



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA GÖKBAŞ (*Cyanus depressus*) BİTKİ ÇİÇEĞİ
EKSTRAKTININ ANTİDİYABETİK VE ANTİOKSİDAN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Kendal Erdem DUMAN
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
(ECZACILIK PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN: Doç. Dr. Abdulahad DOĞAN
II. DANIŞMAN: Doç. Dr. Burak KAPTANER

VAN-2021

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA GÖKBAŞ (*Cyanus depressus*) BİTKİ ÇİÇEĞİ
EKSTRAKTININ ANTİDİYABETİK VE ANTİOKSİDAN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Kendal Erdem DUMAN
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
(ECZACILIK PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN: Doç. Dr. Abdulahad DOĞAN
II. DANIŞMAN: Doç. Dr. Burak KAPTANER

VAN-2021

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2020-9270 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum **“Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Gökbaş (*Cyanus depressus*) Bitki Çiçeği Ekstraktının Antidiyabetik ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması”** başlıklı tezimin; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Kendal Erdem DUMAN

Tarih: 06.07.2021

İmza:

TEŞEKKÜR

Çalışmalarına verdiği öneri ve yönlendirmeleri ile beni yüksek lisans eğitiminden bu yana sürekli destekleyen, bana her zaman sabır ve hoşgörü ile yaklaşan, emek vererek değerli zamanını ayıran çok kıymetli tez danışmanım sayın Doç. Dr. Abdulahad DOĞAN'a, ikinci tez danışmanım olmayı kabul eden Doç. Dr. Burak KAPTANER'e ve laboratuvar çalışmalarımda sürekli yanımda olan Araş. Gör. Fatih DÖNMEZ ve Ayşegül EROĞLU'na teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim. Yüksek lisans eğitimim süresince ders aldığım ve bana bilgilerini, emeğini vermiş olan değerli hocalarıma, veri toplama sürecinde bana yardımcı olan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama merkez müdürü değerli hocam Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN'a ve değerli abim Orhan ASLAN'a teşekkür ederim. Benimle akademik deneyimlerini paylaşan, bana güvenip, destek ve moral vererek motivasyonumu arttıran, teze başlamamda ve ilerlememde büyük katkıları olan arkadaşım Mehmet Şah OĞUZ'a teşekkürü bir borç bilirim. Bitki teşhisinde yardımcı olan Araş. Gör. Hüseyin EROĞLU'na teşekkür ederim. Çalıştığım kurumda beni sürekli destekleyen, her türlü desteği sağlayan çalışma arkadaşlarım ve değerli müdürüm sayın Gülşah ONAY SERTDAĞ'a teşekkür ederim.

