rat pancreas and its ducts with emphasis on the surgical approach. *Ann Anat*. 2005; 187(2), 105–112.

Karaahmetoğlu S. Tip 2 Diyabet Tedavi ve İzlem Klinik Protokolü. Diyabet Tedavi ve İzlem Klinik Protokolleri T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara. 2019;7-13.

Khader M., Eckl PM. Thymoquinone: an emerging natural drug with a wide range of medical applications. *Iran J Basic Med Sci*. 2014;17: 950-957.

Kılıncarslan G, Donmez N. Effect of Quercetin Administration and Exercise on Plasma Cytokine Levels in Rats with STZ Induced Diabetes. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*. 2019; 8(2): 119-127.

Kumar S, Prasad S, Sitasawad SL. Multiple antioxidants improve cardiac complications and inhibit cardiac cell death in streptozotocin-induced diabetic rats. *Plos One*. 2013; 8(7):67009.

Leneman F, Burton S. The hepato-oesophageal artery of the rat. *Acta Anatomica*. 1967; 68, 334–343

Li Z, Xiao G, Wang H. A preparation of Ginkgo biloba L. leaves extract inhibits the apoptosis of hippocampal neurons in post-stroke mice via regulating the expression of Bax/Bcl-2 and Caspase-3. *J. Ethnopharmacol.* 2021; 280:114481.

Liu L, Du Z, Zhang Z, Zhou J. Trigonelline inhibits caspase 3 to protect  $\beta$  cells apoptosis in streptozotocin-induced type 1 diabetic mice. *European Journal of Pharmacology.* 2018; 836, 115–121.

Lobo SD, Carriche GM, Castro AG. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. *J Neuroinflamm.* 2016;13(1).

Lorente L, Aller MA, Duran HJ, Cejalvo D, Lloris JM, Arias J. Extrahepatic biliary anatomy in Wistar rats. *Surg Res Comm.* 1995; 17, 31–38.

Majkutewicz I, Kurowska E, Podlacha M, Myślińska D, Grembecka B, Ruciński J *et al.* Dimethyl fumarate attenuates intracerebroventricular streptozotocin-induced spatial memory impairment and hippocampal neurodegeneration in rats. *Behav Brain Res.* 2016; 308:24-37.

Martins PNA, Neuhaus P. Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. *Liver International.* 2006; 27(3): 384-392.

Mellado-Gil JM, Aguilar-Diosdado M. High glucose potentiates cytokine- and streptozotocin-induced apoptosis of rat islet cells: effect on apoptosis-related genes. *Journal of Endocrinology.* 2004; 183, 155–162.

Moghaddam HK, Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Goshadrou F, Ronaghi A. Berberine chloride improved synaptic plasticity in STZ induced diabetic rats, *Metab Brain Dis.* 2013; 28, 421–428.

Nagi MN, Almakki HA, Sayed-Ahmed MM, Al-Bekairi AM. Thymoquinone supplementation reverses acetaminophen-induced oxidative stress, nitric oxide production and energy decline in mice liver. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48, 8(9), 2361-2365.

Nili-Ahmadabadi A, Tavakoli F, Hasanzadeh G, Rahimi H, Sabzevari O. Protective effect of pretreatment with thymoquinone against Aflatoxin B1 induced liver toxicity in mice. *Daru.* 2011; 19(4): 282-287.

Nna VU, Abu Bakar AB, Ahmad A, Mohamed M. Diabetes-induced testicular oxidative stress, inflammation, and caspase-dependent apoptosis: the protective role of metformin. *Archives of Physiology and Biochemistry,* 2018b;126(5), 377–388.

Nna VU, Abu Bakar AB, Mohamed M. Malaysian propolis, metformin and their combination, exert hepatoprotective effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences.* 2018a; 211,40–50.

Noorafshan A. Stereology as a valuable tool in the toolbox of testicular research. *Ann Anat.* 2014;196(2014):57-66

Noroozi M, Angerson J, Lean ME. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes, *The Amer J of Clinic Nutr.* 1998; 67, 6, 1210–1218.

Oghbaei H, Hamidian G, Alipour MR, Alipour S, Keyhanmanesh R. The effect of prolonged dietary sodium nitrate treatment on the hypothalamus-pituitary-gonadal

axis and testicular structure and function in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Food Funct.* 2020; 11(3):2451-65.

Okan D. Sıçanlarda Streptozotosin Diyabet ve Eksojen C Vitamini (Askorbik Asit) Uygulamasına Timus Lenfositlerinin Cevabı. Yüksek Lisans Tezi: Ankara. T.C. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. 2010.

Özer Ç, Gönül B. Diyabetik sıçanlarda askorbik asit uygulamasının karaciğerde oksidan olaylara etkisi. *Gazi Medical Journal.* 2006;17 (4):196-199.

Pagola S, Benavente A, Raschi A, Romano E, Molina MA, Stephens PW. Crystal structure determination of thymoquinone by high-resolution X-ray powder diffraction. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2004; 5(2): 28.

