

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANTARON UYGULAMASININ DİYABETİK VE NON-
DİYABETİK RATLARIN BÖBREĞİNDE GP_x-1 VE CAT'IN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL LOKALİZASYONU ÜZERİNE
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emel UĞURLU

Danışman

Prof. Dr. Turgay DEPREM

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARS 2023

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANTARON UYGULAMASININ DİYABETİK VE NON-
DİYABETİK RATLARIN BÖBREĞİNDE GPx-1 VE CAT'IN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL LOKALİZASYONU ÜZERİNE
ETKİSİ**

Emel UĞURLU

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Turgay DEPREM

Bu tez Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (2021-TS-76)
tarafından desteklenmiştir.

KARS 2023

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince deneyim ve bilgi birikimleriyle bana yol gösteren, desteklerini her daim hissettiğim çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Turgay DEPREM'e teşekkürlerimi sunarım. Öğrenimim süresince tecrübeleri ile yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Şahin ASLAN başta olmak üzere tüm değerli hocalarım Doç Dr. Serap KORAL TAŞÇI, Doç Dr. Seyit Ali BİNGÖL, Prof. Dr. Sevda ELİŞ YILDIZ'a, tez çalışmamın deneysel sürecinde yardımlarını esirgemeyen Dr. Serap İLHAN AKSU ve Araştırma görevlisi Dilem GÜLECE ERMUTLU'ya, arkadaşım Esmâ Nur Mümine ÜMİT'e

Hayatımın her aşamasında bana destek olan, varlıklarından güç aldığım oğlum Efe UĞURLU, annem ve kardeşim Ali UĞURLU'ya, Ceren UĞURLU'ya

Bu süreçte benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi kalp ve damar cerrahisi yoğun bakım ünitesinde görev yapan değerli iş arkadaşlarıma ve isimlerini sayamadığım emeği geçen herkese teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR	V
ŞEKİLLER TABLOLAR DİZİNİ.....	VII
RESİMLER DİZİNİ	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT	X
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Diyabetes mellitus.....	2
2.1.1. Diyabetes mellitus Tipleri.....	2
2.1.1.1. Tip 1 Diyabetes mellitus.....	3
2.1.1.2. Tip 2 Diyabetes mellitus.....	3
2.1.1.3. Gestasyonel Diyabetes mellitus.....	3
2.1.1.4. Diğer Spesifik Tipler.....	4
2.2. Streptozotosin.....	4
2.3. Serbest Radikaller.....	5
2.4. Antioksidanlar	5
2.4.1. Endojen Antioksidanlar	6
2.4.2. Eksojen Antioksidanlar.....	7
2.5. Katalaz.....	7
2.6. Glutatyon peroksidaz-1	7

2.7. Hypericum perforatum (Sarı Kantaron).....	8
2.7.1. Hypericum perforatum'un İçerdiği Maddeler.....	8
2.7.2. Hypericum perforatum'un Diyabette Kullanımı.....	9
2.8. Böbrek Histolojisi	9
2.8.1. Nefron.....	11
2.8.2. Toplayıcı Kanal	12
2.8.3. Böbrek İnterstisyumu	13
2.9. Böbrek, Diyabet, Kantaron, Katalaz ve Glutatyon Peroksidaz-1 İlişkisi.....	13
3.MATERYAL VE METOD.....	14
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Ortamı.....	14
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	14
3.3. Deney Protokollerinin Gerçekleştirilmesi.....	14
3.3.1. Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	14
3.3.2. Deney Protokolleri ve Dokuların Alınması.....	15
3.4. Histolojik İncelemeler.....	15
3.5. İmmünohistokimyasal İncelemeler.....	15
3.6. İstatistiksel Analiz.....	16
4.BULGULAR.....	17
4.1. Canlı Ağırlık Bulguları.....	17
4.2. Kan – Glikoz Bulguları.....	17
4.3. Histolojik Bulgular.....	18
4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	23
4.4.1. CAT.....	23

4.4.2. GPx-1	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	31
6. KAYNAKLAR	35
7. EKLER.....	42
7.1. Özgeçmiş.....	42
7.2. Etik Kurul Kararı	43



SİMGELER VE KISALTMALAR

$^1\text{O}_2$: Singlet oksijen
ABC	: Avidin-biotin-peroksidaz
ADA	: Amerikan Diyabet Derneği
ADH	: Antidiüretik hormon
ATP	: Adenozin trifosfat
CAT	: Katalaz
DAB	: Diaminobenzidine
dk	: Dakika
DM	: Diyabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
GDM	: Gestasyonel Diyabetes Mellitus
GPx-1	: Glutasyon Peroksidaz – 1
HO_2	: Perhidroksil
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
H&E	: Hematoksilen ve Eosin
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
O_2^-	: Süperoksit radikali
OH^-	: Hidroksil radikali
PAS	: Periyodik Asit Shiff
PBS	: Fosfat Tamponlu solüsyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
RO^-	: Alkoksil radikali

ROO ⁻	: Peroksil radikali
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SR	: Serbest Radikaller
str HRP	: Streptavidin horse radish peroksidaze
STZ	: Streptozotosin
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
β	: Beta
μm	: Mikrometre



ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ**ŞEKİLLER DİZİNİ**

	Sayfa
Şekil 1. Korteks ve Medulla bölgeleri	10
Şekil 2. Yetişkin insan böbreğinin ortadan kesilmiş halinin diyagramı.....	11
Şekil 3. Renal tübül.....	12
Şekil 4. Malpighi cisimciği.....	13

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Gruplar ve günler arasındaki canlı ağırlık bulgularının karşılaştırılması.....	20
Tablo 2. Gruplar ve günler arasındaki kan - glikoz bulgularının karşılaştırılması.....	20
Tablo 3. Gruplara göre CAT immunoreaktivite skorlama tablosu.....	31
Tablo 4. Gruplara göre GPx – 1 immunoreaktivite skorlama tablosu.....	32

RESİMLER DİZİNİ**Sayfa**

Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusu genel görünümü.....	21
Resim 2. Kontrol grubu böbrek dokusu genel görünümü.....	22
Resim 3. Diyabet grubu böbrek dokusu genel görünümü.....	23
Resim 4. Diyabet grubu böbrek dokusu genel görünümü.....	24
Resim 5. Kantaron grubu böbrek dokusu genel görünümü.....	25
Resim 6. Kantaron + Diyabet grubu böbrek dokusu genel görünümü.....	26
Resim 7. Kontrol grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi.....	29
Resim 8. Kontrol grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi.....	30
Resim 9. Kontrol grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi.....	30
Resim 10. Diyabet grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi.....	31
Resim 11. Diyabet grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi.....	32
Resim 12. Diyabet grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi.....	33
Resim 13. Kantaron grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi.....	34
Resim 14. Kantaron + Diyabet grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi.....	35
Resim 15. Kontrol grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi.....	35
Resim 16. Diyabet grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi.....	35
Resim 17. Kontrol grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi.....	35
Resim 18. Diyabet grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi.....	35
Resim 19. Diyabet grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi.....	35
Resim 20. Kantaron + Diyabet grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi.....	35
Resim 21. Kantaron grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi.....	35
Resim 22. Böbrek dokusu CAT ve GPx-1 negatif kontrol.....	35

ÖZET**Kantaron Uygulamasının Diyabetik Ve Non-Diyabetik Ratların Böbreğinde GPx-1 Ve CAT'ın İmmünohistokimyasal Lokalizasyonu Üzerine Etkisi**

Bu çalışmada diyabetik ve diyabet olmayan rat modelinde *Hypericum perforatum* (Sarı Kantaron) bitkisinden elde edilen kantaron yağının böbrek dokusunda GPx-1 ve CAT' lokalizasyonunun immunohistokimyasal olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda 32 adet, 8-12 haftalık Wistar albino soyundan erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları rastgele kontrol, diyabet, kantaron ve diyabet +kantaron olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deneklerde deneysel diyabet oluşturuldu ve 2 hafta boyunca kantaron yağı gavaj yoluyla verildi. Böbrekler eksise edildikten sonra histolojik incelemeler için Crossman'ın üçlü boyaması (Triple Boyama), Hematoksilen & Eosin (H&E) ve Periyodik Asit Shiff (PAS) boyamaları uygulandı. İmmünoreaktivitenin belirlenmesi amacıyla Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks (ABC) metodu uygulandı. Histolojik olarak kontrol ve kantaron gruplarında dokular benzer yapıdaydı. Diyabet grubunda glomerulusların yapılarında dağılmalar, Bowman kapsülünde genişleme, tubulus distalislerin epitel hücre dizisinde dağınıklıklar, bazı hücrelerde büyümeler ve yer yer tubulus hücrelerinde dökülmeler olduğu belirlendi. Diyabet + Kantaron grubunun diyabet grubuna göre daha düzgün Malpighi yapılarına sahip oldukları ve tubuluslardaki hücrelerin daha düzenli oldukları belirlendi. Glutasyon peroksidaz immunoreaktivitesi incelendiğinde en fazla diyabet grubunda, sonra kontrol ve kantaron grubunda, en az ise diyabet + kantaron grubunda olduğu görüldü. Katalaz immunoreaktivitesi incelendiğinde ise en fazla kontrol ve kantaron grubunda, sonra diyabet +kantaron grubunda, en az ise diyabet grubunda olduğu görüldü. Sonuç olarak kantaron uygulamasının diyabetli böbreklerde antioksidan sistemlere katkıda bulunabileceği ve daha kapsamlı çalışmalarla başta böbrek olmak üzere birçok doku hasarının azaltılmasında umut vaat edici olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kantaron, Diyabet, Böbrek, GPx-1, CAT

ABSTRACT**The Effect of St. John's Wort Administration on the Immunohistochemical Localization of GPx-1 and CAT in the Kidney of Diabetic and Non-Diabetic Rats**

In this study, it was aimed to immunohistochemically determine the localization of GPx-1 and CAT in the kidney tissue of St. John's Wort oil obtained from the *Hypericum perforatum* plant in a diabetic and non-diabetic rat model. In our study, 32 male Wistar albino rats, 8-12 weeks old, were used. Experimental animals were randomly divided into 4 groups as control, STZ diabetes, St. John's wort and STZ diabetes + St. John's Wort. Experimental diabetes was induced in the subjects and St. John's Wort oil was given by gavage for 2 weeks. After the kidneys were excised, Crossman's triple staining (Triple Staining), Hematoxylin & Eosin (H&E) and Periodic Acid Schiff (PAS) stains were applied for histological examinations. Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) method was applied to determine the immunoreactivity. Histologically, the tissues in the control and St. John's Wort groups are similar. In the STZ diabetes group, it was determined that there were dispersions in the structures of the glomerulus, enlargement of the Bowman's capsule, dispersion in the epithelial cell line of the tubulus distalis, growth in some cells and shedding in the tubulus cells in places. It was determined that the STZ diabetes + St. John's Wort group had more uniform Malpighi structures and the cells in the tubules were more regular than the STZ diabetes group. When glutathione peroxidase immunoreactivity was examined, it was observed that it was highest in the STZ diabetes group, then in the control and St. John's Wort group, and the least in the STZ diabetes + St. John's Wort group. When catalase immunoreactivity was examined, it was seen that it was highest in the control and St. John's Wort group, then in the STZ diabetes + St. John's Wort group, and the least in the STZ diabetes group. As a result, it is thought that the application of St. John's Wort may contribute to the antioxidant systems in kidneys with diabetes and may be promising in reducing many tissue damage, especially kidney, with more comprehensive studies.

Keywords: St. John's Wort, Diabetes, Kidney, GPx-1, CAT

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes mellitus (DM), insülinin etkisinin, insülinin salgılanmasının veya her ikisinde görülen bozuklukların sonucu ortaya çıkan kronik bir hastalıktır. DM uzun dönemde birçok organda hasarlara neden olabilmektedir (American Diabetes Association 2015). Diyabete neden olan bir diğer durum ise serbest radikallerin miktarının artmasıdır (Fubuni ve Hubbard 2003).

Serbest radikaller (SR), eşleşmemiş bir veya daha fazla sayıda elektron taşıyan moleküllerdir (Marzatico ve Cafe 1993). Antioksidanlar ise SR oluşumunu engelleyerek ya da oluşmuş radikalleri temizleyerek işlev görürler (Elliot 1999). Bu dengenin SR tarafına kayması oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır (Tsolaki ve ark. 2014).

Hypericum perforatum, ekstraktı içeriğinde bol miktarlarda flavonoid ve fenolik asit barındıran farmasötik bir bitkidir (Bayramoğlu ve ark. 2014). Yapılan birçok çalışmada Hypericum perforatum'un antiinflamatuvar ve SR temizleyici özelliği bildirilmiştir (Ocak ve ark. 2014, Kıyan ve ark. 2015).

Çalışmamızda, Hypericum perforatum bitkisinden elde edilen ve gavaj yoluyla verilen kantaron yağının diyabetik böbrekteki katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz-1'in (GPx-1) immunohistokimyasal lokalizasyonunun üzerine etkilerini incelenmek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus (DM), insülinin etkisinin, insülinin salgılanmasının veya her ikisinde görülen bozuklukların sonucu olarak karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında da bozuklukların görüldüğü yüksek glikoz seviyeleri ile devam eden kronik bir hastalıktır (American Diabetes Association 2015).

DM tanısı, açlık kan glikoz düzeylerinin 126 mg/dl ve üzerinde olduğu durumlarda ve 2-3 aylık kan glikoz seviyelerini gösteren HbA1c değerinin 6,5 üzerinde olduğu durumlarda konulmaktadır (American Diabetes Association 2013).

DM uzun dönemde birçok organın fonksiyonlarında bozukluklara, yetersizliklere ya da hasarlara neden olabilmektedir (American Diabetes Association, 2015). Ayrıca DM hastasını sağlık komplikasyonlarına karşı daha yatkın duruma getirmekte, hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemekte ve yapılan sağlık harcamalarını arttırarak kişiye sosyoekonomik zararlar vermektedir (Khan ve ark. 2019).

DM'nin patofizyolojisi ise pankreasta bulunan beta (β) hücrelerinin otoimmün olarak yıkılması sonucunda meydana gelen insülin eksikliği ve insülinin etkilerine karşı direnç oluşturan anomalilik olarak karşımıza çıkmaktadır (American Diabetes Association, ADA 2015).

2.1.1. Diyabetes Mellitus Tipleri

Dünya Sağlık Örgütü (WHO – World Health Organization) ve Amerikan Diyabet Derneği (ADA – American Diabetes Association) tarafından yapılmış yeni sınıflandırma Diyabetes mellitus'un etiyolojisine göre yapılmış olup 4 ana gruba ayrılmıştır (Satman ve ark. 2002). Bu gruplar;

- Tip 1 Diyabetes mellitus
- Tip 2 Diyabetes mellitus
- Gestasyonel Diyabetes mellitus
- Diğer spesifik tipler olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.1.1.1. Tip 1 Diyabetes mellitus

Bu DM türü genetik, çevresel veya otoimmün nedenlerin sebep olduğu pankreastaki β hücrelerinin yıkılması sonucu ortaya çıkmaktadır. B hücrelerinin yıkılması sonucu insülin hormonu ya hiç üretilmemekte veya çok az üretilmektedir. Bunun sonucunda da yüksek şeker seviyesi (hiperglisemi) meydana gelmektedir (Katsarou ve ark. 2017).

Tip 1 DM genellikle insülin kullanımına ihtiyaç duyulan diyabet tipidir ve genellikle çocukluk ve ergenlik dönemlerinde başlamaktadır (Katsarou ve ark. 2017). Tip 1 DM dünya çapında salgın boyutuna ulaşmış ve tüm DM vakalarının % 10 ile %15' ini oluşturmaktadır (Pociot ve ark. 2016).

2.1.1.2. Tip 2 Diyabetes mellitus

En sık görülen diyabet tipi olup, insülinin salgılanmaması ve insülinin etkisinin bozulması sonucunda her iki durum birlikte görülmektedir (Başkal 2005). Tip 2 DM oluşmasına yüksek oranlarda genetik yatkınlık neden olsa da sağlıksız beslenme, hareketsiz yaşam gibi sebepler de tip 2 DM'ye neden olabilmektedir (Zheng ve ark. 2018). Genellikle 35 yaş ve üzeri kişilerde görülen tip 2 DM diyabet hastalarının %75 ile %90'ını oluşturmaktadır.

2.1.1.3. Gestasyonel Diyabetes mellitus

Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM) gebelik durumu ile ortaya çıkan ve çoğunlukla doğum sonrasında ortadan kalkan diyabet durumudur. Gebelik öncesi diyabeti bulunan hamileler GDM olarak sayılmazlar (Almind ve ark. 2001). GDM gebeliğin ikinci ve üçüncü trimester döneminde gelişen, başlarda değişiklik gösteren hiperglisemiye neden olan glikoz intoleransı olarak adlandırılmaktadır (Alfadhli 2015). GDM tedavi edilmez ise preeklampsi, erken doğum, fetüste aşırı büyüme gibi hem anne hem de bebek için doğumdan önce, doğum sırasında ya da doğumdan sonra yaşamsal komplikasyonlara neden olabilmektedir (Damm ve ark. 2016).

2.1.1.4. Diğer Spesifik Tipler

Bu grupta bulunan DM tipleri Tip 1 DM ve Tip 2 DM ile ilişkileri bulunmayan, sekonder DM gelişim sebebi olarak görülmektedirler (Malek 2010). Bu DM türleri genellikle monogenetik bozukluklarla ilişkili farklı diyabet tipleridir ve β hücrelerinin fonksiyonlarındaki genetik bozukluklarla karakteristiktir. Bu diyabet tiplerinin çoğunluğu genç çocukluk ya da erken erişkinlik dönemlerinde ortaya çıkan DM olarak bilinmektedir (Almind ve ark. 2001). Bu DM tipleri;

- β hücre işlevindeki kalıtsal hasarlara bağlı DM,
- İnsüline bağlı kalıtsal hasarlardan oluşan DM,
- Bazen diyabetle birlikte görülen genetik sendromlar,
- İmmün kaynaklı diyabetin seyrek şekilleri,
- Ekzokrin pankreasın hastalıklarının neden olduğu DM,
- Endokrinopatiden kaynaklanan DM,
- İlaç veya kimyasal sorunlu görülen DM,
- Enfeksiyonların neden olduğu DM olarak sıralanabilir (ADA 2015).