ÖZET

DUMAN K.E, Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Gökbaşı (*Cyanus depressus*) Bitki Çiçeği Ekstraktının Antidiyabetik ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması, Van Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Anabilim Dalı, Biyokimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2021. Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan ratlarda *Cyanus depressus* (CD) çiçeği liyofilize etanolik ekstresinin antioksidan ve antidiyabetik etkileri araştırıldı. Çalışmada otuz beş rat 7 gruba ayrıldı; Grup I: Kontrol grubu, Grup II: CD-400 mg/kg grubu (*C. depressus* 400 mg/kg çiçek ekstresi uygulanan ratlar); Grup III: DM grubu (50 mg/kg tek doz STZ intraperitoneal yolla uygulanan ratlar); Grup IV: DM + CD-400 mg/kg grubu (*C. depressus* çiçek ekstresi 400 mg/kg uygulanan diyabetik ratlar); Grup V: DM + Gly-3 mg/kg grubu (Antidiyabetik ilaç glibenklamid 3 mg/kg uygulanan diyabetik ratlar). Yirmi bir günlük muameleler sonrasında; CD çiçek ekstresinin antidiyabetik rolünün belirlenebilmesi için; serum biyokimyasal parametrelerden glukoz, glikolize hemoglobin (HbA1c), aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), kreatinin, üre, trigliserit (TG), kolestreol (TC) ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ölçüldü. Ayrıca karaciğer, böbrek ve pankreas dokularında antioksidan savunma unsurlarından glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon reduktaz (GR) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ile redükte glutatyon seviyeleri ve malondialdehit (MDA) içerikleri değerlendirildi. Daha sonra serum insulin ve C-peptid hormon düzeyleri ölçüldü. Karaciğer, böbrek ve pankreas dokularında histolojik incelemeler yapıldı ve pankreasta adacık çapı ve adacık alanı hesaplandı. Elde edilen bulgulara göre CD ekstresi ile tedavi edilen rat grupların, diyabetik gruba kıyasla, biyokimyasal ve MDA parametrelerinde düşüş, antioksidan enzim aktivitesinde ve GSH (karaciğer hariç) düzeyinde artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Yapılan histolojik incelemelerde, DM grubunda gözlenen lezyonların CD çiçek ekstresi uygulanan gruba göre hafifletildiği gözlenmiştir. Ayrıca, pankreas adacık çapı ve alanı DM grubuna kıyasla diğer tedavi gruplarında anlamlı artışlar gösterdiği belirlendi. Sonuç olarak, CD çiçek ekstresi diyabet ve diyabetle ilişkili komplikasyonların tedavisinde umut verici bir terapötik ajanı temsil edebilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, *Cyanus depressus*, Diyabet, Histopatoloji, Rat.

ABSTRACT

DUMAN K.E, Investigation Of The Antidiabetic And Antioxidant Effects Of Cornflower (*Cyanus depressus*) Plant Extract Against Streptozotocin-Induced In Diabetic Rats, Van Y.Y.Ü. Institute of Health Sciences, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Biochemistry Science, Master Thesis, Van, 2021. In the present study, antioxidant and antidiabetic effects of lyophilized ethanolic flower extract of *Cyanus depressus* in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. In the study, 35 rats were divided into 7 groups: Group I: control, Group II: CD-400 mg/kg group (including *C. depressus* 400 mg/kg flower extract treated rats), Group III: DM group (including rats treated with a single dose of 50 mg/kg STZ via intraperitoneal injection), Group IV: DM + CD-400 mg/kg group (rats with DM treated with 400 mg/kg flower extract of *C. depressus*), Group V: DM + Gly-3 mg/kg group (rats with DM treated with 3 mg/kg antidiabetic drug glibenclamide). After 21 day-treatments, serum biochemical parameters including glucose, glycosylated hemoglobin (HbA1c), aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), creatinine, urea, triglyceride (TG), cholesterol (TC) and high-density lipoprotein (HDL) were measured for determination of antidiabetic role of CD flower extract. Moreover, antioxidant defense members including glutathione s-transferase, glutathione reductase and catalase activities and glutathione or malondialdehyde contents were assayed in the liver, kidney and pancreas tissues. Next, serum insulin and C-peptide levels were measured. Histological examinations were performed in the liver, kidney and pancreas tissues and islet diameter or area in pancreas were calculated. According to the results, rats with DM treated with 400 mg/kg flower extract of *C. depressus* demonstrated lowered levels of biochemical parameters and MDA, or statistically significant escalations in antioxidant enzyme activities or glutathione content (except for liver) compared to DM group. In the histological examinations, lesions observed in DM group were decreased comparing rats with DM treated with flower extract of *C. depressus*. Moreover, significant increases were determined in the pancreas islet diameter and area in DM treated with 400 mg/kg flower extract of *C. depressus* compared to DM group. In conclusion, the flower extract of *C. depressus* might represent a promising therapeutic agent in the treatment of diabetes or related complications.