Qi JS, Kam KW, Chen M, Wu S, Wong TM. Failure to confer cardioprotection and to increase the expression of heat-shock protein 70 by preconditioning with a kappaopioid receptor agonist during ischaemia and reperfusion in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia.* 2004;47 (2): 214-220.

Randhawa MA, Alghamdi MS, Maulik SK. The effect of thymoquinone, an active component of *Nigella sativa*, on isoproterenol induced myocardial injury. *Pak J Pharm Sci.* 2013; 26(6): 1215-1219.

Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S. Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food and Chemical Toxicology.* 2005; 43(9): 1433-1439.

Rodriguez-Saldana J. The Diabetes textbook clinical principles, Patient management and public health issues, Mexico City/Mexico, ISBN-978-3-030-11814-3. 2019.

Roep BO, Kleijwegt, FS, Van Halteren AGS, Bonato V, Boggi U, Vendrame F ve ark. Islet inflammation and CXCL10 in recent-onset type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol.* 2010;159(3):338-43.

Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010;21(5):331-44.

Sadeghi A, Hami J, Razavi S, Esfandiary E, Hejazi Z. The effect of diabetes mellitus on apoptosis in hippocampus: cellular and molecular aspects. *Int J Prev Med.* 2016;7.

Sadeghian H, Jafarian M, Karimzadeh F. Neuronal death by repetitive cortical spreading depression in juvenile rat brain. *Exp Neurol.* 2012; 233(1):438-46.

Saeedi P, Petersohn I, Salpea P ve ark. IDF Diabetes Atlas Committee. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019; 157:107843.

Safhi MM, Alam MF, Sivakumar SM, Anwer T. Hepatoprotective Potential of *Sargassum muticum* against STZ-Induced Diabetic Liver Damage in Wistar Rats by Inhibiting Cytokines and the Apoptosis Pathway. *Hindawi Analytical Cellular Pathology.* 2019; 8.

Sankaranarayanan C, Pari L. Thymoquinone ameliorates chemical induced oxidative stress and  $\beta$ -cell damage in experimental hyperglycemic rats. *Chem Biol Interact.* 2011; 190: 148-154.

Sloten TT, Sedaghat S, Carnethon MR, Launer LJ, Stehouwer CDA. Cerebral microvascular complications of type 2 diabetes: Stroke, cognitive dysfunction, and depression. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020; 8(4):325–36.

Şenyiğit A, Kanat M. Tip 2 Diyabette Fizyopatolojik Tedavi Yaklaşımı ve Pioglitazonun Yeri Anadolu Kliniği Tıp Bilimleri Dergisi. 2017; 22:3.

Tao Y, Wang M, Chen E, Tang H. Liver regeneration: Analysis of the main relevant signaling molecules. *Mediators Inflamm.* 2017; 4256352.

Taşkıran A, Kasıkçı ES, Sahin KF, Çevreli B, Gözler T, Konuk. Effects of Highbush Cranberry (*Viburnum Opulus*) on Hyperglycemia and Oxidative Damage in the Kidney of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *The Journal of Neurobehavioral Sciences.* 2020; 7(2): 61-65,

Tegeler C, O'sullivan JL, Bucholtz N. The inflammatory markers CRP, IL-6, and IL- 10 are associated with cognitive function—data from the Berlin Aging Study II. *Neurobiol Aging.* 2016;112–7.

Tukhovskaya EA, Turovsky EA, Turovskaya MV, Levin SG, Murashev AN, Zinchenko VP ve ark. Anti-inflammatory cytokine interleukin-10 increases resistance to brain ischemia through modulation of ischemia-induced intracellular  $Ca^{2+}$  response. *Neurosci Lett.* 2014; 571:55–60.

Uğur H, Eker S, Çatak J, Yaman M. Vitamin C ve Hastalıklar Üzerine Etkisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi.* 2020; (19), 746-756.

Uhde AK, Ciurkiewicz M, Herder V. Intact interleukin-10 receptor signaling protects from hippocampal damage elicited by experimental neurotropic virus infection of SJL mice. *Sci Rep.* 2018; 8(1):6106.

Uslu H. Streptozotocin ile Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Oksidatif Stres ve Lipit Profili Üzerine A Lipoik Asit ile C Vitamini İlavesinin Etkileri. *Doktora Tezi: Kars.TC Kafkas Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı.* 2013.

Usta A, Dede S, Yörük İH. The effect of thymoquinone on serum antioxidant vitamin levels in diabetic rats. *Turkish Journal of Veterinary Research.* 2018; 2,1, 26-33.

Usta A. Deneysel Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulanmasının Nükleer Faktör Kappa B (Nf-Kb) ve Dna Hasarı Üzerine Etkisi. *Doktora Tezi: Van. Van YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı (Veteriner Programı).* 2014.

Uygur MM, Yavuz GD. Diyabet Tanısı ve Sınıflandırılması. *Türkiye Klinikleri J NutrDiet-Special Topics.* 2017;3(3):120-9.