2.2. Streptozotosin

Streptozotosin (STZ), Streptomyces cinsi mantarından elde edilen ve deneysel DM oluşturmak amacıyla pankreastaki β hücrelerini yok eden bir ajandır (Bayır, 2014). STZ uygulaması sonucu hasar gören β hücreleri kandaki insülin miktarlarını hızla azaltarak hücre içerisine glikozun girememesi ile hiperglisemi oluşmaktadır. (Ugarte ve ark. 2012). STZ, pankreatik β hücrelerinin içerisine GLUT2 glikoz taşıyıcı protein vasıtasıyla girmektedir ve hedef ise girdiği hücrenin DNA'sıdır (Kurçer ve Karaoğlu 2012). İşlevsel β hücrelerinin zarar görmesi sonrası gen ekspresyonu ve protein üretiminde eksiklikler, glikozun taşınması ve metabolizmanın bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca diyabetin ilerlediği esnada karaciğer ve pankreasta oksidatif stresin arttığı belirlenmiştir (Attia 2009).

2.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller (SR), atomik ve moleküler yapıda eşleşmemiş bir veya daha fazla sayıda elektron taşıyan molekül olup çoğunlukla kararsız yapıda ve oldukça reaktiftirler (Marzatico ve Cafe 1993). Başka moleküller ile basit şekilde elektron alışverişi yapabilen SR oksidan moleküller ya da reaktif oksijen türleri (ROT) olarak da isimlendirilmektedirler (Çavdar ve ark. 1997). Ayrıca bu SR pozitif, negatif ya da yüksüz olabilmektedirler (Fubuni ve Hubbard 2003).

SR somatik hücreler vasıtasıyla bağışıklık sistemine saldırmaktadır. Bu radikaller kararsız yapıda, reaktiviteleri çok yüksek ve bu sebeplerle de çevrelerinde bulunan moleküllere zarar veren zararlı moleküller olarak bilinirler (Altan ve ark. 2006). SR kimyasal olarak reaktif olmaları protein, lipid, enzim, DNA, RNA, koenzim ve nükleotidler gibi oldukça fazla temel hücresel bileşenlere saldırıp hasar vermektedir (Gill ve Tuteja 2010).

Ortaya çıkan bu hasarlar neticesinde, yaşlanma, kalp ve damar hastalıkları, inme, romatoid artrit, katarakt, diyabet, bağışıklıkta zayıflamalar, kanser çeşitleri ve sinir sistemindeki hastalıklar gibi oldukça fazla kronik hastalığa sebep olarak hücre ölümlerine neden olabilmektedirler (Fubuni ve Hubbard 2003).

Bu SR ler ise; süperoksit radikali (O_2^-), perhidroksil (HO_2), hidroksil radikali (OH^\cdot), hidrojen peroksit (H_2O_2), alkoksil radikali (RO^\cdot), peroksil radikali (ROO^\cdot) ve singlet oksijen (1O_2)'dir (Florence 1990). Bu SR'ler organizmada normal koşullarda da devamlı oluşmaktadır. Biyolojik sistemlerdeki en önemli SR'ler ise oksijende oluşanlardır (hidroksil radikali, süperoksit anyonu gibi) (Akkuş 1995).

2.4. Antioksidanlar

SR vücutta belirli miktarlarda bulunması yararlı olan maddelerdir. Bu maddelerin de vücuttaki dengesini antioksidan savunma sistemleri sağlamaktadır (Lobo ve ark., 2010). Antioksidanlar, SR oluşumlarını engelleyerek ya da oluşmuş radikalleri temizleyerek hücrelerin zarar görmesini engelleyen moleküllerdir (Elliot 1999).

Antioksidan savunma sistemleri, oksidatif stres oluşumuna karşı SR oluşumunu engelleyerek, azaltarak ya da SR kaynaklı oluşmuş hasarları düzelterek karşı koyar. İyi bir antioksidan;

- SR oluşturduğu spesifik etkileri ortadan kaldırır,
- Redoks metalleriyle kıkıçlama yapar,
- Doku ve vücut sıvılarında belirli düzeyde bulunur,
- Kolayca absorbe olabilir,
- Hem sıvı hem de membranlarda kolayca işlev görebilme,

özelliklerine sahip olmalıdır (Derviş 2011).

SR aşırı üretimi ve antioksidanların tükenmesi sonucu SR'ler lipitlere, proteinlere, şekerlere ve DNA'ya oksidatif hasar vermektedir. Bu oksidan ve antioksidan dengesindeki eşitsizlik oksidatif stres olarak bilinmekte ve bu stres doku hasarına neden olarak çeşitli hastalıkların patolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (Tsolaki ve ark. 2014).

Antioksidanlar çeşitli yollarla işlev görmektedir. Bu yollar;

- SR'lerin oluşumunu engelleyerek,
- SR oluşumunu katalize eden metal iyonlarını bağlayarak,
- SR'lerin antioksidanlar aracılığıyla temizleyerek (Yok edici antioksidanlar),
- Zarar görmüş hücresel yapıları onararak veya temizleyerek (Tamir özelliğine sahip antioksidanlar) gerçekleşmektedir (Halliwell ve Gutteridge 1984).

2.4.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar 2 grupta incelenmektedir. Bunlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardır.

Enzimatik antioksidanlar SR kaynaklı hasarın engellenmesi amacıyla hızlı etki gösterdiklerinden ilk sırada görev alırlar. Enzimatik antioksidanlar arasında; sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S transferaz ve glutatyon redüktaz bulunmaktadır. Sitokrom oksidaz hücre içi oksijeni, süperoksit

dismutaz süperoksit radikalini, katalaz hidrojen peroksidi, glutatyon peroksidaz ise hidrojen peroksidin uzaklaştırılmalarını sağlamaktadır (Shahidi 1997, Papas 1999).

Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında ise glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albumin, koenzim Q10 gibi maddeler bulunmaktadır (Sen ve ark. 2011).

2.4.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar da 2 grupta incelenmektedir. Bunlar, vitamin olan ve ilaç olarak kullanılan antioksidanlardır. Vitamin olan antioksidanlar arasında vitamin E, vitamin C, vitamin A, vitamin B9 bulunmaktadır. İlaç olarak kullanılan antioksidanlar arasında ise ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz ve sitokinler bulunmaktadır (Sen ve ark. 2011).

2.5. Katalaz

Katalaz (CAT) yapısındaki hem grubu kaynaklı hemoprotein olarak görülmektedir (Smith ve ark. 1983). Kan, kemik iliği, böbrek ve karaciğerde bol miktarlarda bulunmaktadır (Murray ve ark. 1991). CAT aktivitesinin azaldığı kişilerde oksidatif strese bağlı ateroskleroz, diyabet, lipid bozuklukları ve nörodejeneratif bozukluklar daha sık görülmektedir (Oh ve ark. 2007).

2.6. Glutatyon Peroksidaz-1

Glutatyon Peroksidaz-1 (GPx-1), hidrojen peroksit gibi SR'lerden hücreleri korumada en önemli antioksidan enzimidir (Mates ve ark. 1999). Selenyum bağlı enzim olan GPx-1, hidrojen peroksitleri metabolize etmenin yanı sıra kolesterol ve uzun zincirli yağ asidi hidroperoksitleri metabolize edebilmektedir. Ancak fosfolipaz A2 enzimi olmaksızın fosfolipitlerdeki hidroperoksitlerin metabolize edilmesini gerçekleştiremez (Grossmann ve Wendel 1983, Sunde 1990).

2.7. *Hypericum perforatum* (Sarı Kantaron)

Ülkemizde sarı kantaron otu, kılış otu, binbirdelik otu, yara otu, mayasıl otu ve kuzu kıran gibi çeşitli isimlerle bilinen *Hypericum perforatum*, dünyanın birçok yerinde (Asya, Avrupa, Kuzey Afrika ve Amerika) yetişen, Hypericaceae (Sarı Kantarongiller) familyasına ait bir bitki türüdür. 30 ila 90 santimetre uzunluklarda altın sarısı çiçekleri olan bir bitkidir (Hışıl ve ark. 2005).

Antik çağlardan beri ilaç yapımında kullanılan sarı kantaron otu, yara iyileşmelerinde, sindirim sorunlarında böcek ısırma ve sokmalarında, bağırsak parazitlerinin tedavisinde, psikiyatrik hastalıkların tedavisinde, bakteriyel ve viral enfeksiyonların tedavilerinde kullanılmaktadır (Dugoua ve ark. 2006).

2.7.1. *Hypericum perforatum*'un İçerdiği Maddeler

Kantaron otunun göstermiş olduğu etkilere neden olan 9 grup madde bulunmaktadır. Bu maddelerin konsantrasyon ve miktarları hasat edildiği zaman, kurutma yöntemleri ve saklama koşullarına göre değişiklik göstermektedir. Bu maddeler ise;

- Fenilpropanlar,
- Flavonol glikozidler,
- Biflavonlar,
- Taninler ve proantosiyanidinler,
- Ksantonlar,
- Floroglusinoller (Hiperforin),
- Esansiyel yağlar,
- Aminoasitler,
- Naftodiantronlar olarak sıralanabilir.

Bu maddelerin en önemli olanları ise hiperforin, flavonoidler ve naftodiantronlar olarak karşımıza çıkmaktadır (Henderson ve ark. 2002, Menini ve ark. 2004).

2.7.2. Hypericum perforatum'un Diyabette Kullanımı

Oksidatif stres, SR oluşması ile antioksidanlar arasında bulunan dengenin SR tarafına doğru bozulmasıdır ve bu durum dokularda hasarlara sebep olmaktadır (Baynes 1991, Mukherje ve ark. 1998). Oksidatif stres, tip I DM'de özellikle pankreatik β hücrelerinin apoptoza yönelmesinde, tip II DM'de ise de insülin salgılanma mekanizmasını inhibe ederek (Bonfont ve ark. 2000), protein glikolizasyonu, ateroskleroz, retinopati, nefropati, nörolojik disfonksiyonlar gibi çeşitli DM komplikasyonlarına neden olur. Bir başka ifadeyle oksidatif stres seviyelerinin arttığı gözlenen DM'li hastalarda C ve E vitaminleri, glutatyon, SOD, CAT, GPx gibi antioksidan miktarlarının azalması DM komplikasyonlarında oksidatif stresin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir (Lipinski 2001).

Hypericum perforatum içeriğinde bulunan flavonoidler kuvvetli antioksidandır (Öztürk ve ark. 2007). Bu antioksidan özelliğinden dolayı Hypericum perforatum SR üretimini inhibe etmektedir (Hunt ve ark. 2001). Bu özellikler göz önüne alındığında DM kaynaklı oksidatif stresin neden olabileceği hasarlar antioksidan özellik gösteren Hypericum perforatum ile azaltılabilir.

2.8. Böbreğin Histolojisi

Boşaltım sisteminin hayati organı olan böbrekler, birleşik tübüler bez olarak kabul edilir ve retroperitoneal bölgede, on ikinci torakal ve üçüncü lumbal omurlar arasında yer almaktadır. İnce bir fibröz bağ dokusundan kapsüle sarıdır. Bu kapsülün dış kısmında fibroblast ve kollajen liflerce, iç kısmı ise miyofibroblastlarca zengindir (Eşrefoğlu 2016).

Böbrekler temel olarak, kanda bulunan metabolizma artıklarının temizlenmesi (üre ve diğer azotlu maddeler), su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi (ozmoregülasyon), salgıladığı renin ile kan basıncının ayarlanmasında, eritropoietin ile eritrosit yapımında ve D₃ vitamininin aktifleştirilmesinde görev alırlar (Eşrefoğlu 2016, Özer 2018).

Her böbrek, korteks (dış korteks ve jukstamedulla korteksi olarak ikiye ayrılmaktadır) ve medulladan (dış ve iç medulla olmak üzere ikiye ayrılır)

oluşmaktadır. Korteks, renal korpüsküleri, kıvrımlı ve düz tübüleri, toplama tübülerini ve toplama kanallarını barındırmaktadır. Medulla ise düz tübüleri ve toplama kanallarını barındırır. Medulla piramit şekilli oluşundan dolayı medulla piramidi adını almaktadır. Bir medulla piramidi ve üzerini örten korteks bir araya geldiğinde böbrek lobu adını almaktadır (Kierszenbaum ve Tres 2021, Eşrefoğlu 2016).

Böbreğin ana işlevsel birimleri ise nefron ve toplayıcı kanal birlikte renal tübülü oluşturmaktadır. Renal tübülün bölümleri ise;

1. Nefron

A. Böbrek Cisimciği (Malpighi cisimciği)

i. Glomerulus

a. Kapillar Ağ

b. Mezangiyum

ii. Bowman Kapsülü

B. Proksimal Kıvrımlı Tübül

C. Proksimal Düz Tübül (Kalın inen kol)

D. Henle Kulpu

i. İnen Bölüm

ii. Çıkan Bölüm

E. Distal Düz Tübül (Makula densa oluşturan, kalın çıkan kol)

F. Distal Kıvrımlı Tübül

2. Toplayıcı Kanal

A. Tübülüs Konnektivus

B. Tübülüs Kollektivus

i. Kortikal Tübülüs Kollektivus

ii. Dış Medullar Tübülüs Kollektivus

iii. İç Medullar Tübülüs Kollektivus (Duktus papillarisisi içerir) olarak

karşımıza çıkmaktadır (Özer 2018).

2.8.1. Nefron

İdrar oluşturmada sorumlu olan nefronlar, böbrek cisimciği, proksimal kıvrımlı tübül, proksimal düz tübül, henle kulpu, distal kıvrımlı tübül ve distal düz tübülden oluşmaktadır. Kortikal ve Jukstamedulla olmak üzere iki nefron bulunmaktadır. Kortikal nefron, kısa bir henle kulpu bulunan çıkan böbrek tübüllerinin dış medullaya kadar uzanan nefronlardır. Jukstamedulla nefronu ise, uzun henle kulpu bulunan ve çıkan böbrek tübüllerinin iç medullaya kadar uzandığı nefronlardır (Kierszenbaum ve Tres 2021, Eşrefoğlu 2016).

Nefronun yapılarından biri olan böbrek cisimciği diğer adı ile malpigi cisimciği, kapiller yumağı saran Bowman kapsülü ve glomerulustan oluşmaktadır. Bowman kapsülü glomerulus kapilleriyle yapışmış olan visseral tabaka ve bağ doku stromasına komşu olan parietal tabakadan oluşmaktadır. Visseral tabaka alt tarafından bazal lamina ile desteklenmiş podosit adlı epitel dokularıyla döşelidir. Parietal tabaka ise basit yassı epitel ile döşenmiştir. Visseral ve parietal tabakalar arasında idrar boşluğu bulunmaktadır. Glomerulus ise podositler, glomerulus kapillerini döşeyen endotel hücrelerinden ve mezangiyumdan oluşmaktadır. (Kierszenbaum ve Tres 2021).

Podositler, mezenşim kökenli postmitotik hücrelerdir. Bu hücreler kutuplaşmış olup çekirdeklerinin bulunduğu gövdeleri idrar boşluğuna doğru çıkıntı yapmıştır. Hücre gövdesinden çıkıntı yapmış bu dallar dallanarak pediselleri oluştururlar. Podositler ve glomerulus endotel hücreleri ayrı ayrı bazal lamina oluşturmaktadır. Bu bazal laminalar birleşerek glomerül bazal membranını oluşturmaktadır. Bu membran tip IV kollajen, laminin, fibronektin ve heparan sülfat içeren proteoglikanlardan oluşmaktadır (Kierszenbaum ve Tres 2021).

Mezangiyum mezangiyal hücreler ve mezangiyal matriks olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır. İki çeşit mezangiyal hücre bulunmaktadır. İntraglomerüler mezangiyal hücreler özelleşmiş pedisitlerdir ve makrofaj ve düz kas hücrelerinin özelliklerine sahiptir. Bu hücreler, kasılabilir, fagositoz yapabilir ve proliferasyon (çoğalma) yapabilmektedir. Ekstraglomerüler mezangiyal hücreler ise glomerülün dışında, glomerül arteriyolları ile makula densa arasında bulunan hücrelerdir. Mezangiyal hücreler filtrasyon işlemine katkıda bulunurlar. Bu katkılar, glomerül

kapillere mekanik destek sağlarlar, fagositik özellikleriyle glomerüler bazal membranın yenilenmesini düzenler, kasılma özellikleriyle kan akımını kontrol ederler, prostoglandinler ve endotelinleri salgırlar ve anjiotensin II'ye cevap verirler. Böbrekte ayrıca endokrin yapıda jukstagglomerül aparatı bulunmaktadır. Bu aparat makula densa, sktraglomerüler mezangiyal hücreler ve renin salgılayan jukstagglomerüler hücrelerden oluşmaktadır (Kierszenbaum ve Tres 2021, Eşrefoğlu 2016).

Proksimal kıvrımlı tübül apikal yüzeyde birbirlerine sıkı bağlantılarla bağlanmış geri emilim özelliğinde kübik epitel hücrelerle döşelidir. Bu hücrelerin apikal yüzeyleri mikrovillusludur, bazolateral yüzeylerde membran katlantıları ve iç içe geçmiş uzantılar barındırır, Plazma membran katlantıları arasında adenozin trifosfat (ATP) sentezi için uzun mitokondriyonlara sahiptir ve apikal tübüveziküller ve lizozomlar, endositoz mekanizmalarında ve küçük proteinleri aminoasitlere parçalanmasında görev almaktadırlar (Kierszenbaum ve Tres 2021).

Henle kulpu, inen ve çıkan koldan oluşmaktadır. İnce inen bölüm (proksimal düz tübül) proksimal kıvrımlı tübül ile devam etmektedir. Çıkan kalın bölüm (distal düz tübül) ise distal kıvrımlı tübül ile devam eder. İnen kol suya yüksek oranda geçirgendir. Çıkan kol ise su geçirgenliği olmamasına karşın tuzların geri emilmesini sağlar. Henle kulpunu döşeyen epitel hücreleri, idrarda bolca bulunan Tamm-Horsfall proteinini sentezlemektedir (Kierszenbaum ve Tres 2021).