Key Words: Antioxidant, *Cyanus depressus*, Diabetes, Histopathology, Rat.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XIII
TABLolar LİSTESİ.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.2. Diabetes Mellitusun Tarihçesi	4
2.3. Diabetes Mellitusun Tanı Kriterleri	4
2.4. Diyabetin Sınıflandırılması	5
2.4.1. Tip 1 diyabet	5
2.4.2. Tip 2 diyabet	5
2.4.3. Gestasyonel diyabet	5
2.4.4. Diğer spesifik diyabet türleri	6
2.5. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları	6
2.6. Diabetes Mellitusun Önlenmesi ve Tedavisi	6
2.7. Streptozotosin ve Etki Mekanizması	7
2.8. Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturulması	8
2.9. Serbest Radikaller	8
2.10. Diabetes Mellitusun Oksidatif Stresle İlişkisi	9
2.11. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	9
2.11.1. Süperoksit dismutaz	9
2.11.2. Glutasyon peroksidaz	10
2.11.3. Katalaz	10
2.11.4. Glutasyon S-transferaz	10

2.11.5. Glutasyon redüktaz.....	11
2.11.6. Redükte glutasyon	11
2.12. Lipid Peroksidasyonu	11
2.14. Diyabet ve Biyokimyasal parametreler.....	11
2.8. <i>Cyanus depressus</i>	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. Gereç	19
3.1.1. Bitkisel materyal	19
3.1.2. Deney hayvanı (Sıçan).....	19
3.1.3. Analizlerde kullanılan cihazlar ve malzemeler.....	19
3.1.4. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler	20
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Etanol bazlı liyofilize ekstrakt hazırlanması.....	20
3.2.2. Toksisite testi ve dozların belirlenmesi	20
3.2.3. Streptozotosinle (STZ) sıçanlarda diyabet oluşturulması.....	21
3.2.4. Deneysel muamele ve grupların oluşturulması.....	21
3.2.5. Kan ve doku örneklerinin alınması.....	22
3.2.6. Doku homojenizasyonu	22
3.2.7. Total protein tayini.....	22
4.2.8. Redükte glutasyon tayini	24
4.2.9. Glutasyon S-transferaz enzim tayini	25
4.2.10. Glutasyon redüktaz enzim tayini	26
4.2.11. Katalaz enzim tayini	27
4.2.12. Malondialdehit tayini	29
4.2.13. Serum biyokimyasal parametre tayini	30
4.2.14. Histolojik prosedürler	30
4.2.15. İstatistiksel analizler	32
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	62
EKLER.....	63

EK 1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kesin Sonuç Raporu	63
Ek 2. Tez Orijinallik Raporu.....	64



SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Absorbans
%	: Yüzde
ΔOD	: Zamana göre absorbans değişimi
μL	: Mikrolitre
ADA	: Amerikan diyabet derneği
ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
APG	: Açlık plazma glukozu
AST	: Aspartat aminotransferaz
BSA	: Sığır serum albümini
Caco-2	: Kolon kolorektal adenokarsinom
CAT	: Katalaz
CCl₄	: Karbon tetraklorür
CD	: <i>Cyanus depressus</i>
CDNB	: 1-kloro-2,4-dinitrobenzen
CHA	: Canlı hayvan ağırlıkları
dL	: Desilitre
DM	: Diabetes mellitus
DTNB	: 5-5'-ditiobis 2- nitrobenzoik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
FeSO₄	: Demir II sülfat
g	: Gram
GDM	: Gestasyonel diabetes mellitus
GLUT	: Glukoz taşıyıcıları
Gly	: Glibenklamid
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Redükte glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon s-transferaz

H⁺	: Hidrojen
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HbA1c	: Glikozillenmiş hemoglobin
HCl	: Hidroklorik asit
HDL_c	: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
HO[•]	: Hidroksil
HOO[•]	: Hidroperoksil
HPO₃	: Metafosforik asit
IDF	: Uluslararası diyabet federasyonun
i.p.	: İntraperitoneal
kDa	: Kilo dalton
kg	: Kilogram
KH₂PO₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LDL_c	: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
M	: Molar
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmol	: Milimol
mol/L	: Mol
Na₂HPO₄	: Disodyum hidrojen fosfat
NaCl	: Sodyum klorür
NADP⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NaH₂PO₄	: Sodyum dihidrojen fosfat
NaOH	: Sodyum hidroksit
nm	: Nanometre
nmol	: Nano mol
NO[•]	: Nitrik oksit