Ünal B, Aslan H, Canan S, Şahin B, Kaplan S. Biyolojik Ortamlardaki Objelerin Sayımı Yapılırken Kullanılan Eski (tarafalı) Metotların Önemli Hata Kaynakları ve Çözüm Önerileri. *T Klin Tıp Bilimleri.* 2002; 22, 1-6.

Ünver SS, Özdenoğlu KB, Saraydın D. Effects of diabetes on apoptosis and mitosis in rat hippocampus. *Biotech Histochem.* 2021;96(6):460-7.

Vladimir I. Arkhipov, Ekaterina V. Pershina, Sergey G. The role of anti-inflammatory cytokines in memory processing in a healthy brain. *Behav Brain Res.* 2019; 367.

Wang XK, Sun T, Li YJ. A novel thiazolidinediones ATZD2 rescues memory deficits in a rat model of type 2 diabetes through antioxidant and antiinflammation. *Oncotarget.* 2017; 8:107409–22.

WHO. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. 1999.

Yıldız S, Rağbetli MÇ, Tülüce Y. Investigation of the Effects of Streptozotocin Applied in Different Doses on Rat Liver with Stereological Methods. *Van Vet J,* 2024; 35 (1), 53-58.

Zanchet DJ, Monteiro EF. Pig liver sectorization and segmentation and virtual reality depiction. *Acta Cir Bras.* 2002; 17(6): 381-387.

Zangeneh MM, Zangeneh A, Bahrami E ve ark. Evaluation of hematoprotective and hepatoprotective properties of aqueous extract of *Ceterach officinarum* DC against streptozotocin-induced hepatic injury in male mice. *Comp Clin Pathol.* 2018; 27 (6):1427-1436.

Zhang D, Li N, Wang Y. Methane ameliorates post-operative cognitive dysfunction by inhibiting microglia NF- $\kappa$ B/MAPKs pathway and promoting IL-10 expression in aged mice. *Int Immunopharmacol.* 2019; 71:52-60.

Zhang JH, Zhang JF, Song J, Bai Y, Deng L, Feng CP ve ark. Effects of berberine on diabetes and cognitive impairment in an animal model: the mechanisms of action. *Am J Chin Med.* 2021; 49(06):1399-415.

Zheng Y, El-kott AF, Shaldoum F et al. Alleviation of Diabetes-Induced Hepatotoxicity by Date Palm Hydroalcoholic Extract in Rat Model; A Biochemical, Immunohistochemical and Stereological Study *Int J Morphol.* 2021; 39 (3): 876-885.

## Özgeçmiş

09.06.1987 tarihinde Samsun’ da doğdu. İlk, orta ve Lise öğrenimimi Samsun ili Bafra ilçesinde tamamladı. Lisans eğitimimi 2007 yılında Kafkas Üniversitesinde başladı. İlk senesinde yatay geçiş ile Van YYÜ Fen Fakültesini tercih ederek 2008-2011 tarihleri arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü tamamladı. 2013 yılında Van YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. Danışmanlığını Prof. Dr. Fatmagül YUR’un yürüttüğü “**Florozisli koyunlarda DNA hasarı belirlenmesi**” isimli yüksek lisan tezini tamamlayarak Yüksek Lisans derecesine sahip oldu. 2020 yılında Prof. Dr. Hüseyin KARADAĞ danışmanlığında başladığı Anatomi Doktora eğitimini hocamızın emekli olması ve danışman değişikliği nedeni ile Doç. Dr. Osman YILMAZ danışmanlığında sona erdirdi. Evli ve 1 kız annesidir.

## EKLER

**EK:** Tez Orijinallik Raporu



T.C.  
**VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ**  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



### G19 –TEZ ORJİNALLİK RAPORU

<b>Tez Başlığı / Konusu</b>	Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Timokinon ve Vitamin C'nin Karaciğer Koruyucu Etkisinin <u>Stereolojik</u> Olarak İncelenmesi			
<b>İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları</b>				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
1	2	24	34	61
İntihal taraması yapılan program		Taramanın yapıldığı tarih	Benzerlik oranı %	
<u>Turn it in</u>		09/12/2024	%18	
<b>*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:</b>				
- Kabul ve onay sayfası hariç,				
- Teşekkür hariç,				
- İçindekiler hariç,				
- Simge ve kısaltmalar hariç,				
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)				
- Gereç ve yöntemler hariç,				
- Kaynakça hariç,				
- Alıntılar hariç,				
- Tezden çıkan yayınlar hariç,				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihali içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabulettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.				
Gereğini bilgilerinize arz ederim.				
AYŞEGÜL ÖNER				

<b>Öğrencinin Adı Soyadı</b>	AYŞEGÜL ÖNER
<b>Anabilim Dalı</b>	Anatomi Anabilim Dalı (Veteriner)
<b>Öğrenci No</b>	1993001055
<b>Programı</b>	<input type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora

<b>DANIŞMAN ONAYI</b> UYGUNDUR Doç. Dr. Osman YILMAZ (Unvan, Ad Soyad, İmza)	<b>ENSTİTÜ ONAYI</b> UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)
---	---