Distal kıvrımlı tübülü döşeyen kübik epitel hücreleri, proksimal kıvrımlı tübülün hücrelerine göre daha kısa ve belirginfirçamsı kenarları bulundurmazlar, proksimal kıvrımlı tübüldeki gibi içerilerinde mitokondriyonları bulundururlar ve makula densa hücreleri ters polariteye sahiptir. Distal kıvrımlı tübülün distal kısmı antidiüretik hormon (ADH) veya vazopressin varlığında suya geçirgenlik gösterirler (Kierszenbaum ve Tres 2021).

2.8.2. Toplayıcı Kanal

Distal kıvrımlı tübül bir bağlayıcı tübül ile toplayıcı kanala bağlanmaktadır. Toplayıcı kanal iki farklı tip hücre barındıran kübik epitelle döşelidir. Bu hücreler açık renkli esas hücreler ve koyu renkli interkalar hücrelerdir. Esas hücreler, bazal

plazmadaki membran katlantıları, bir adet monosilyum ve birkaç mikrovillus içerirler. İnterkalat hücreler ise çok sayıda mitokondriyon barındırırlar, apikallerinde mikrovillus ve makroplikalar bulundurur ve bazal plazma membran katlantıları bulunmamaktadır. Ayrıca interkalat hücreler ADH olduğu durumlarda akuaporin 2 ile suyun lümeninden hücre içerisine alınmaktadır. (Kierszenbaum ve Tres 2021, Eşrefoğlu 2016).

2.8.3. Böbrek İntersitisyumu

Böbrek intersitisyumunda, immün sistemdeki göç eden hücreler dendritik hücreler bulunmaktadır. İnterstisyum hücreleri, böbrek korteksi fibroblastları ve böbrek medullası fibroblastları olmak üzere iki gruba ayrılır. Kortikal fibroblastlar eritropoietin salgırlar. Medulla fibroblastları ise papilladaki kan akışını düzenleyen glikozaminoglikanlar ve vazoaaktif prostoglandin E2 salgırlar (Kierszenbaum ve Tres 2021).

2.9. Böbrek, Diyabet, Kantaron, Katalaz ve Glutatyon Peroksidaz-1 İlişkisi

Diyabetik hastalarda ve diyabet oluşturulan rat modellerinde kalp, böbrek, damar, göz ve sinirlerde artmış oksidatif stres belirlenmiştir (Askwith ve ark. 2009). DM birçok organda hasara neden olabilen (American Diabetes Association 2015), SR artışına ya da antioksidanların inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından birisidir. Oksidatif stres diyabet, ateroskleroz ve obezite gibi hastalıkların patolojik ilerlemesi ve etiyojisindeki durumu nedeniyle son yılların en çok araştırılan konulardan biri haline geldiği görülmektedir (Perez ve ark. 2009). Yapılan araştırmalara göre DM, lipid peroksidasyonunu arttırdığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının hasar gördüğü yönünde görüş birliği bulunmaktadır (Memişoğulları ve Bakan 2004).

Ketani ve ark. (2015) STZ ile oluşturulan diyabetik ratların böbreklerinde gelişen histopatolojik değişimleri inceledikleri çalışmalarında, böbrekte mezengiyumda genişleme, glomeruluslarda hipertrofi, glomerüler bazal membranında kalınlaşma ve glomerüler skleroz gibi değişimlerin meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Dönmez (2008) yaptığı araştırmada, diyabetin böbrek dokusunda glomerulus ve tübüllerde dejenerasyon, bazal membranlarda kalınlaşma ve düzensizlik, mezengiyal hücrelerde çoğalma gibi değişimlere sebep olduğunu bildirmiştir.

Oksidatif stres, diyabetik böbrek komplikasyonlarının patogenezinde etkilidir (Sanchez ve ark. 2000). SOD, Glutasyon peroksidaz ve CAT gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunun pankreas adacık hücrelerinde böbrek, yağ doku ve karaciğer gibi diğer dokulara göre en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (Tiedge ve ark. 1998). Bu yüzden diğer dokulara göre oksidatif strese en hassas yapılardan biri olduğu bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Beppu ve ark. 2003). Ayrıca DM böbrekte CAT lokalizasyonunu azaltmakta ve dokuya histolojik düzeyde zarar vermektedir (Bingöl ve Kocamış 2010). Yapılan başka bir çalışmada da DM dokularda GPx-1 lokalizasyonunu anlamlı olmasa da azalttığı bildirilmiştir (Deprem ve Gülmez 2014).

Ulus ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada böbrek dokusu homojenatlarında SOD aktivitesinin düştüğünü, CAT enzim aktivitesinin azaldığını, GPx enzim aktivitesinin ise diyabetli grupta kontrol grubuna göre belirgin bir artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Bir başka araştırmada ise (Rauscher ve ark. 2001) diyabetin antioksidan enzim düzeylerine etkisi ölçülmüş ve SOD ile GPx antioksidan enzimlerinde kontrol grubuna göre artış gözlenirken, CAT enzim aktivitesinde herhangi bir değişim olmadığı belirtilmiştir. Beshay ve Carrier (2004) yaptıkları araştırmada, diyabetli böbrek dokusunda SOD enzimi aktivitesinde değişim olamadığı gözlenirken, CAT enzim aktivitesinde düşüş olduğunu bildirmişlerdir.

Kamalakkannan ve Prince (2006)'in yaptıkları çalışmaya göre ise diyabetli sıçanların böbrek dokusunda SOD ve GPx enzim düzeylerinde düşüş olduğu belirtilmiştir.

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların oluşturduğu hasarı geciktirmek ya da önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinmektedir (Halliwell 1990). Uzayan oksidatif stres ve antioksidan kapasitedeki değişiklikler

DM'in uzun dönem komplikasyonlarının ortaya çıkmasıyla ilişkili olabilir (Van Dam ve ark. 1995). Artış gösteren serbest radikaller, antioksidan savunma bileşenlerini tüketerek hücrel fonksiyonlarının bozulmasına ve membranlarda oksidatif hasara yol açabilir (Baynes 1991).

Antioksidan aktiviteye sahip bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen bazı etken maddelerin, hipergliseminin neden olduğu oksidatif strese karşı koruma sağlama sağlaması ve glikoz metabolizması üzerinde olumlu etkileri olması nedeniyle DM tedavisinde yararlı olabileceği bildirilmektedir (Nicolle ve ark. 2011).

Kantaron yağının yanık ve yara iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen araştırmalarda olumlu sonuçların alındığı kanıtlanmıştır (Castro ve ark. 2012, Lavagna ve ark. 2001, Süntar ve ark. 2010). Diyabetik dokularda kantaron yağının oksidatif stresi azalttığı ve yara iyileşmesinin hızında artışa neden olduğu belirtilmektedir (Farsak ve ark. 2017).

Arokiyaraj ve ark. (2011) STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda kantaronun anti-hiperglisemik aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Can ve ark. (2011) yaptıkları araştırmada diyabetik ratlarda kantaronun antidiyabetik etkisinin olduğunu ve bir hafta kantaron uygulamasının kan-glikoz seviyesinde düşüş sağladığını belirtmişlerdir.

STZ ile oluşturulan diyabetik rat modellerinde antioksidan kullanılması sonucunda, antioksidan sistemler ve serbest radikaller arasında meydana gelen dengesizliğin önlenebileceği ve bu sayede böbrekte oluşan histopatolojik değişikliklerin azaltılabileceği bildirilmiştir (Vural ve ark. 2001, Mahesh ve Menon 2004).

Yukarıda belirtilen koşullar doğrultusunda bu çalışmanın amacı, STZ ile DM oluşturulan sıçan böbreklerinde kantaron uygulamasının dokudaki histolojik değişime etkisini ve CAT ve GPx-1 lokalizasyonunun immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Ortamı

Bu çalışmanın deney aşaması Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma merkezinde gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan dokular KAÜ-HADYЕК/2017-098 kodlu Etik Kurulu onayı ile kesilen sıçanlardan alınan ve uygun koşullarda bloklanarak saklanan böbrek dokularından elde edilmiştir. Bu projemiz ise KAÜ-HADYЕК/2021-039 kodlu Etik Kurulu onayı alınarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda 32 adet, 8-12 haftalık Wistar albino soyundan erkek sıçan kullanıldı. Denekler deney yapılacak merkeze nakledildikten sonra adaptasyon için denekler 2 hafta boyunca bekletildi. Bu süreçte denekler 20 ± 2 °C sabit oda sıcaklığında, nem oranı %50 ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsüne sahip şeffaf rat kafeslerinde barındırıldı. Deneklerin beslenmesi için standart sıçan yemi ve musluk suyu kullanıldı.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Denekler randomize seçilerek, her grupta 8 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Bu gruplar;

- Grup 1 (Kontrol Grubu)
- Grup 2 (Diyabet Grubu)
- Grup 3 (Kantaron Grubu)
- Grup 4 (Diyabet ve Kantaron Grubu) olarak belirlenmiştir.

3.3. Deney Protokollerinin Gerçekleştirilmesi

3.3.1. Deneysel Diyabet Oluşturulması

Deneysel diyabet; ratlara pH 4,5 deki 0.1 M sitrat tamponu içinde eritilen streptozotosin'in (STZ) 50 mg/kg intraperitoneal enjeksiyonu ile oluşturuldu. Deneysel diyabet oluşturulmadan önce denekler 8 saat aç bırakıldı. STZ uygulamasından 6 saat sonra yine standart sıçan yemi ve içme suyu ile beslenmelerine

devam edildi. STZ uygulamasından 72 saat sonra, 6 saatlik açlık sonrası ratların kuyruklarından alınacak kandan glukometre ile kan şekerleri (glukoz) düzeylerine bakıldı. Kan şeker değerleri 250 mg/dL'nin üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi (Kanitkar ve Bhonde 2004).

3.3.2. Deney Protokolleri ve Dokuların Alınması

Grup 1'de (Kontrol) denekler anestezi altına alındıktan sonra herhangi bir işlem uygulamaksızın böbrek dokuları alınmıştır. Deneklerde deneysel diyabet teyit edildikten sonra, kantaron uygulaması yapılacak olan Grup 3 (Kantaron) ve Grup 4 (Diyabet + Kantaron)'de bulunan sıçanların günlük vücut ağırlıkları tartıldıktan sonra yapılmış olan Hypericum perforatum yağı 300 µl oral gavaj uygulamasıyla verildi. 4 haftalık deney aşamalarının tamamlanmasından sonra, deneklerin eter anestezisi uygulanarak servikal dislokasyonla böbrek dokuları alınmıştır.

3.4. Histolojik İncelemeler

Histolojik incelemeler için alınan böbrek doku parçaları % 10'luk formaldehitte tespit edildi. Dokular rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafinde bloklandı. Doku bloklarından 5 mikrometre (µm) kalınlığında seri kesitler alındı. Üzerinde çalışılan dokunun belirtilebilmesi ve dokunun bütün olarak gözlemlenebilmesi için alınan kesitlere Crossman'ın üçlü boyaması (Triple Boyama) ve Hematoksilen & Eosin (H&E) boyamaları uygulandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus Bx53, Japan) değerlendirilerek gerekli görülen olgular fotoğraflandırıldı.

3.5. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunohistokimyasal yöntem olarak Avidin-biotin-peroksidoz kompleks (ABC) tekniği kullanılmıştır. CAT ve GPx-1'in böbrekteki immunohistokimyasal lokalizasyonunun incelenmesi amacıyla deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra doku fosfat buffered salin (PBS) (0,1 M, PH, 7,2)'de çalkalanarak endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 0,1 M'lik PBS'te hazırlanmış % 3'lük

H₂O₂'de 15 dk. inkube edilmiştir. PBS ile yıkandıktan sonra antijenleri açığa çıkarmak için sitrat buffer içerisinde yerleştirilen kesitler mikrodalga içerisinde 600 devirde 10 dakika işlem gördü. İşlem sonrası tekrar PBS ile (3x5 dk.) yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmaların engellenmesi için uygun serumda (%10) inkube edildi. Sonra kesitlerin üzerine, oda sıcaklığında 1 saat anti CAT (dil.) ve GPx-1 (dil.) antikoru uygulanarak inkube edildi. Ardından kesitlerin PBS ile yıkanmasını takiben kesitlerin üzerine biotinlenmiş sekonder antikor ilave edilerek ve 30 dk oda ısısında tutuldu. PBS ile yıkandıktan sonra, kesitler streptavidin horse radish peroksidaze (str.HRP) ile oda ısısında 30 dk inkübe edildi. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen uygulaması için DAB tekniği uygulandı. Kesitlere kromojen solüsyonu eklendikten sonra ışık mikroskopunda kontrol edilerek immunoreaktivitenin olma durumuna göre reaksiyon distile su ile durduruldu. Zıt boyama için hematoksilin uygulandı. Distile su ile yıkandıktan ve histolojik rutin işlemlerden (dehidrasyon, saydamlaştırma) geçirildikten sonra sabit preparat haline getirilen dokular ışık mikroskopunda tek tek incelenerek ve fotoğrafları çekildi. Kesitlerde, boyanan hücrelerin boyanma derecesi kriter olarak semikantitatif bir yöntemle, skorlama yapıldı. Boyanma derecesi: 0 (boyanma yok), +1(zayıf boyanma), +2 (orta boyanma), +3 (güçlü boyanma) olarak değerlendirildi. İmmunoreaktivitelerin spesifik olup olmadığını tespit etmek amacı ile her 4 gruptan alınan böbrek kesitlerine bütün işlemler aynı olmak koşulu ile primer antikor ilave edilmeksizin (omission control) PBS'te tutularak ve diğer işlemler aynen uygulandı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen veriler SPSS® Statistic Version 20 (IBM®, USA) kullanılarak analiz edildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda tek yönlü Anova testi kullanılmıştır. İmmünohistokimyasal yoğunluk ise Kruskal-Wallis analizi ile tespit edildi. Analizler sonucunda p<0,05 değeri istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda ratların canlı ağırlık ve kan – glikoz değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Böbrek dokularının Crossman'ın üçlü boyaması (Triple Boyama) ve Hematoksilen & Eosin (H&E) boyamaları yapılarak incelendi. İmmunohistokimyasal olarak CAT ve GPX-1 antikorlarının immunoreaktivitelerinin yoğunlukları puanlanarak değerlendirildi.

4.1. Canlı Ağırlık Bulguları

Ratların canlı ağırlık bulguları grupların kendi içerisinde 0., 3., 7. ve 14. günler arasındaki değişimleri karşılaştırılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Diyabet grubu ratların canlı ağırlıklarında günlere göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalma olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Tablo 1. Gruplar ve günler arasındaki canlı ağırlık bulgularının karşılaştırılması ($p<0,05$). N: Hayvan sayısı					
a, b, c: Aynı satırda farklı harf taşıyanlar arasında istatistiki farklılık bulunmaktadır.					
Gruplar	N	0.Gün	3.Gün	7.Gün	14.Gün
Kontrol	8	330,4±32,4 ^a	340,3±31 ^a	337,1±33,8 ^a	325,1±57,9 ^a
Diyabet	8	287,9±44,8 ^a	270,2±47 ^a	253,2±46,4 ^b	214,8±24 ^c
Kantaron	8	326,2±55 ^a	344,7±50,8 ^a	324,4±58,7 ^a	335,6±63,4 ^a
Diyabet+Kantaron	8	327±41,1 ^a	265,5±50,1 ^b	221,8±65 ^c	290±19 ^b

4.2. Kan – Glikoz Bulguları

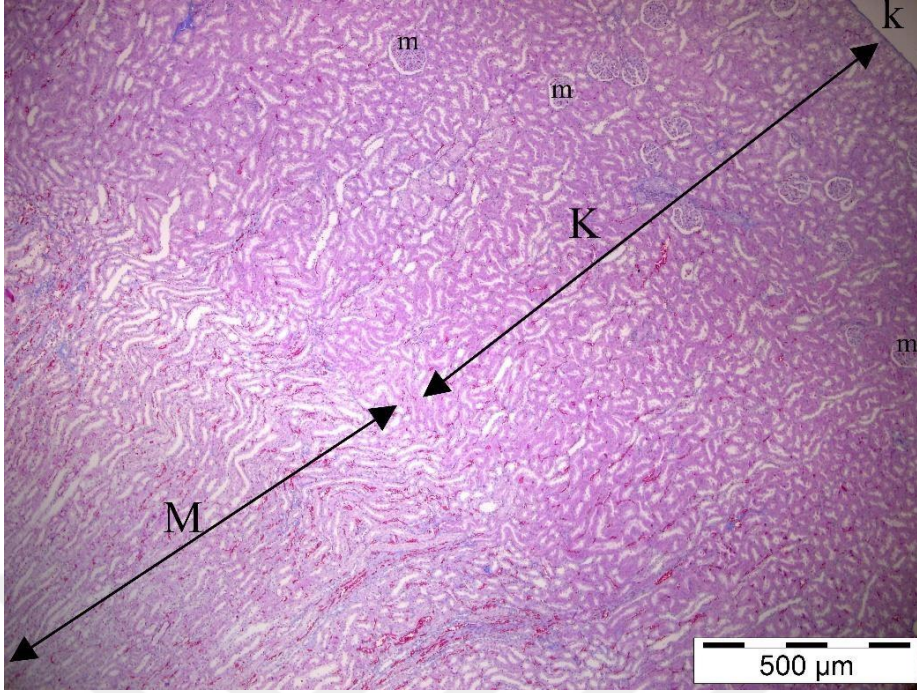
Ratların kan - glikoz bulguları grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında 0., 3., 7. ve 14. günlerdeki değişimleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Diyabet ve diyabet+kantaron grubu ratların kan - glikoz değerlerinde istatistiksel anlamda 3. günden itibaren anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p<0,05$).