O₂	: Moleküler oksijen
O₂^{•-}	: Süperoksit
°C	: Santigrat derece
OECD	: Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
RNS	: Reaktif azot türleri
ROO[•]	: Peroksil radikali
ROOH	: Organik hidroperoksit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SOD	: Süperoksit dismutaz
STZ	: Streptozotosin
T1DM	: Tip 1 diabetes mellitus
T2DM	: Tip 2 diabetes mellitus
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TC	: Total kolesterol
TCA	: Trikloro asetik asit
TG	: Trigliserit
Tris	: Hidroksi metil amino metan
U	: Ünite
UV/VIS	: Ultraviyole/görünür ışık
Vö	: Örnek hacim
Vt	: Toplam hacim
WHO	: World health organisation
ΔA	: Absorbans değişimi
μM	: Mikromolar
μmol	: Mikromol

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Streptozotosin'in kimyasal yapısı	8
Şekil 2. <i>Cyanus depressus</i> görseli	14
Şekil 3. Protein standart eğrisi	23
Şekil 4. GSH standart eğrisi	25
Şekil 5. MDA standart eğrisi	29
Şekil 6. Haftalık canlı hayvan ağırlıkları değişimi	33
Şekil 7. Haftalık kan glukoz değişimi	33
Şekil 8. Deneysel gruplara ait karaciğer MDA içerikleri	35
Şekil 9. Deneysel gruplara ait böbrek MDA içerikleri	36
Şekil 10. Deneysel gruplara ait pankreas MDA içerikleri	36
Şekil 11. Deneysel gruplara ait karaciğer GSH düzeyleri.	37
Şekil 12. Deneysel gruplara ait böbrek GSH düzeyleri	38
Şekil 13. Deneysel gruplara ait pankreas GSH düzeyi.	38
Şekil 14. Farklı grupların karaciğerine ait olan H&E ile boyanmış kesitler.	41
Şekil 15. Farklı grupların böbreklerine ait olan H&E ile boyanmış kesitler.	43
Şekil 16. Farklı grupların pankreaslarından alınan ve H&E ile boyanmış kesitlerinde Langerhans adacıkları.	44
Şekil 17. Deneysel gruplara ait adacık çapı ortalamaları	46
Şekil 18. Deneysel gruplara ait adacık alanı ortalamaları.	46
Şekil 19. Deneysel gruplara ait serum insülin düzeyleri.	47
Şekil 20. Deneysel gruplara ait serum C-peptid düzeyleri.	48

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. GSH yöntemi	24
Tablo 2. Karışımların küvete alınması ile GST ölçümün yapılması	26
Tablo 3. GR karışımların küvete alınması ile ölçümün yapılması	27
Tablo 4. Katalaz fosfat tamponun hazırlanışı	27
Tablo 5. Katalaz fosfat tampon solüsyonların karıştırılarak hazırlanması	27
Tablo 6. Katalaz tampon ve örneklerin küvete pipetlenmesi	28
Tablo 7. MDA Yöntemi	30
Tablo 8. <i>Cyanus depressus</i> bitki ekstresinin biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi	34
Tablo 9. <i>Cyanus depressus</i> bitki ekstresinin çeşitli dokulardaki antioksidan enzim aktivitelerine etkisi	39

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) insülin salınımının yetersiz veya olmadığı, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizma bozukluğunun eşlik ettiği endokrinolojik bir bozukluktur (Agirman ve ark., 2020). DM günümüzün önemli bir sağlık sorunu olup (Bayrak ve Çolak, 2012), pek çok akut ve kronik komplikasyonu vardır (Doğanay ve ark., 2020). DM'li hasta sayısı her geçen gün artmaktadır. Dünyada her yüz kişiden beşinin DM'li olduğu tahmin edilmektedir. Önümüzdeki on yıl içinde DM'li hasta sayısının 400 milyona yaklaşacağı tahmin edilmektedir (Kara ve Çınar, 2011). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporlarına göre ölümlerin başlıca nedenlerden biri DM ve DM ile ilişkili komplikasyonların sebep olduğu belirtilmektedir. Ülkemizde sağlık bakanlığı tarafından 2018 yılında açıklanan bir rapora göre Türkiye'de 7 milyon DM'li hastanın olduğu ve görülme sıklığı bakımından Ekonomik Kalkınma ve İş birliği Örgütü (OECD) ülkeleri arasında ikinci sırada yer aldığımız belirtilmektedir (Özlüer Başer ve ark., 2020).

DM; Tip 1 diabetes mellitus (T1DM), Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), gestasyonel diabetes mellitus (GDM) ve diğer spesifik DM olmak üzere dört grupta sınıflandırılmaktadır. T1DM çocukluk yaşlarda görülen ve mutlak insülin eksikliği ile karakterizedir. Toplum içinde DM'li hasta sayısının yaklaşık % 90'nı oluşturan T2DM ise 40 yaşlardan sonra ortaya çıkan; beslenme, sedanter yaşam tarzı, genetik yatkınlık ve stres gibi faktörlerle oluşan DM türüdür. GDM ise kadınlarda hamilelik sürecinde görülen bir DM türüdür. Diğer spesifik DM oluşumunda birçok nedenin sebep olduğu pankreas langerhans adacıklarındaki β -hücrelerindeki fonksiyon bozukluğunun bir sonucu geliştiği tahmin edilmektedir.

DM'nin oluşumu sırasında birçok doku ve organ etkilenmekte ve bunlara bağlı olarak diyabetik ketoasidoz, laktik asidoz, hipoglisemi ve hiperglisemi ile mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar sonucu koroner kalp hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar ve periferik hastalıklar gelişmektedir. DM'nin en belirgin komplikasyonları ise nefropati, retinopati, nöropati ve ayak amputesidir (Alkanlı ve ark., 2020).

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya birden fazla ortaklaşmamış elektron çifti bulunduran atom ya da moleküllerdir (Erol, 2020). Endojen ve eksojen

kaynaklı olarak serbest radikaller oluşabilmektedir. Artan serbest radikal artışının DM ve DM ile ilişkili komplikasyonların oluşumuna sebebiyet verdiği bilinmektedir (Doğan ve Çelik, 2016). Dolayısıyla stres durumunun baskılanması ve kontrolü DM tedavisinde önemlidir. Serbest radikal etkilerinin baskılanmasında en önemli mekanizmalardan biri antioksidan savunma mekanizmalarının varlığıdır.

Bitkiler içermiş oldukları sekonder metabolitlerin önemli antioksidan kaynaklar olduğu çok eskiden beri bilinmektedir. Asteraceae familyası geniş bitki içeriğine sahip olup yaklaşık 1600'ün üzerinde cins 23.000'den fazla tür içerir. Ülkemizde *Centaurea* L. cinsi oldukça yaygın olup 172 türle temsil edilmekte ve bunların büyük bir kısmı endemiktir. *Cyanus* türünün dünyada 27 türü bulunmaktadır. *Cyanus depressus* tek yıllık otsu bir bitkidir. *Cyanus* cinsi Avrupa'nın orta ve güney bölgeleri, Afrika'nın kuzeyi, Anadolu'nun tamamı, Kafkaslar, İran ve Afganistan'da yayılış göstermektedir (Dostál, 1976; Wagenitz ve Hellwig, 1994; Czerepanov, 2001). Ülkemizin önemli bir bitki türü olan *Cyanus depressus*'un önemli fitokimyasal içeriğe sahip olduğu bilinmektedir. Ancak *in vivo* ve DM hastalığı özelinde bu bitki üzerinde çalışma yok denecek kadar azdır.