Tablo 2. Gruplar ve günler arasındaki kan - glikoz bulgularının karşılaştırılması ($p<0,05$). N: Hayvan sayısı					
a, b, c: Aynı satırda farklı harf taşıyanlar arasında istatistiki farklılık bulunmaktadır.					
Gruplar	N	0.Gün	3.Gün	7.Gün	14.Gün
Kontrol	8	90,1±9,58 ^a	93±12,1 ^a	91,1±11,4 ^a	96,1±9,1 ^a
Diyabet	8	90±13,2 ^a	318±48 ^b	450,5±77,7 ^c	461,7±70,4 ^c
Kantaron	8	93,1±11,2 ^a	93,6±10 ^a	91,5±10,8 ^a	87,1±18,1 ^a
Diyabet+Kantaron	8	91,9±11,6 ^a	317,1±44,2 ^b	434,2±73 ^c	489,2±98,8 ^c

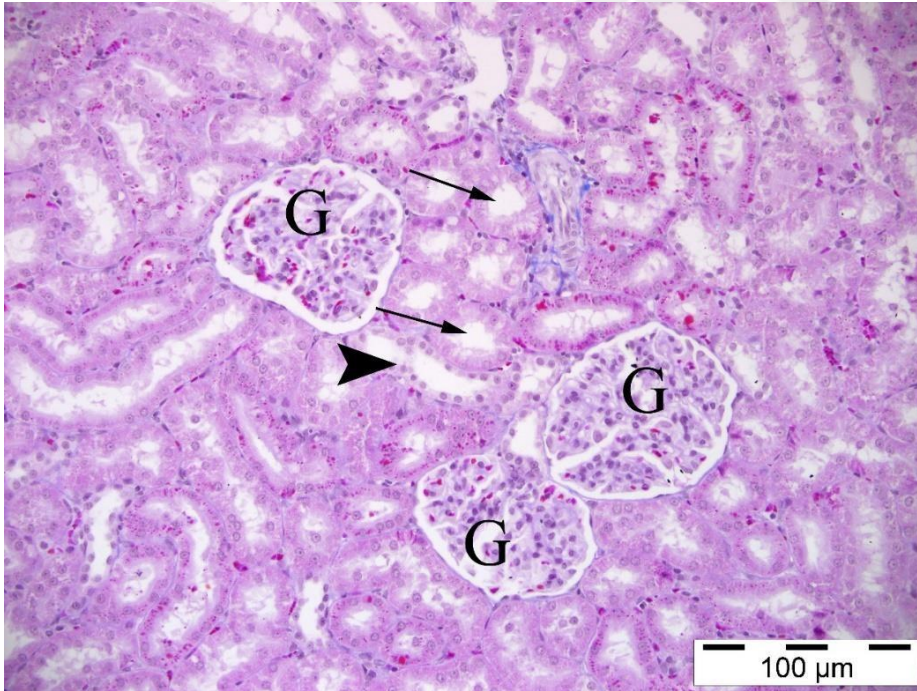
4.3. Histolojik Bulgular

Yapılan histolojik incelemelerde kontrol grubuna ait ratların böbrek yapılarında korteks ve medulla bölümlerindeki yapıların düzenli olduğu görüldü (**Resim 1**).

Medullada inen çıkan henle bölümleri, tubulus kollektivus ve duktus papillaris yapıları belirlendi. Korteks bölümünde bulunan Malpighi cisimcikleri, tubulus proksimalis, tubulus distalis yapıları belirlendi. Tubulus proksimalislerin kübik ve basık prizmatik epitel yapıda, tubulus distalislerin ise geniş lümenli ve yüksek prizmatik epitel yapıda olduğu belirlendi (**Resim 2**).

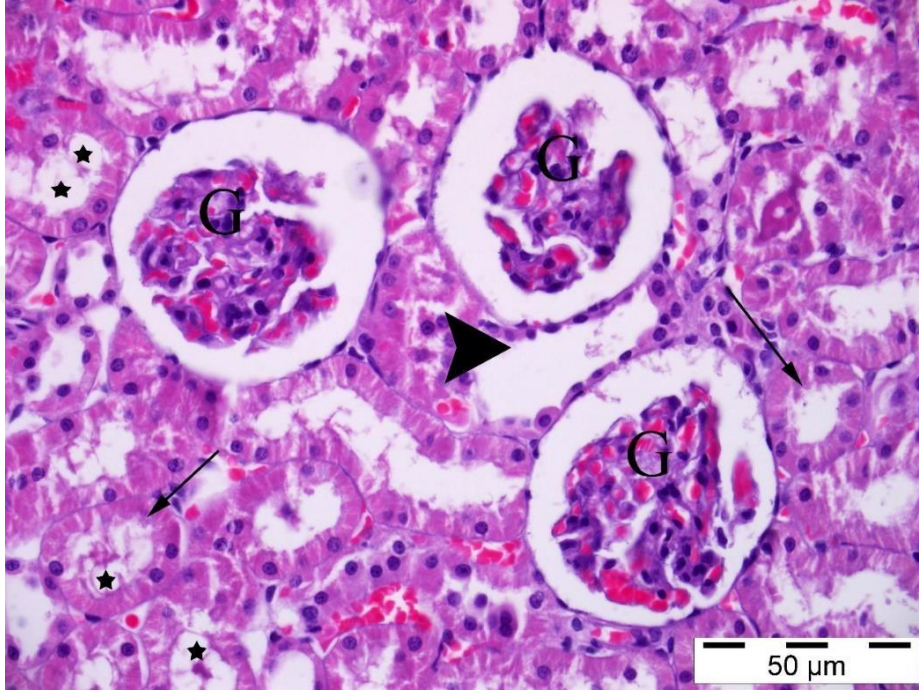


Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusu genel görünümü. **K:** Korteks, **M:** Medulla, **k:** Kapsül, **m:** Malpighi cisimciği (Glomerulus) (Triple) Bar: 500 µm

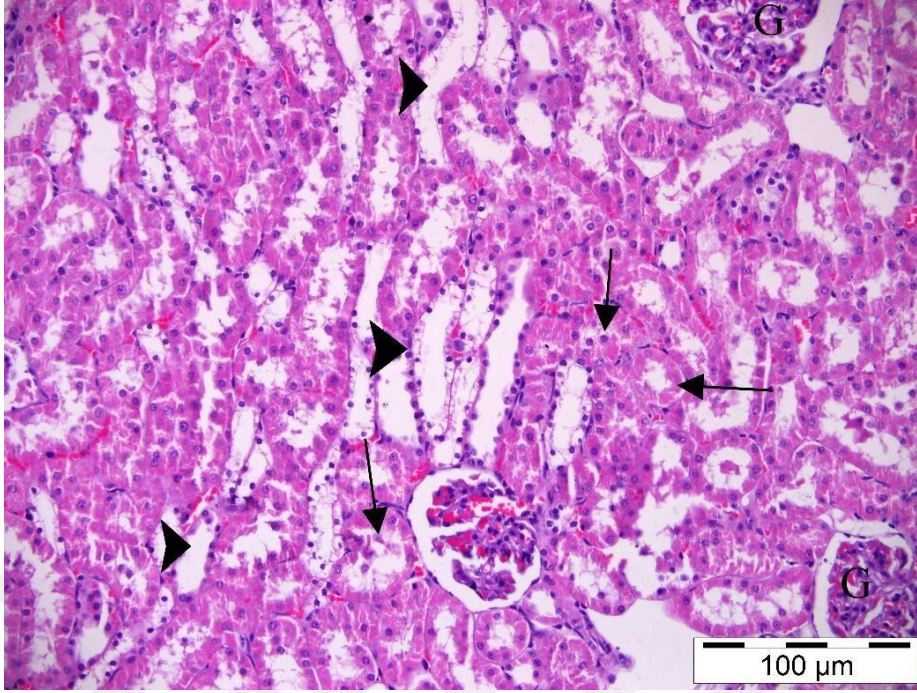


Resim 2. Kontrol grubu böbrek dokusu genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus (Triple) Bar: 100 µm

Diyabet grubuna ait ratların böbrek dokularında glomerulusların yapılarında dağılmalar, Bowman kapsülünde genişleme, tubulus distalislerin epitel hücre dizisinde dağınıklıklar, bazı hücrelerde büyümeler ve yer yer tubulusların epitel hücrelerinde dökülmeler olduğu belirlendi (**Resim 3,4**).



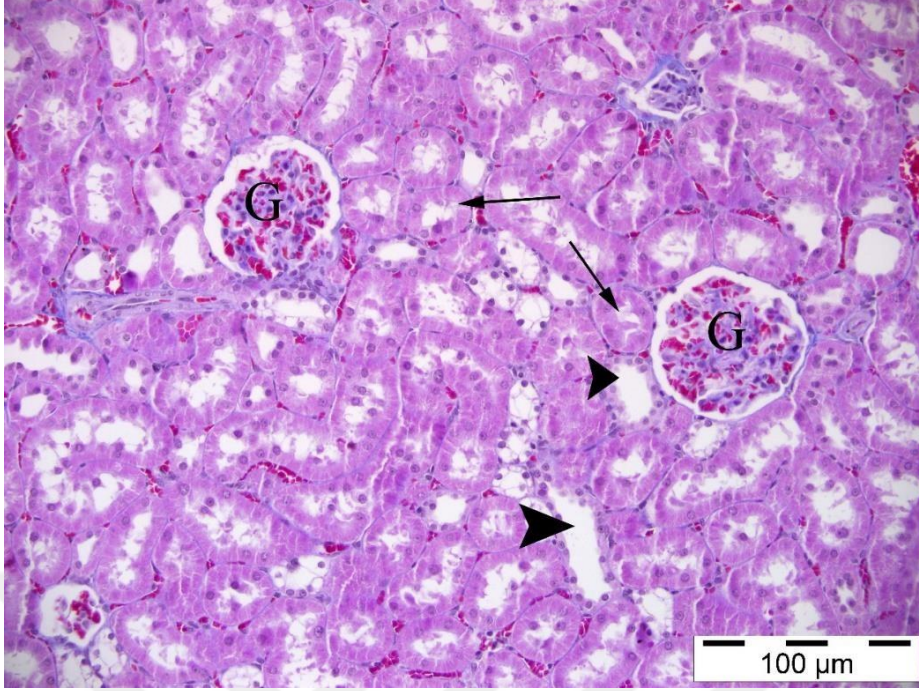
Resim 3. Diyabet grubu böbrek dokusu. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus **Yıldız:** Vakuoller (H&E) Bar: 50 µm



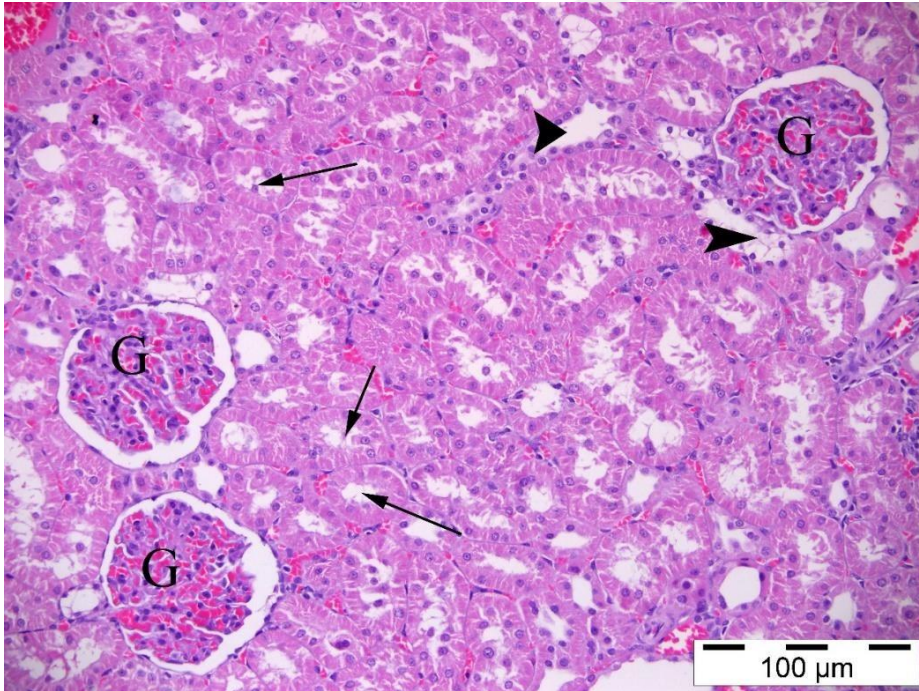
Resim 4. Diyabet grubu böbrek dokusu genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus, (H&E) Bar: 100 µm

Kantaron grubuna ait ratların böbrek dokularının kontrol grubundaki böbrek dokularıyla benzer oldukları belirlendi (**Resim 5**).

Kantaron uygulanan diyabet grubuna ait ratların böbrek dokularının diyabet grubundaki dokulara göre daha düzgün Malpighi yapılarına sahip oldukları ve tubuluslardaki hücrelerin daha düzenli oldukları belirlendi (**Resim 6**).



Resim 5. Kantaron grubu böbrek dokusu genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus (Triple Boyama) Bar: 100 µm

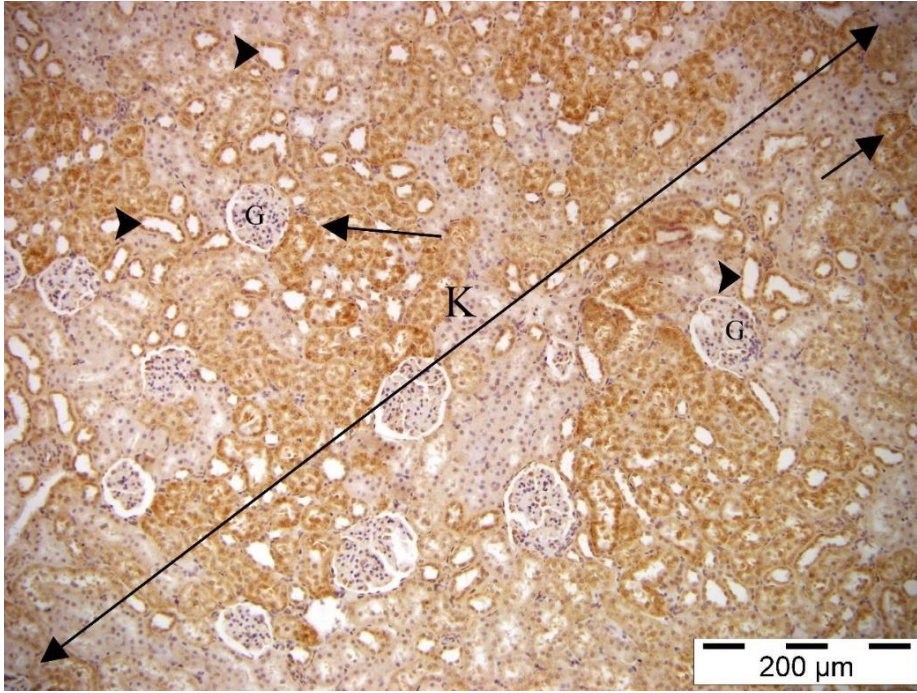


Resim 6. Kantaron+Diabetes grubu böbrek dokusu genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus (H&E Boyama) Bar: 100 µm

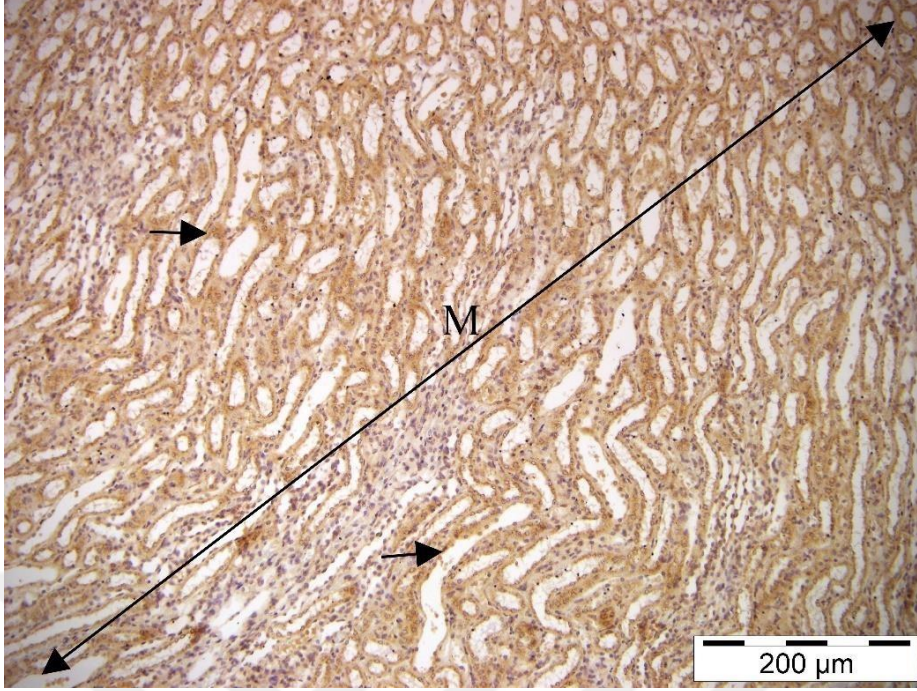
4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular

4.4.1. CAT

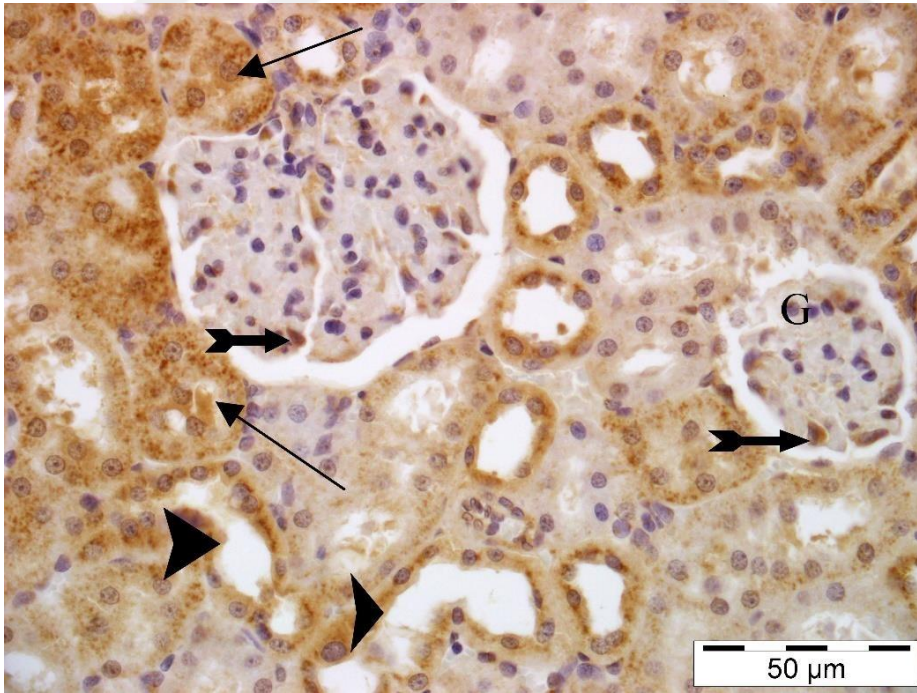
Tüm gruplara ait böbrek dokularında korteks ve medulla olarak CAT immunoreaktivitesi görüldü (**Resim 7,8,9,10,11**). Böbrek dokusunun korteksinde genellikle Malpighi cisimciği çevresinde bulunan tubulus distalis ve tubulus proksimalislerde yoğun bir immunoreaktiviteye rastlandı. CAT immunoreaktivitesinin tübüllerde bulunan hücrelerin bazılarında sadece sitoplazmik bazılarında ise hem sitoplazmik hem de nükleer immunoreaktivite gösterdiği belirlendi. Glomeruluslarda ise genel bir reaktivitenin olmadığı sadece tek tek hücrelerde genellikle sitoplazmik immunoreaktivitenin olduğu görüldü (**Resim 10,12**). Korteks ve medulla arasında bulunan çıkan henleler ve medullada genel bir CAT immunoreaktivitesine rastlandı (**Resim 11**).



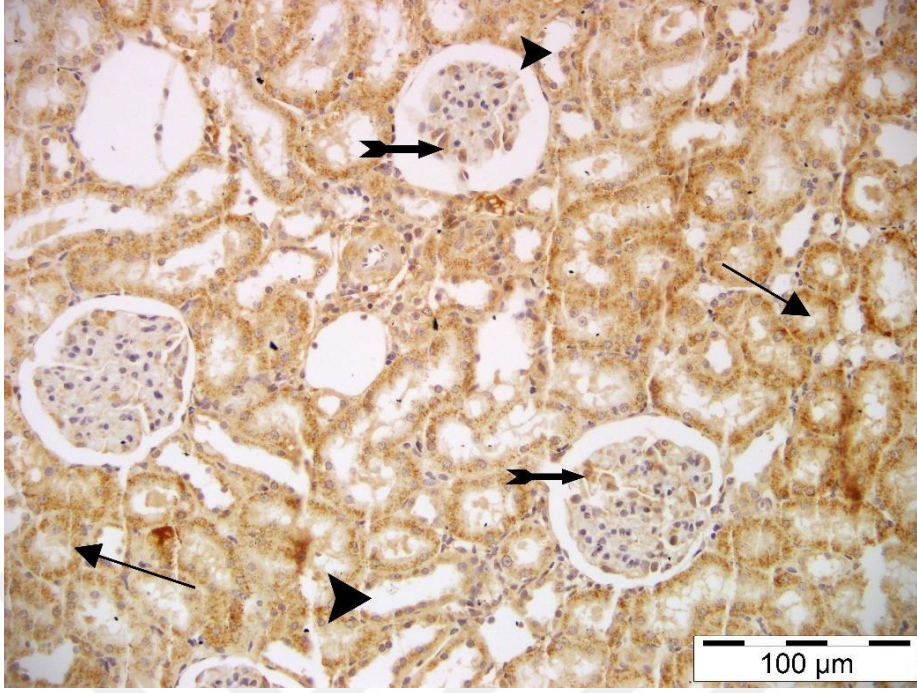
Resim 7. Kontrol grubu böbrek dokusu Korteks bölgesi CAT immunoreaktivitesi. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus, **K:** Korteks, Bar: 200 µm



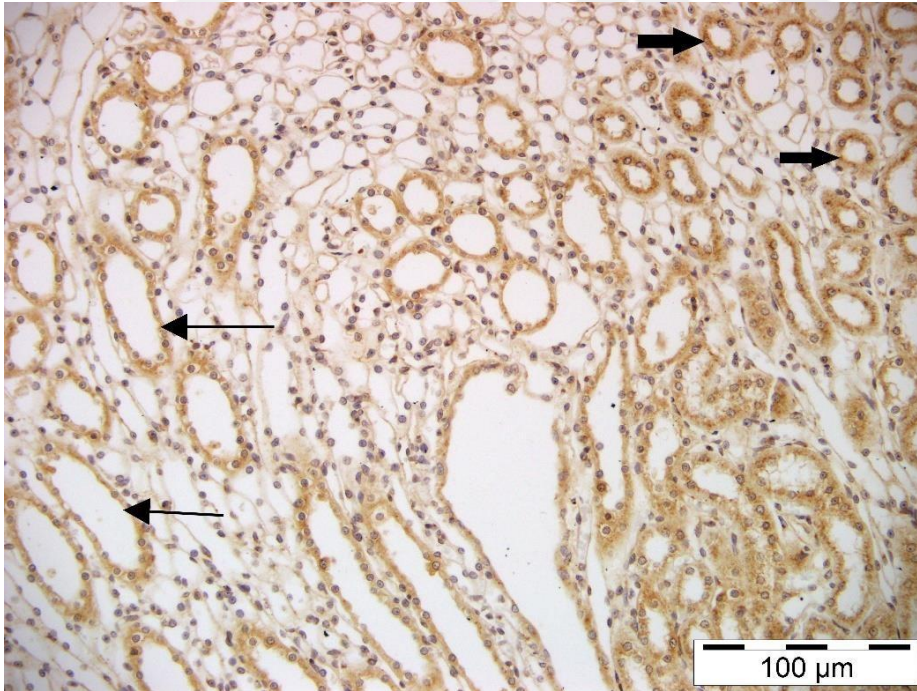
Resim 8. Kontrol grubu böbrek dokusu Medulla bölgesi CAT immunoreaktivitesi. **Oklar:** Toplayıcı kanallar, Bar: 200 µm



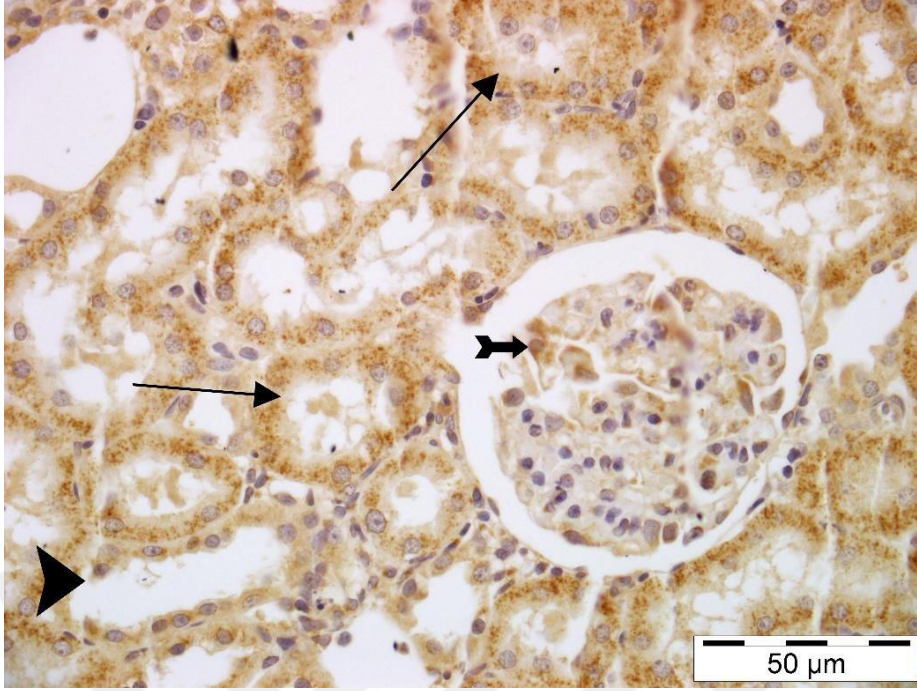
Resim 9. Kontrol grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus, **Kuyruklu ok:** glomerulus immunoreaktif hücreler, Bar: 50 µm



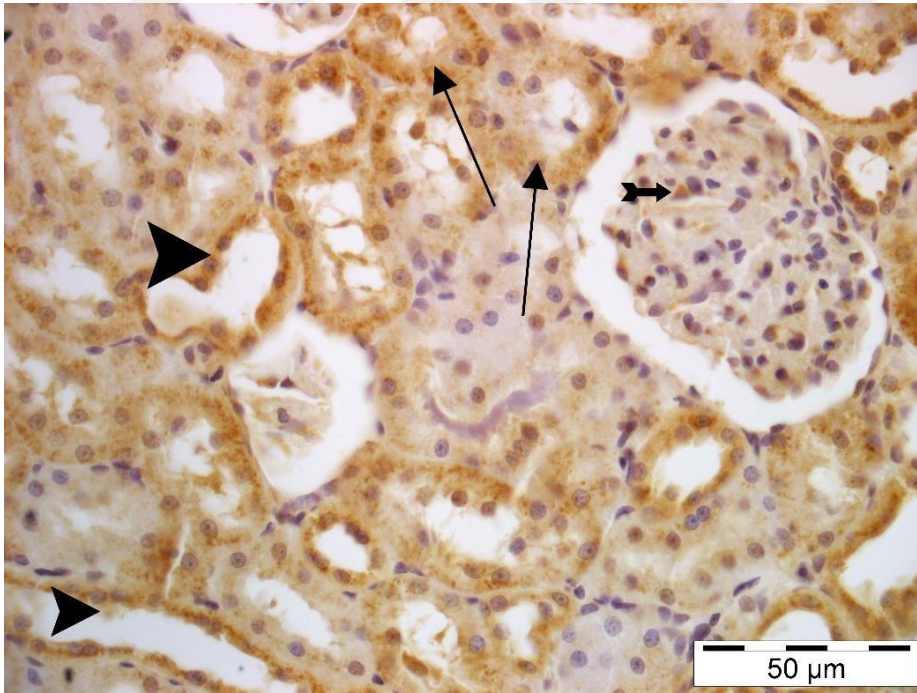
Resim 10. Diyabet grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **Kuyruklu ok:** Glomerulus immunoreaktif hücreler, Bar: 100 µm



Resim 11. Diyabet grubu böbrek dokusu Medulla bölgesi CAT immunoreaktivitesi genel görünümü. **İnce Oklar:** Tubulus kollektivus, **Kalın Oklar:** Çıkan henle, Bar: 100 µm

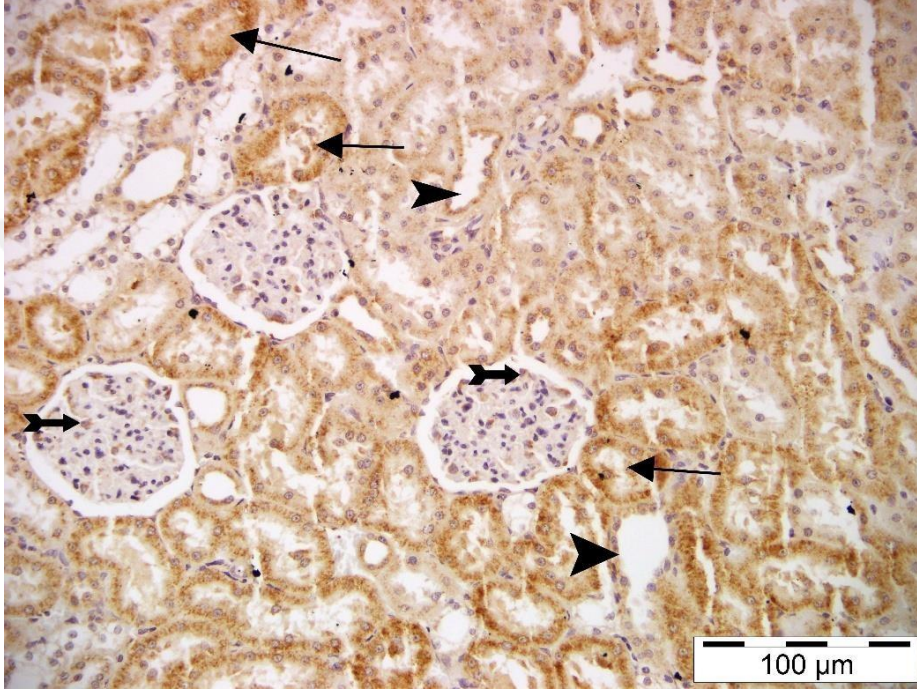


Resim 12. Diyabet grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **Kuyruklu ok:** Glomerulus immunoreaktif hücreler, Bar: 50 μm



Resim 13. Kantaron grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **Kuyruklu ok:** Glomerulus immunoreaktif hücreler, Bar: 50 μm

Gruplar arası CAT immunoreaktivitesi incelendiğinde en yoğun immunoreaktivitenin kontrol ve kantaron grubunda olduğu (**Resim 9, 13**), en düşük immunoreaktivitenin ise diyabet grubunda olduğu belirlendi (**Resim 10, 11**). Diyabet + kantaron grubunda ise kontrol grubuna daha yakın CAT immunoreaktivitesinin olduğu görüldü (**Resim 14**).



Resim 14. Kantaron+Diyabet grubu böbrek dokusu CAT immunoreaktivitesi genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **Kuyruklu ok:** Glomerulus immunoreaktif hücreler, Bar: 200 µm

Tablo 3. Gruplara ve böbreğin yapılarına göre CAT immunoreaktivite skorlama tablosu.

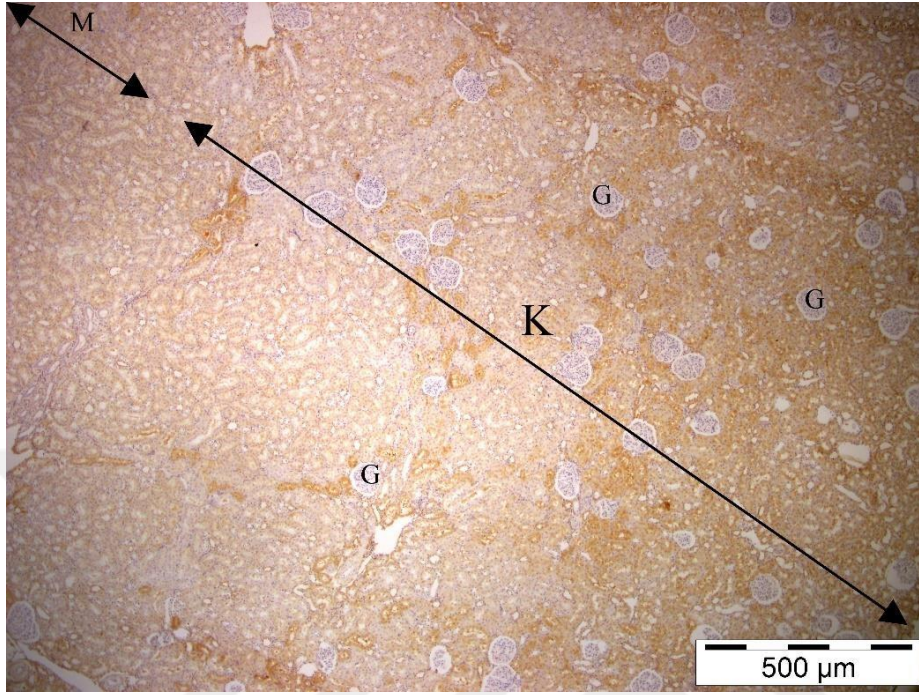
	Kontrol	Diyabet	Kantaron	Kantaron + Diyabet
Genel Reaktivite	+++	+	+++	++
Tubulus Proksimalis	+++	+	+++	+++
Tubulus Distalis	++	+	++	+++
Glomerulus	+	+	+	+
Bowman kapsülü	+	-	-	-
Çıkan henle	+++	++	+++	+++
İnen henle	+	-	+	+
Tubulus kollektivus	++	+	++	+

Tablo 3’deki skorlama sonuçlarına göre beklenildiği üzere diyabet grubunda CAT enzim seviyeleri düşmüştür. Kantaron + Diyabet grubunda diyabet grubuna göre daha yoğun reaktivitenin görülmesi kantaronun antioksidan olarak görev yaptığının ve oksidatif strese karşı katkıda bulunduğu yönündeki görüşümüzü desteklemektedir. Kontrol ve kantaron gruplarındaki yoğun reaktivite beklenen bir sonuçtur.