Bu tez çalışmasında, *Cyanus depressus* bitki çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin streptozotosin (STZ) ile DM oluşturulan ratlarda antidiyabetik ve antioksidan etkileri hem biyokimyasal parametreler hem de histopatolojik etkileri karaciğer, böbrek ve pankreas dokularında araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

DM diğer adıyla şeker hastalığı, pankreas bezinin langerhans adacıklarındaki β -hücrelerinden insülin salınımının azlığı/yetersizliği veya dolaşımdaki glukozun hücre içerisine alınmasında görevli glukoz taşıyıcıların (GLUT) hedef hücreye tepkinin azalması/bozulması sonucu dolaşımdaki açlık kan glukoz düzeyinin ≥ 126 mg/dL olması ile karakterize endokrinolojik bir bozukluktur (Agirman ve ark., 2020).

Dünyada DM'li kişi sayısı ve yaygınlığı giderek artmaktadır. Dünya nüfusunun % 8,5'nin DM'li olduğu tahmin edilmektedir. Sedanter yaşam tarzı, genetik ve çevresel faktörler, beslenme alışkanlığı ve obezite DM'nin gelişmesinde önemli rol oynar (WHO, 2016). Genel anlamda DM insülin azlığı, yokluğu veya insülin direncinin olduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır (Ekoe, 2019).

DM'nin semptomları arasında, aşırı su içme, ağız kuruluğu, sıklıkla idrara çıkma, bulanık görme ve kilo kaybı olarak gösterilebilir. Daha ağır semptomlarından biri olan ketoasidoz hiperglisemiye yol açarak hastayı ölüme kadar götürebilir. DM'nin bazı semptomları kişiyi rahatsız etmez ve bu durumu ancak hastaneye geldiklerinde tanı konulması ile anlaşılır (Yüksel, 2007).

Uluslararası diyabet federasyonun (IDF) yayınladığı rapora göre 1985 yılında DM'li hasta sayısı 30 milyon iken bu sayı sonraki yıllarda artarak devam etmiştir. Sağlık çevreleri bu sayının gelecekte çok daha fazla olacağını öngörmektedir. IDF'nin 2014 yılı raporuna göre DM'ye bağlı ölümlerin her yedi saniyede bir gerçekleştiği ve dünyada bu sayının yılda 4,9 milyon olduğu tespit edilmiştir. DM'ye bağlı ölümlerin büyük bir kısmı (yaklaşık %80) gelir düzeyinin düşük olduğu ülkelerde yaşanmaktadır. Ülkemizde DM'li kişi sayısı her geçen gün artmaktadır. IDF'nin Türkiye'de DM görülme oranını % 14,7 olarak açıklamıştır (Coşansu, 2015).

2.2. Diabetes Mellitusun Tarihçesi

Diyabet ya da Diabetes mellitus yunanca da idrara geçen Latince: mellis (tatlı) olarak adlandırılan, genellikle kalıtsal ve çevresel etkenlerle kan glukoz düzeyinin normal değerin üzerinde olmasıyla (hiperglisemi) sonuçlanan metabolik bir rahatsızlıktır (Barnett, 2010). DM 15. yüzyıl başlarında bir tıbbi belge üzerinde yazılan ve İngilizceye “diyabete” şeklinde geçmiştir. 17. yüzyılda İngiliz Thomas Willis DM’li idrarın tadına baktıktan sonra Diabetes mellitus olarak isimlendirdi. 19. ve 20. yüzyılda yüksek kan şekeri ölçümleri için niceleyici testler yapılmaya başlandı. 1921’de Kanadalı bilim insanları Frederick Banting, Charles Best, James Collip ve John James Rickard Macleod tarafından insülin icat edildi ve T1DM’nin tedavisi için çok önemli bir adım atıldı (Moini, 2019).