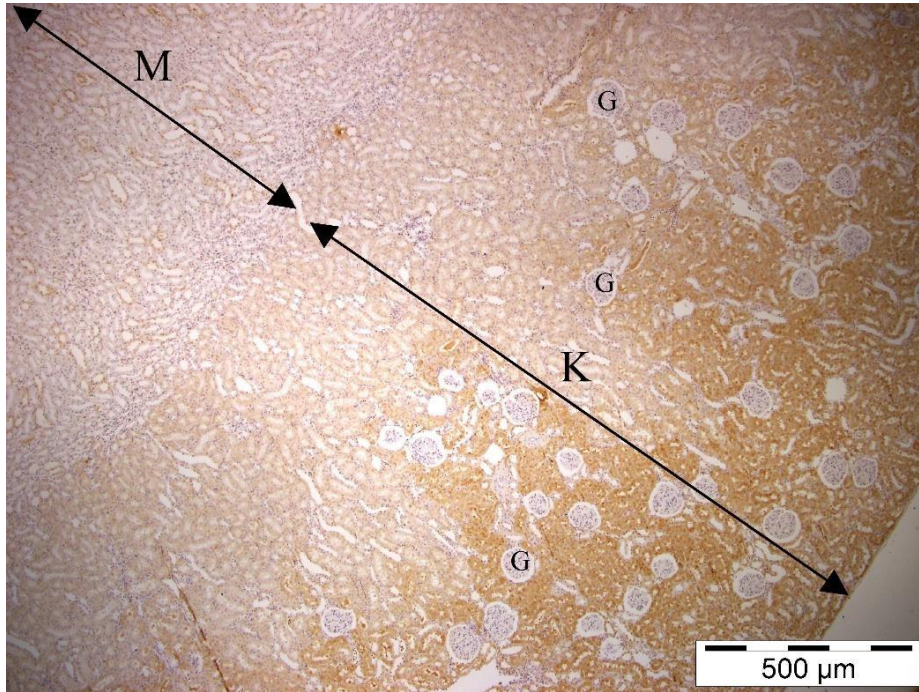
4.4.2. GPx-1

GPx-1 immunoreaktivitesinin böbrek dokusunda genel olarak korteks ve medulla bölgelerinde yoğun immunoreaktivite gösterdiği görüldü (**Resim 15**). Kortekste CAT immunoreaktivitesinin tersine Malpighi cisimciklerinin etrafında bulunan tubulus proksimalislerde yoğun, tubulus distalislerde ise zayıf GPx-1 immunoreaktivitesinin olduğu görüldü. Tubulus proksimalislerde görülen immunoreaktivite ise genel olarak hem sitoplazmik hem de nükleer olduğu gözlemlendi (**Resim 19**). Glomeruluslarda genel olarak GPx-1 immunoreaktivitesine rastlanmadı (**Resim 17,20**). Tubulus distalislerin bazılarında zayıf immunoreaktivite gözlenirken bazılarında ise özellikle kantaron grubunda yoğun immunoreaktivite görüldü (**Resim 21**). Kontrol grubunda GPx-1’in böbrek dokusunun genelinde (korteks ve medulla)

immunoreaktivite gösterdiği gözlenirken diyabet grubunda kortekste yoğun medullada zayıf immunoreaktivite gösterdiği belirlendi (**Resim 15,16**).

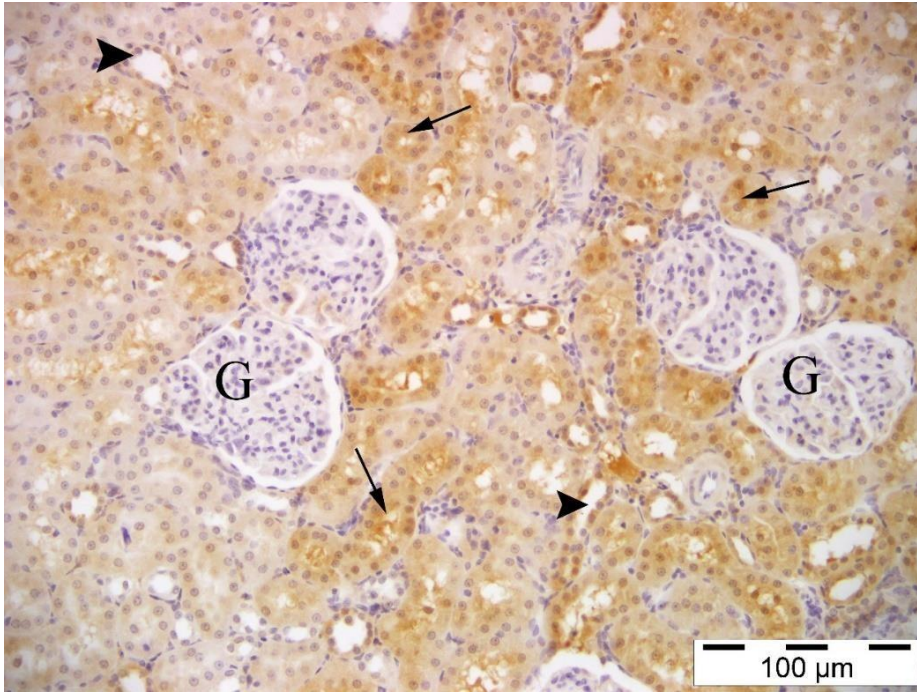


Resim 15. Kontrol grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi genel görünümü. **K:** Korteks, **M:** Medulla, **G:** Glomerulus, Bar: 500 μm

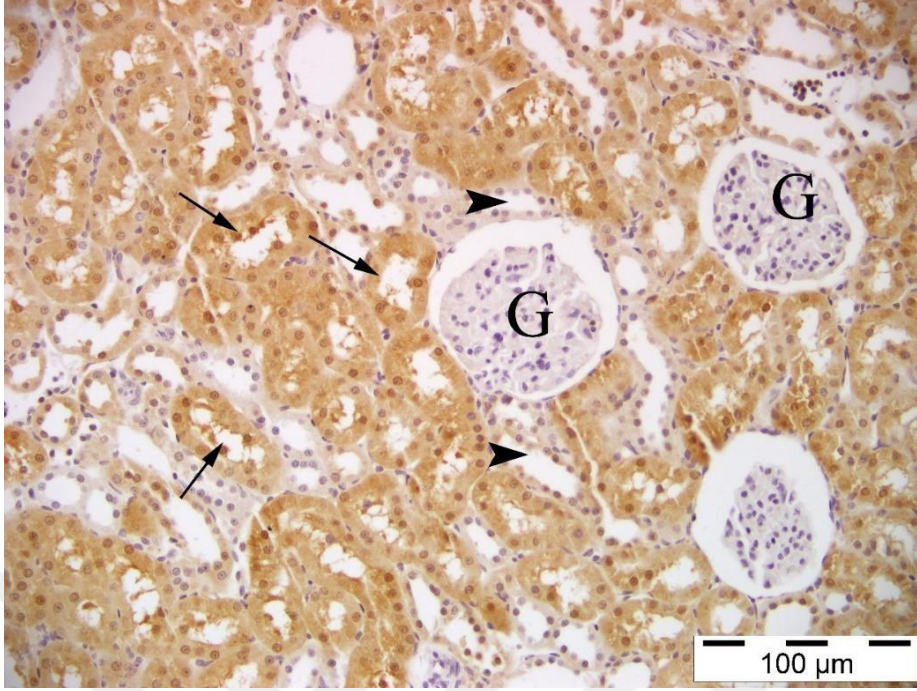


Resim 16. Diyabet grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi genel görünümü. **K:** Korteks, **M:** Medulla, **G:** Glomerulus, Bar: 500 μm

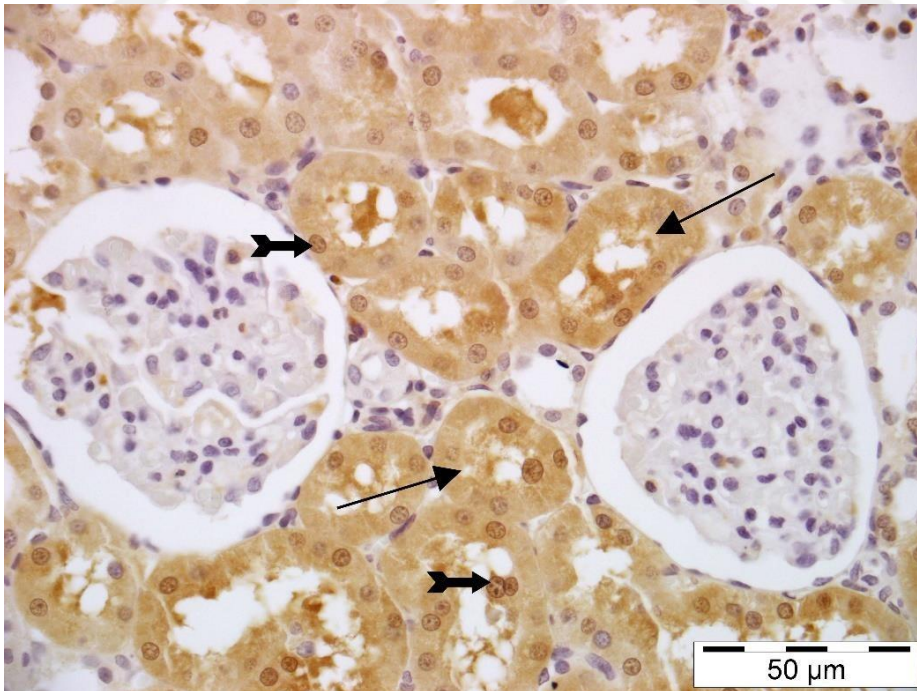
Gruplar arasında GPx-1 immunoreaktivitesi değerlendirildiğinde ise en yoğun immunoreaktivite diyabet grubunda (**Resim 16**), en zayıf immunoreaktivitenin ise Kantaron + Diyabet grubunda olduğu görüldü (**Resim 20**). Kontrol ve kantaron gruplarında immunoreaktivitenin birbirine benzer olduğu (**Resim 17 ve 21**), ancak özellikle kantaron grubunda tubulus distalislerde diğer gruplara oranla yoğun immunoreaktivitenin olduğu belirlendi (**Resim 21**).



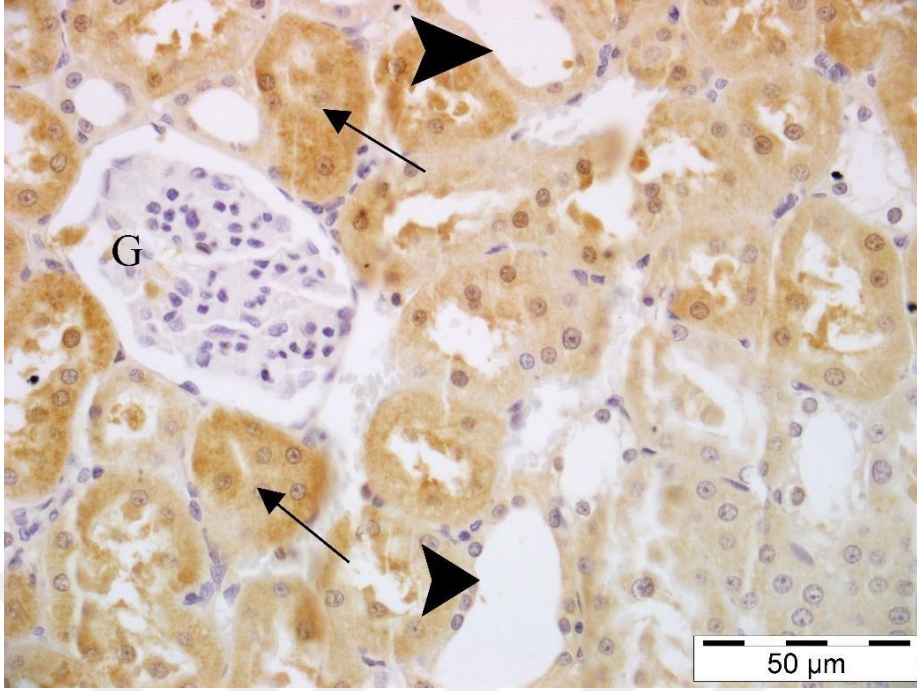
Resim 17. Kontrol grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus, Bar: 100 µm



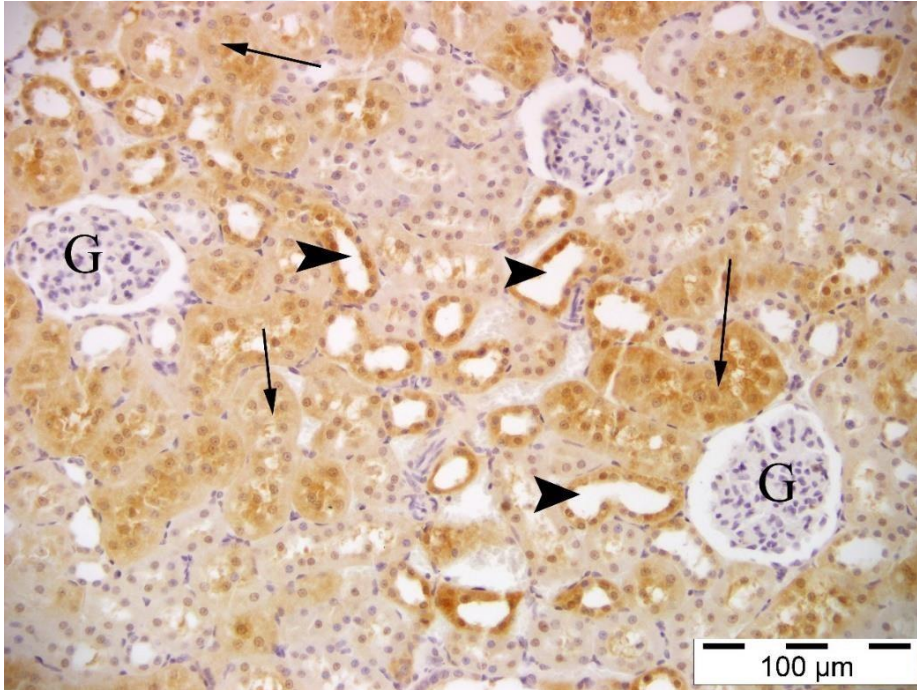
Resim 18. Diyabet grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus, Bar: 100 µm



Resim 19. Diyabet grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus, Bar: 50 µm



Resim 20. Kantaron+Diabetes grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus, Bar: 50 µm



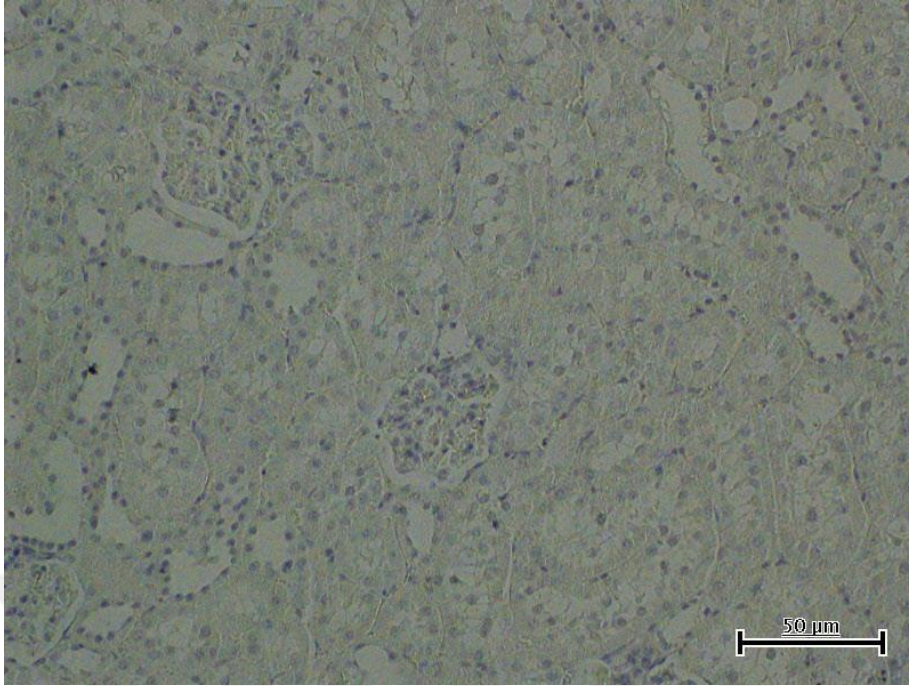
Resim 21. Kantaron grubu böbrek dokusu GPx-1 immunoreaktivitesi genel görünümü. **Oklar:** Tubulus proksimalis, **Ok başları:** Tubulus distalis, **G:** Glomerulus, Bar: 100 µm

Tablo 4. Gruplara ve böbreğin yapılarına göre GPx-1 immunoreaktivite skorlama tablosu.
*: Tubulus distalislerde en yoğun reaktivitenin görüldüğü grubu belirtmektedir.

	Kontrol	Diyabet	Kantaron	Kantaron + Diyabet
Genel Reaktivite	++	+++	++*	+
Tubulus Proksimalis	++	+++	++	++
Tubulus Distalis	++	++	+++	+
Glomerulus	-	-	-	-
Bowman kapsülü	-	-	-	-
Çıkan henle	+	+	++	+
İnen henle	+	-	+	+
Tubulus kollektivus	+	+	+	+

Tablo 4'teki skorlama sonuçlarına göre diyabet grubundaki reaktivite yoğunluğu diğer gruplara göre daha fazladır. Bunlara ek olarak kantaron + diyabet grubundaki reaktivitenin en çok azalan grup olarak görülmesi kantaronun antioksidan özelliğinde CAT antioksidanı ile birlikte işlev gördüğü konusunda bir görüşü akla getirmektedir.

Gruplar arasında hem CAT hem de GPx-1 immunoreaktivitesi birlikte göz önüne alındığında ortamdaki SR yoğunluğunun fazlalığından kaynaklı CAT oksidatif stresin dengelenmesinde kantaron ile birlikte işlev gördüğü düşünülmektedir.



Resim 22. Negatif kontrol. Bar: 50 µm

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmamızda streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan ve gavaj yoluyla *Hypericum perforatum* (sarı kantaron) uygulanan sıçanlarda canlı ağırlık ve kan – glikoz değerlerindeki değişiklikler incelenmiştir. Bunlarla birlikte böbrek dokusundaki histolojik değişiklikler, katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz – 1 (GPx-1) enzimlerinin böbrek dokusundaki immunohistokimyasal lokalizasyonları incelenmiştir.

Çalışmamızda Wistar albino ırkı ratlar kullanıldı ve yapılmış çalışmalara (Aktaş ve ark. 2011, Roy ve ark. 2013) paralel olarak 50 mg/kg dozunda STZ intraperitoneal (ip) uygulanarak deneysel diyabet oluşturuldu. Kan glikoz değerleri 250 mg/dL'nin üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi (Kanitkar ve Bhonde 2004). Ratlardaki deneysel diyabet oluşturulduktan sonra, sadece kantaron uygulaması yapılacak olan ve diyabetli kantaron uygulaması yapılacak olan gruplardaki ratların günlük vücut ağırlıkları tartıldıktan sonra kantaron yağı 300 µl oral gavaj olarak 2 haftalık deney süresince verildi.