2.3. Diabetes Mellitusun Tanı Kriterleri

Çeşitli sağlık kuruluşları son yıllarda DM tanımlamada önemli değişiklikler yaptılar. Amerikan diyabet derneği (ADA) 1997 yılında yeni tanı kriterleri yayınladı. WHO’da 1999 yılında bu tanı kriterlerini benimsedi. 2003 yılında ADA bu tanı kriterlerine bozulmuş açlık glisemisi tanısını ekledi ve son halini verdi. Günümüzde DM tanısında bu kriterler uygulanmakta ve ülkemizde de geçerli tanımlar bunlardır. ADA’ya göre DM tanısı dört şekilde konulabilmektedir. Bunlar;

APG (Açlık plazma glukozu): Sekiz saat açlıkta 126 mg/dL ve üstünde bir değer,

OGTT (Oral Glukoz Tolerans Testi): 75 g glikozun bir bardak su içinde çödürülerek ikinci saat plazma glukozun 200 mg/dL üstünde bir değer,

Rastgele Plazma Glukozu: 200 mg/dL ve üstünde bir değer olması durumunda,

% HbA1c (Glikolize hemoglobin): % 6,5 ve üstünde bir değer olması durumlarında DM tanısı konulur (Dinççağ, 2011).

2.4. Diyabetin Sınıflandırılması

DM için son olarak 1997’de bir sınıflandırma şekli verilmiştir (Canivell ve Gomis, 2014). DM’yi dört ana başlıkla görmek mümkündür. Bunlar T1DM, T2DM, GDM ve diğer diyabet (spesifik diyabet) türleri olarak sıralanır (Ekoe, 2019).

2.4.1. Tip 1 diyabet

DM’ler içinde görülme sıklığı %5-10 olan T1DM daha çok çocuklarda görülmekte ancak yetişkinlerde de görülmektedir (Ekoe, 2019). T1DM türünde pankreasın β hücrelerinden mutlak insülin yokluğu veya eksikliğinden kaynaklanmaktadır (Nous ve ark., 2019). Bunun yanı sıra, T1DM oluşumunda genetik ve çevresel faktörler de önemli rol oynamaktadır (Negi ve Jena, 2019). T1DM’li hastalar çölyak, vitiligo, otoimmün ve hepatit gibi bazı hastalıklara yatkındırlar (Uygur ve Yavuz, 2017).

2.4.2. Tip 2 diyabet

DM sınıfı içinde en sık görülen DM türü T2DM’dir (Ekoe, 2019). T2DM insan yaşamında uzun bir süre fark edilmeyebilir. Ancak bu durum hastalığın fazla şiddetli olmayan semptomlarından birini geçirmesi durumunda farkına varılabilir (ADA, 2019). Yetişkinlerde daha sık görülen T2DM özellikle 40’lı yaşlarda görülmektedir. Fakat son dönemlerde obez çocuklarda da görülmeye başlamıştır (Dinççağ, 2011). T2DM; kalp-damar, böbrek, sinir sistemi hastalığı ve körlük gibi hastalıkları da tetiklemektedir (Halifeoğlu ve ark., 2005).

2.4.3. Gestasyonel diyabet

Hamilelikte ortaya çıkan ve doğum ile genellikle son bulan bir DM türüdür (Dinççağ, 2011). Hamileliğin 24 ile 28. haftaları arasında test yapılmaktadır. 25 yaş üstü hamile kadınlarda görülme sıklığı daha çoktur (Ekoe, 2019). GDM’nin en önemli risklerinden biri ilerleyen süreçte T2DM’ye dönüşme riskidir (Dinççağ, 2011).