Canlı Ağırlık Bulgularının Değerlendirmesi

Diyabetin canlı ağırlık üzerindeki etkilerinin belirtildiği birçok çalışma bulunmaktadır. Bingöl ve Kocamış (2010), Deprem ve Gülmez (2014), Aydoğan ve Bingöl (2018) diyabetin canlı ağırlıkta azalmalara neden olduğunu bildirmişler ve yaptığımız çalışmada da bu belirtilen çalışmalara benzer şekilde STZ ile deneysel diyabetin canlı ağırlıkta istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmalara neden olduğu görüldü. Kantaron uygulanan diyabet grubunda ise 7. günde diyabet grubuna göre canlı ağırlığın daha düşük olduğu görüldü. Ancak 14. günde diyabet grubunda canlı ağırlığın azalmaya devam ettiği, kantaron uygulanan diyabet grubunda ise canlı ağırlığın belirgin şekilde arttığı görüldü. Bu durumun 14. günde sadece kantaron uygulanan gruptaki canlı ağırlıkların istatistiksel anlamlılık belirtmese de kontrol grubuna nazaran artma eğilimi göstermiş olması ile açıklanabilecektir. Kantaron uygulamasının 14. günden itibaren canlı ağırlığı arttırdığına dair kesin bilginin elde edilmesi için uygulama gün süresinin uzatılarak başka çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Histolojik Bulguların Değerlendirmesi

Diyabet dokularda çeşitli nedenlerle birçok bozukluklara neden olabilmektedir. Yılmaz ve ark. (2020)'ı, yüksek şekerin dokulardaki serbest oksijen radikallerinin üretimini artırarak oksidatif stres kaynaklı hasara neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu hasarın oksidatif stresin artmasından kaynaklanabileceği gibi katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azalmasından da kaynaklanabileceği belirtmişlerdir. Ayrıca Vincent ve ark. (2004)'ı yüksek şekerin tetiklediği serbest radikal oluşumunun diyabet kaynaklı sorunların görülmesinde önemli bir etken olduğu ve Zhang ve ark. (1997)'ı diyabetik böbreklerde artan oksidatif stresin apoptozu tetiklediği belirtilmiştir.

Sözuer (2018)'in yaptığı çalışmada, diyabetli sıçan böbreklerinde glomeruluslarda kalınlaşmaların, mezengial matrikste artışın, kollabe lumenli glomerüler kapillerler ile birlikte glomerüler genişlemenin aracılık ettiği Bowman mesafesinde daralmaların görüldüğünü ve buna ek olarak en belirgin histolojik değişikliğin ise mesangiyumdaki genişlemeler olduğunu belirtmişlerdir.

Doğan ve ark. (2011)'ı, diyabetli sıçan böbreklerinde kortekste peritübüler fibroz, glomerüler skleroz ve mesangiyal matrikste artışa ek olarak glomerulus Bowman mesafesinin daraldığı, mezangiyal matriksin arttığı ve tübüler dilatasyon görüldüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca, tübül epitellerinde ayrışma ve bozulmaların, tübül bazal membranlarında kalınlaşmaların dikkat çektiğini belirtmişlerdir.

Uyar ve ark. (2017)'ı yaptıkları çalışmada diyabetik ratlarda böbrek dokusunda özellikle glomerüler mezengiyal hücrelerinde ve tübül epitel hücrelerinde dejenerasyonlar ve nekrozlar şeklinde görüldüğünü, Bowman kapsülünde genişleme , bazal membranlarda adezyon geliştiğini belirtmişlerdir.

Diyabetes mellitus'ta histopatolojik değişiklikler böbrek dokusunun bütün kısımlarını kapsamakla birlikte, en karakteristik değişimlerin Malpighi cisimciklerinde gözlendiği saptanmıştır (Osterby ve ark. 1999). Bizim çalışmamızda da birçok araştırmalar (Ketani ve ark. 2015, Öztürk ve ark. 2015, Sanai ve ark. 2000) ile paralel şekilde STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş grupların dokularında glomerulus yapılarında dağılmalar, Bowman kapsülünde genişleme, glomeruluslarda mezengiyal hücre kaybı, tubulus distalislerin epitel hücre dizisinde dağınıklıklar, bazı hücrelerde

büyümler ve yer yer tubulus hücrelerinde dökülmeler olduğu belirlendi. Kantaron uygulaması yapılan diyabetli grupta diyabetli gruba nazaran Malpighi cisimciklerinin ve tübül epitellerinin daha düzenli olduğu görülmüştür. Bu durum sadece kantaron uygulanan grup ile kontrol grubu arasında belirgin bir fark görülmemiştir.

Çakır ve ark. (2017) yaptıkları bir çalışmada *Hypericum perforatum* (Sarı kantaron) bitkisinin içerdiği hiperforin, flavonoidler ve flavonoid türevleri, ksanton türevleri ve biapigenin sayesinde serbest radikal süpürme, lipid peroksidasyonunun inhibe edilmesi, sinyal dönüştürücülerin aktive edilmesi ve antioksidan özellikleri göstermesi ile oksidatif stresin azaltılarak oksidatif stres kaynaklı hasarın azaltıldığını bildirmişlerdir.

Bayramoğlu ve ark. (2014)'ı sarı kantaron üzerine yaptıkları bir çalışmada benzer şekilde sarı kantaronun antioksidan özellik göstererek dokuyu oksidatif stres kaynaklı hasardan koruduğunu belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada diyabet grubu ile kantaron yağı uygulanan diyabetli grup arasında kan-glikoz düzeylerinde önemli bir farklılık olmadığı görüldü. Bu durumun deney süresinin uzatılarak incelenebileceğini düşünmekteyiz. Kantaron yağı uygulamasının diyabetli rat böbrek dokusunun histolojisine bakıldığında ise diyabet grubunda oluşan değişimlerin kantaron uygulanan diyabetli grupta azalmış olduğu belirlendi. Kantaron yağı uygulanan diyabet grubunda kontrol grubuna daha yakın sonuçlar olduğu görüldü.

İmmunohistokimyasal Sonuçların Değerlendirmesi

Canlılarda değişik nedenlerden dolayı meydana gelen oksidatif stres sebebiyle oluşan serbest radikallerin zararlı etkileri antioksidan enzimler (CAT, SOD, GPx) sayesinde azalmakta ya da önlenmektedir. Diyabette en önemli etken glikozun metabolize edilememesinden dolayı kanda birikmesiyle birlikte enerji üretiminde lipitlerin kullanılması sonucu zararlı serbest radikallerin artması durumudur. DM oluşması sonucunda glikozun oto-oksidasyonu artmakta ve okside olan glikoz, glikoz asitlerine dönüştükten sonra serbest radikallerin şekillenmesine neden olmaktadır (Giugliano ve ark. 1995, Cho ve ark. 2002, Alam ve ark. 2014).

SOD, CAT ve GPx gibi hücrenin serbest radikallerden ve toksik etkilerinden koruyan enzimlerin diyabetes mellitusta azaldığını, arttığını ya da bu enzimlerin seviyelerinde değişiklik olmadığını belirten çalışmalar bulunmaktadır (Murakami ve

ark. 1989, Jos ve ark. 1990, Collier ve ark. 1990, Jain ve Mc Vie 1994, Steiner 1999, Rahbani-Nobar ve ark. 1999, Bonnefont ve ark. 2000, Gumieniczek 2005, Sözman ve ark. 2001, Atalay ve Laaksonen 2002, Seghrouchi ve ark. 2002, Komosinska-Vassev ve ark. 2005, Colak ve ark. 2005, Kaviarasan ve ark. 2005).

Kim ve ark. (2009)'ı antioksidan yolun ilk adımı olan süperoksitin hidrojen peroksite süperoksit dismutaz tarafından dönüştürülmesi sonrasında katalaz ve/veya glutasyon peroksidaz antioksidan yolunun ikinci adımı olan hidrojen peroksite suya dönüştürerek serbest oksijen radikallerinin temizleyen bir antioksidan olduğu belirtmiştir.

Memişoğulları (2005) ise düşük yoğunluklardaki hidrojen peroksiti glutasyon peroksidazın parçaladığını, yüksek yoğunluklardaki hidrojen peroksidazı ise katalazın parçaladığını belirtmiştir. Ayrıca artmış katalaz seviyelerinin artmış lipid peroksidasyonunu azaltmak için gerçekleşmiş olabileceğini belirtmiştir. Yine aynı çalışmada diyabet durumunda glutasyon peroksidazın azalmış olduğunu belirten çalışmalardan bahsetmiştir.

Bingöl ve Kocamış (2010)'nın diyabetik rat böbreklerinde yaptıkları çalışmalarında katalazın lokalizasyonunun immunohistokimyasal olarak azaldığı belirtilmiştir.

DM'ta antioksidan enzim aktivitelerinin düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda GPx düzeyinin azaldığını belirten araştırmalar (Abdelmoaty ve ark. 2010, Kanter ve ark. 2012, Liang ve ark. 2011), değişmediğini (Gumieniczek 2005) belirten araştırmalar bulunurken, GPx seviyesinin arttığını gösteren çalışmalarda (Durmuş ve ark. 2008, Edremitlioğlu ve ark. 2012, Jang ve ark. 2000) bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda ise immunohistokimyasal olarak glutasyon peroksidaz ile kantaron değerlendirildiğinde en yoğun reaktivite diyabet grubunda görülmüştür. Bu yoğunluğu kontrol ve kantaron grubu takip ederken en az yoğunluğun kantaron uygulanan diyabetli grupta olduğu görülmüştür.

Muse ve ark. (1994) GPx-1'in diyabetli böbrek dokusunda immunohistokimyasal lokalizasyonunu inceledikleri çalışmalarında glomerulus, proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde, böbrek arterlerinin düz kas hücrelerinde immunoreaktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Yaman ve ark. (2017)'ı yaptıkları

çalışmada ise diyabetli ratlarda GPx-1 enziminin böbrek dokusunda immunohistokimyasal olarak proksimal ve distal tübül epitellerinin birçoğunda sitoplazmik ve nükleer olarak, daha az hücrelerde ise sadece sitoplazmik olarak, tubulus kollektivusların bir kısmında immunoreaktivite olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada glomerulus ve Bowman kapsülü hücrelerinde herhangi bir immunoreaktivite olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Yaman ve ark. (2017)'nin yaptıkları çalışmaya benzer şekilde GPx-1 immunoreaktivitesinin çoğunlukla sitoplazmik ve nükleer şekilde, daha az hücrelerde sadece sitoplazmik olarak proksimal ve distal epitel hücrelerinde, çıkan henle epitel hücrelerinde ve medullada tubulus kollektivusların bazılarında immunoreaktivite olduğu görüldü. Glomerulus ve Bowman kapsülü hücrelerinde ise GPx-1 immunoreaktivitesine rastlanmadı. Ayrıca Yaman ve ark. (2017)' araştırmasında GPx-1 immunoreaktivitesinin en yoğun kontrol grubunda, en düşük diyabetli grupta olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise GPx-1 immunoreaktivitesinin en yoğun diyabetli grupta olduğu belirlendi.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda GPx enzim aktivitesinde Memişoğulları (2005), Kamalakkannan ve Prince (2006), Bagri ve ark. (2009), Abdelmoaty ve ark. (2010), Liang ve ark. (2011) gibi yapılan araştırmaların aksine çalışmamızda Guigliano ve ark. (1995), Ulusu ve ark. (2003), Kök (2011), Rauscher ve ark. (2011)'in yaptıkları araştırmalar ile paralel olarak GPx seviyesinde immunohistokimyasal lokalizasyon açısından diyabetli grupta kontrol grubuna göre bir artış olduğu gözlemlendi. Bu artışın diyabet oluşumu sonrası serbest radikallerin artması sonucunda SOD ve GPx gibi antioksidan enzimlerin savunma amaçlı artış gösterdiği düşünülmektedir. Kantaron uygulanan diyabetli ratların böbrek dokusunda ise GPx-1 enziminin immunoreaktivitesinin kontrol grubu ile benzer olduğu görüldü.

Yapılan birçok araştırmada CAT antioksidan enzim seviyesinin diyabetli ratlarda düştüğü görülmektedir (Ulus ve ark. 2003, Beshay ve Carrier 2004, Liang ve ark. 2011, Adeghate ve ark. 2021).

Adeghate ve ark. (2021)'i çalışmalarında CAT enzimin böbrek dokusunda proksimal ve distal tübüllerde, toplayıcı kanallarda immunoreaktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca CAT enziminin diyabet grubunda kontrol grubuna kıyasla daha

düşük immunoreaktivite görüldüğünü bildirmişlerdir. Yaptığımız araştırmada CAT immunoreaktivitesinin özellikle böbrek dokusunun korteksinde medulladan daha yoğun reaksiyon gösterdiği, kortekste proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinde, glomerulus mezengiyal hücrelerinde ve bazal membran hücrelerinde olduğu görüldü. medullada ise tubulus kollektivusların birkaçında ve çıkan henlelerde immunoreaktivite belirlendi. En yoğun immunoreaktivitenin kontrol grubunda olduğu, CAT immunoreaktivitesinin diyabetli rat böbrek dokusunda azaldığı belirlendi.

İmmünohistokimyasal olarak katalaz ile kantaron değerlendirildiğinde ise en yoğun reaktivitenin kontrol ve kantaron grubunda olduğu bu yoğunluğu kantaron uygulanan diyabet grubu takip ederken en az yoğunluğun diyabet grubunda olduğu görülmüştür. Bingöl ve Kocamış (2010)'nın belirttiklerine benzer şekilde diyabet grubunda katalazın azaldığı görüldü.

Ancak katalaz ve glutasyon peroksidaz birlikte incelendiğinde başlangıçta kantaron ile antioksidan sistemlerin sayısının artırılarak, yoğun serbest oksijen radikalleri durumunda aktif hale gelen katalazın glutasyon peroksidaza ihtiyaç duymadan antioksidan desteğini kantarondan sağladığı düşünülmektedir. Diyabet grubu ve kantaron uygulanan diyabet grubunda reaktivitenin diğer gruplara göre daha az olması böbrek dokusunda oksidatif stresin varlığını ortaya koymaktadır. Ancak kantaron uygulanan diyabet grubunda reaktivitenin genel olarak en düşük seviyede olması ve katalaz reaktivitesinin glutasyon peroksidaza göre daha düşük olması yoğun serbest oksijen radikalleri varlığını akla getirmiştir.

Sonuç olarak, histolojik değerlendirilmeler göz önüne alındığında diyabetin böbrek dokusunda hasarlara neden olduğu görülmektedir. Bu hasarın kaynağı olarak serbest oksijen radikallerinin miktarlarının artması ile oksidatif stres görülmektedir. Kantaron uygulamasının yoğun oksidatif stres durumunda antioksidan sistemlere katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Oksidatif stres, oksidan ve antioksidan durumlarında dahil edilerek daha kapsamlı ve uzun süreli çalışmalarla birlikte kantaron uygulamasının diyabet tedavilerinde başta böbrek olmak üzere birçok doku hasarının azaltılmasında umut vaat edici olabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKÇA

Abdelmoaty MA, Ibrahim MA, Ahmed NS, Abdelaziz MA: Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effect of quercetin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 25 (2), 188-92, 2010.

Adeghate E, D'Souza CM, Saeed Z, Al Jaber S, Tariq S, Kalász H, Tekes K, Adeghate EA: Nociceptin Increases Antioxidant Expression in the Kidney, Liver and Brain of Diabetic Rats. *Biology*; 10(7):621, 2021.

Akkuş İ: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları. Sağlık Dizisi. Konya, 1995.

Alfadhli EM: Gestational Diabetes Mellitus. *Saudi Medical Journal*, 36(4): 399-406, 2015.

Aktaş C, Kanter M, Erboğa M, Timurkan H: Effects of experimental diabetes on testis proliferations and apoptosis in rats. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 28(3): 94-98, 2011.

Alam M, Meerza D, Naseem I: Protective effect of quercetin on hyperglycemia, oxidative stress and DNA damage in alloxan induced type 2 diabetic mice. *Life Science*, 109 (1), 8-14, 2014.

Almind K, Doria A, Kahn CR: Putting the genes for type II diabetes on the map. *Nat Med*; 7: 277-279, 2001.

Altan A, Aras M, Damlar İ, Gökçe H, Özcan O, Alpaslan C: The effect of *Hypericum Perforatum* on wound healing of oral mucosa in diabetic rats. *European Oral Research*, 52 (3), 143-149, 2018.

Altan N, Dinçel AS, Koca C: Diyabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Turk J Biochem*, 31: 41-45, 2006.

American Diabetes Association: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 36 (Supplement 1): s. 67-74, 2013.

American Diabetes Association: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 38(Suppl 1): 8-16, 2015.

Arokiyaraj S, Balamurugan R, Augustian P: Antihyperglycemic effect of *Hypericum perforatum* ethyl acetate extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Biomed*; 1: 386-90, 2011.

Atalay M, DE Laaksonen: Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *J Sports Sci & Med*. 1: 1-14, 2002.

Attia AA: Histological and Electron Microscopic Studies of the Effect of β -Carotene on the Pancreas of Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetic Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(4): 301-314, 2009.

Askwith T, Zeng W, Eggo MC, Stevens MJ: Oxidative stress and dysregulation of the taurine transporter in high glucose exposed human Schwann cells: implications for pathogenesis of diabetic neuropathy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297: E620–E628, 2009.

Aydoğan A, Bingöl S.A: Examination of the immunohistochemical localization and gene expression by RT-PCR of the oxytocin receptor in diabetic and non-diabetic mouse testes. *Iranian Journal Of Basic Medical Sciences*. 21(7):695, 2018.

Bagri P, Ali M, Aeri V, Bhowmik M, Sultana S: Antidiabetic effect of *punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 50–4, 2009.

Başkal N: Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması. İçinde: Erdoğan G (Ed): Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik, 2.baskı, Medikal Network Nobel Kitabevi, Ankara, 342-348, 2005.

Bayır S: Streptozotocin ile Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanlarda Beta Glukanın Antioksidan ve İmmunoprotektif Etkisi. Trakya Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Edirne, 2014.

Baynes JW: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Review. *Diabetes*. 40: 405-12, 1991.

Bayramoglu G, Bayramoglu A, Engur S, Senturk H, Ozturk N, Colak S: The hepatoprotective effects of *Hypericum perforatum* L. on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Cytotechnology*. 66(3):443-8, 2014.

Beppu H, Koike T, Shimpo K, Chihara T, Hoshino M, Ida C, Kuzuya H: Radical-scavenging effects of *Aloe arborescens* Miller on prevention of pancreatic islet B-cell destruction in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 89: 37-45, 2003.

Beshay E, Carrier S: Oxidative stress plays a role in diabetes-induced bladder dysfunction in a rat model, *Urology* 64: 1062-1067, 2004.

Bingöl SA, Kocamış H: Sağlıklı ve Diyabet Oluşturulmuş Farelerin Böbrek Dokusunda Katalaz Enziminin RT-PCR ile Gen ve İmmunohistokimyasal Olarak Protein Ekspresyonu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(5): 825-834, 2010.

Bonnefont Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J: Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes and Metabolism*, 26: 163-176, 2000.

Can ÖD, Öztürk Y, Öztürk N, Sagratini G, Ricciutelli M, Vittori S, Maggi F: Effects of treatment with St. John's Wort on blood glucose levels and pain perception of streptozotocin-diabetic rats. *Fitoterapia*; 82: 576-84, 2011.

Castro FC, Magre A, Cherpinski R, Zelante PM, Neves LM, Esquisatto MA, Mendonça FA, Santos GM: Effects of microcurrent application alone or in combination with topical *Hypericum perforatum* L. and *Arnica montana* L. on surgically induced wound healing in Wistar rats. *Homeopathy*; 101: 147-53, 2012.

Cho SY, Park JY, Park EM: Alteration of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clinica Chimica Acta*, 317, 109–17, 2002.

Collier A, Wilson R, Bradley H, Thomson JA, Small M: Free radical activity in type 2 diabetes. *Diabet Med*. Jan;7(1): 27-30, 1990.

Çakır M, Düzova H, Baysal I, Gül CC, Kuşçu G, Kutluk F, Çakın H, Şeker Ş, İlbeği E, Uslu S, Avcı U, Demir S, Akıncı C, Atlı S: The effect of *hypericum perforatum* on kidney ischemia/reperfusion damage. *Renal Failure*, 39 (1): 385–391, 2017.

Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T: Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 3-4: 92-95, 1997.

Çolak E, Majkic-Singh N, Stankovic S, Sreckovic-Dimitrijevic V, Djordjevic PB, Lalic K, Lalic N: Parameters of antioxidative defense in type 2 diabetic patients with cardiovascular complications. Ann Med 37(8): 613-620, 2005.

Damm P, Houshmand-Oeregaard A, Kelstrup L, Lauenborg J, Mathiesen ER, Clausen TD: Gestational Diabetes Mellitus and long-term consequences for mother and offspring: A view from Denmark. Diabetologia, 59(7): 1396-1399, 2016.

Deprem T, Gülmez N: İmmünohistochemical localization of glutathione peroxidase 1 enzyme and its gene expression by RT-PCR in the liver tissue of healthy and diabetic mice. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 38: 363-369, 2014.

Derviş E: Oral Antioksidanlar. Dermatoz, 2 (1): 263-267, 2011.

Doğan MM, Dönder E, Kuloğlu T, Dabak DÖ: Deneysel Diyabetin Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Değişiklikler Üzerine Enalapril ve Losartan'ın Etkilerinin İncelenmesi. Fırat Tıp Dergisi; 16(2): 46-50, 2011.

Dönmez S: Deneysel Diyabetik Nefropatide İrbesartan ve Antioksidan Tedavilerin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 2008.

Dugoua JJ, Mills E, Peri D, Koren G: Safety and Efficacy of St. John's wort (Hypericum) during pregnancy and lactation. Can J Clin Pharmacol;13: 268-276, 2006.

Durmuş M, Yılmaz HR, Uz E, Özçelik N: The effect of caffeic acid phenethyl ester (cape) treatment on levels of mda, no and antioxidant enzyme activities in retinas of streptozotocin-induced diabetic rats. Turk J Med Sci, 38 (6), 525-30, 2008.

Edremitlioğlu M, Andiç MF, Korkut O: Quercetin, a powerful antioksidant bioflavonoid, prevents oxidative damage in different tissues of long-term diabetic rats. Balkan Med. J. 29, 4955, 2012.

Elliot JG: Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. Food Tech. 53: 46-48, 1999.

Eşrefoğlu M: Özel Histoloji, 2. baskı, İstanbul Tıp Kitapevleri, Türkiye, 2016.

Farsak M, Özdağlı G, Özmüş D, Çömelekoğlu Ü, Yalın S, Bozdoğan Arpacı R, Gen R, Kanık A, Ümit Talas D: Effects of Hypericum perforatum on an Experimentally Induced Diabetic Wound in a Rat Model. *Wounds*; 29: E10-7, 2017.

Florence T: Free radicals, antioxidants and cancer prevention. In Proceedings of the Nutrition Society of Australia. 1990.

Fubuni B, Hubbard A: Reactive Oxygen Species (ROS) And Reactive Nitrogen Species Generation by Silica in Imflammation and Fibrozis. *Free Radical Biology&Medicine*, 34 (12): 1507-1516, 2003.

Gill SS, Tuteja N: Reactive Oxygen Species and antioxidant machinery in abiotic stres tolerace in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 909-930, 2010.

Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G: Diabetes mellitus, hypertension and Cardiovascular disease. The role of oxidative stress. *Metabolism*;44: 363-368, 1995.

Grossmann A, Wendel A: Non-reactivity of the selenoenzyme glutathione peroxidase with enzymically hydroperoxidised phospholipids. *Eur J Biochem*; 135: 549-52, 1983.

Gumieniczek A: Effects of pioglitazone on hyperglycemia-induced alterations in antioxidative system in tissues of alloxan-treated diabetic animals. *Exp Toxicol Pathol*, 56, 321-326, 2005.

Halliwell B, Gutteridge JM: Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet* 1: 1396-7, 1984.

Halliwell B: How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications*, 9: 1-32, 1990.

Henderson L, Yue QY, Berquist C, Gerden B, Arlett P: St. John's wort (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. *J Clin Pharmacol*; 54:349-356, 2002.

Hışıl Y, Şahin F, Omay SB: Kantaronun (*Hypericum Perforatum L.*) Bileşimi ve Tıbbi Önemi. *Uluslararası Hematoloji ve Onkoloji Dergisi*; 15: 212-218, 2005.

Hunt EJ, Lester CE, Lester EA, Tackett RL: Effect of St. John's wort on free radical production. *Life Sci*; 69: 181–90, 2001.

Jain SK, Mc Vie R: Effect of glycemic control race (white vs. black) and duration of diabetes on reduced glutathione content in erythrocytes of diabetic patients. *Metabolism*. 43: 306-309, 1994.

Jang YY, Song JH, Shin YK, Han ES, Lee CS: Protective effect of bolding on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharma Res*,42(4), 361-371, 2000.

Jos J, Rybak M, Patin PH, Robert JJ, Boitard C, Thevenin R: Antioxidant Enzymes In Insulin-Dependent Diabetes In The Child And Adolescent. *DiabeteMetab*. 16: 498-503, 1990.

Kamalakkannan N, Prince PSM: Rutin improves the antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat tissues, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 293: 211-219, 2006.

Kanitkar M, Bhonde R: Existence of islet regenerating factors with in the pancreas. *Rev. Diabet. Stud*. 1: 185-92, 2004.

Kanter M, Aktaş C, Erboğa M: Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 719-25, 2012.

Katsarou A, Gudbjörnsdottir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, Jacobsen ML, Lernmark Å: Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3: 2017.

Kavirasan K, Arjunan MM, Pugalendi KV: Lipid profile, oxidant-antioxidant status and glycoprotein components in hyperlipidemic patients with/without diabetes. *Clin Chim Acta* 362: 49-56, 2005.

Ketani MA, Kadiroğlu B, Karakoç Z: Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Böbreklerin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, (2): 30- 37, 2015.

Khan P, Qayyum N, Malik F, Khan T, Khan M, Tahir A: Incidence of anxiety and depression among patients with Type 2 Diabetes and the predicting factors. *Cureus*, 11(3): 2019.

Kıyan S, Uyanıkgil Y, Altuncı YA, Çavuşoğlu T, Uyanıkgil EÖÇ, Karabey F: Investigation of acute effects of *Hypericum perforatum* (St. John's Wort/Kantaron) treatment in experimental thermal burns and comparison with silver sulfadiazine treatment. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 21(5):323-36, 2015.

Kierszenbaum AL, Tres LL: Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, fourth edition, *Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş.* Çev. Demir

R. Palme Yayınevi, 2021.

Kim SJ, Lee JW, Jung YS, Kwon do Y, Park HK, Ryu CS, Kim SK, Oh GT, Kim YC: Ethanol-induced liver injury and changes in sulfur amino acid metabolomics in glutathione peroxidase and catalase double knockout mice. *J Hepatol* 50: 1184– 1191, 2009.

Komosinska-Vassev K, Olczyk K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K: Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice* 68: 207-216, 2005.

Kurçer Z, Karaoğlu D: Deneysel diyabet modellerinde Alloksan ve Streptozotosin kullanımı. *Turkish Journal of Endocrinology & Metabolism*, 16(2): 34-40, 2012.

Lavagna SM, Secci D, Chimenti P, Bonsignore L, Ottaviani A, Bizzarri B: Efficacy of *Hypericum* and *Calendula* oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. *Farmaco*; 56: 451-3, 2001.

Liang W, Luo ZGe S: Oral administration of quercetin inhibits bone loss in rat model of diabetic osteopenia. *European Journal of Pharmacology*, 670, 317–24, 2011.

Lipinski B: Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. Review. *JDiabetes Complications.* 15: 203-10, 2001.

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N: Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*, 4(8), 118–126, 2010.

Mahesh T, Menon VP: Quercetin allievates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res*;18(2):123-7, 2004.

Malek M: Tip 2 Diyabetli Hastalara Verilen Beslenme Eđitiminin Beslenme Bilgi ve Alışkanlıkları Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Ankara Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2010.

Marzatico F, Cafe C: Oxygen radicals and other toxic oxygen metabolites as key mediators of the central nervous system tissue injury. *Functional neurology*; 8(1):51-66, 1993.

Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I: Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*; 32: 595–603, 1999.

Memişoğulları R, Bakan E: Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 18: 193-7, 2004.

Memişoğulları R: Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakóltesi Dergisi*; 3: 30-39, 2005.

Menini T, Gobbi M: The Antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*. *Life Sciences*; 75: 1021-1027, 2004.

Mukherjee B, Anbazhagan S, Roy A, Ghosh R, Chatterjee M: Novel implications of the potential role of selenium on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biomed Pharmacother*. 52: 89-95, 1998.

Murakami K, Kondo T, Ohtsuka Y, Fujiwara Y, Shimada M, Kawakami Y: Impairment of glutathione metabolism in erythrocytes from patients with diabetes mellitus. *Metabolism*. 38: 753-758, 1989.

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW: *Harpers Biochemistry*. 2nd edition. Typo; 342–354, 1991.

Muse KE, Oberley TD, Sempf JM, Oberley LW: Immunolocalization of antioxidant enzymes in adult hamster kidney. *Histochem J*; 26(9): 734–53, 1994.

Ocak T, Duran A, Özyalvaçlı G, Ocak Z, Terzi EH, Tosun M: Protective effects of montelukast and Hypericum perforatum against intestinal ischemiareperfusion Injury in hamsters. Turkish Journal Of Medical Sciences; 44(3):381-6, 2014.

Oh B, Kim SY, Kim DJ, Lee JY, Lee JK, Kimm K, Park BL, Shin HD, Kim TH, Park EK, Koh JM, Kim GS: Associations of catalase gene polymorphisms with bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women. JM ed Genet. 44(1):1-6. 2007.

Osterby R, Asplund J, Bangstad HJ: Neovascularization at the vascular pole region in diabetic glomerulopathy. Nephrol Dial Transplant; 14: 348–352, 1999.

Özer A: Veteriner Özel Histolojisi, 2. baskı, Dora Yayınevi, Türkiye, 2018.

Öztürk A, Aytekin İ, Özsoy Ş, Öztürk O, Altuğ N, Yılmaz N: Effects of caffeic acid phenethyl ester on oxidative stress, histopathology and some biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. Turkish Journal of Biochemistry, 40(2), 149-156, 2015.

Öztürk N, Korkmaz S, Öztürk Y: Wound Healing Activity of St. John's Wort (Hypericum perforatum L.) on Chicken Embryonic Fibroblasts. J Ethopharmacol; 111:33e39, 2007.

Papas AM: Antioxidant STATUS, Diet, Nutrition and Health. Boca Raton: CRC Press, 1999.

Pe´rez-Matute P, Zulet MA, Martı´nez JA: Reactive species and diabetes: counteracting oxidative stress to improve health. Current Opinion in Pharmacology; 9: 771–779, 2009

Pociot F, Lernmark Å: Genetic risk factors for Type 1 Diabetes. The Lancet, 387(10035): 2331-2339, 2016.

Rahbani- Nobar ME, A. Rahimi-Pour M, Rahbani-Nobar F, Adi-Beig SM, Mirhashemi: Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in diabetic patients. MJIAS. 12: 4, 1999.

Rauscher FM, Sanders RA, Watkins JB: Effects of Isoeugenol on oxidative stress pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *J Biochem molecular toxicology*, volume 15, 2001.

Ross MH, Pawlina W: *Histology A Text and Atlas. Sixth Edition*, Lippincott Williams and Wilkins, 2011.

Roy S, Rahaman N, Ahmed F, Metya S, Sannigrahi S: Naringenin attenuates testicular damage, germ cell death and oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: naringenin prevents diabetic rat testicular damage. *Journal of Applied Biomedicine*, 11(3): 195-208, 2013.

Sanai T, Sobka T, Johnson T: Expression of cytoskeletal proteins during the course of experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia*; 43: 91–100, 2000.

Sanchez SS, Abregu AV, Aybar MJ, Sanchez Riera AN: Changes in liver gangliosides in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biol Int*; 24(12):897–904, 2000.

Satman İ, Yılmaz T, Şengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Baştar İ, Tütüncü Y, Sargın M, Dinççağ N, Karşıdağ K, Kalaça S, Özcan C, King H: Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey. *Diabetes care*, 25 (9): 1551, 2002

Seghrouchni I, Draï J, Bannier E, Riviere J, Calmard P, Garcia I, Orgiazzi J, Revol A: Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta*. 321: 89-96, 2002.

Sen S, Chakraborty R: *The Role of Antioxidants in Human Health*. American Chemical Society, *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy*, 1, 1-37, 2011.

Shahidi F: *Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign III: AOCS Press, 1997.

Smith EL, Hill RL, Lehmal R: *Principle of biochemistry*. 7th-McBraw Hill edition USA; 382- 383, 1983.

Sözmen EY, Sözmen B, Delen Y, Onat T: Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. Arch Med Res. 32: 283-287, 2001.

Sözüer EC: Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçan Böbrek Dokusunda Quercetin'in Koruyucu Etkisinin İncelenmesi. Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 2018.

Steiner G: Risk factors for macrovascular disease in type 2 diabetes. Diabetes Care. 22: Supplement 3. Improving Prognosis in Type 1 Diabetes Proceedings from an Official Satellite Symposium of the 16th International Diabetes Federation Congress, 1999.

Süntar IP, Akkol EK, Yilmazer D, Baykal T, Kirmizibekmez H, Alper M, Yeşilada E: Investigations on the in vivo wound healing potential of Hypericum perforatum L. J Ethnopharmacol; 127: 468-77, 2010.

Sunde RA: Molecular biology of selenoproteins. Annu Rev Nutr;10: 451-474, 1990.

Tiedge M, Lortz S, Munday R, Lenzen S: Complementary action of antioxidant enzyme in the protection of bioengineered insulin-producing RIN m5f cells against the toxicity of reactive oxygen species. Diabetes; 47(10): 1578-85, 1998.

Tsolaki E, Nobelos P, Geronikaki A, Rekka EA: Selected heterocyclic compounds as antioxidants. Synthesis and biological evaluation. Current Topics in Medicinal Chemistry, 14 (22): 2462-2477, 2014.

Ugarte M, Brown M, Hollywood KA, Cooper GJ, Bishop PN, Dunn WB: Metabolomic analysis of rat serum in streptozotocin-induced diabetes and after treatment with oral triethylenetetramine (TETA). Genome Medicine, 4: 1-15, 2012.

Ulus NN, Sahilli M, Avcı A, Canbolat O, Ozansoy G, Ari N, Bali M, Stefek M, Stolz S, Gajdosik A, Karasu Ç: Pentose phosphate pathway, glutathione dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. Neurochem Res, 28, 815-823, 2003

Uyar A, Yaman T, Kele OF, Alkan EE, Çelik İ, Yener Z: Protective effects of bryonia multiflora extract on pancreatic beta cells, liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats: histopathological and immunohistochemical investigations. *Indian Journal Of Pharmaceutical Education And Research*, vol. 51, no: 3, 2017.

Van Dam PS, Van Asbeck BS, Erkelens DW, Marx JJ, Gispen WH, Bravenboer B: The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes Metab Rev*; 11(3):181-92, 1995

Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL: Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine Reviews*;25(4):612–28, 2004.

Vural H, Sabuncu T, Arslan SO, Aksoy N: Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. *J Pineal Res*; 31(3): 193-8, 2001.

Yaman T, Uyar A, Celik I, Alkan EE, Keles OF, Yener Z: Histopathological and immunohistochemical study of antidiabetic effects of *Heracleum persicum* extractin experimentally diabetic rats. *Indian J of Pharmaceutical Education and Research*; 51(3)Suppl: S450-57, 2017.

Yılmaz M, Aksakal M, Güvenç M, Arkalı G: Diyabet Oluşturulan Ratların Böbrek Dokusunda Oksidatif Stres ve Apoptozis Üzerine Perilil Alkolün Koruyucu Etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 34(1): 29-34, 2020.

Zhang W, Khanna P, Chan LL, Campbell G, Ansari NH: Diabetes-induced apoptosis in rat kidney. *Biochem Mol Med*; 61(1): 58-62, 1997.

Zheng Y, Ley SH, Hu FB: Global aetiology and epidemiology of Type 2 Diabetes Mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2): 88-98, 2018.