2.4.4. Diğer spesifik diyabet türleri

Pankreasın β -hücreleri ve insülindeki gen bozuklukları, endokrin pankreas hastalıkları, endokrinopati, ilaç ve kimyasal kaynaklı pankreas bozuklukları, enfeksiyon ve genetik bozukluklar diğer DM türüne sebep olan faktörlerdir (ADA, 2019).

2.5. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları

DM'nin en belirgin semptomları poliüri, polidipsi ve polifajidir. Ayrıca, DM'lilerde tanı olarak yararlanılan yüksek kan glukoz düzeyi tanısıdır. DM'li hastalar fiziksel olarak etkilenmelerinin yanı sıra psikolojik olarak da etkilenmektedirler. Buna anksiyete depresyonu örnek verilebilir (Yüksel, 2007).

DM'nin komplikasyonları akut ve kronik olarak ikiye ayrılır (Uludağ, 2010). Akut komplikasyonlar (ketoasidoz, hiperozmolar, laktik asidoz ve hipoglisemi) ve kronik komplikasyonlardır. Kronik komplikasyonlar ise makrovasküler (kardiyovasküler, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklar), mikrovasküler (nefropati, nöropati ve retinopati) ve diğer kronik komplikasyonlar (gastrointestinal, genitoüriner, enfeksiyöz, katarakt ve glokom) olarak üçe ayrılır (Karasakal, 2021).

2.6. Diabetes Mellitusun Önlenmesi ve Tedavisi

DM tedavisi eğitim, egzersiz, beslenme ve medikal tedavi olmak üzere dört ana başlıkta incelenmektedir. Eğitim ile hastaya hastalığının hangi bulgular taşıdığı, belirtilerinin neler olduğu hakkında bilgi verilmektedir. Hasta takibi yapılmakta ve diğer tedavi yöntemleriyle bağ kurulmaktadır. Planlı ve programlı fiziksel aktivite DM tedavisi için önemlidir. Ancak hastanın egzersiz öncesi ve sonrasında egzersiz için uygunluğu kontrol edilmelidir. Beslenme özellikle kalori alımında önemlidir. T1DM ve T2DM tedavisi için beslenme protokolu benzerdir (Dinççağ, 2014).

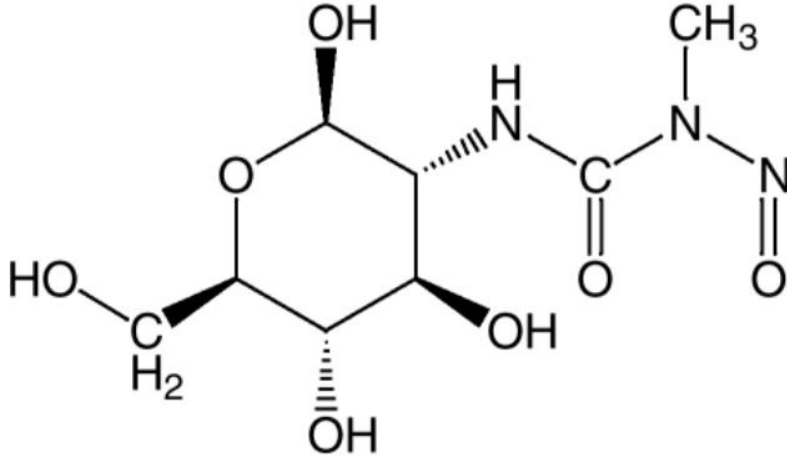
Metformin, sülfonilüreler ve tiazolidindionlar dünya genelinde en çok kullanılan oral antidiyabetiklerdir (Stein ve ark., 2013). Oral antidiyabetik ilaçlar özellikle T2DM tedavisi, hasta özelliklerinin, hipergliseminin ciddiyetinin ve mevcut tedavi seçeneklerinin etkileşimine dayanır. Oral antidiyabetik ajanlar, kullanım kolaylığı ve düşük maliyeti nedeniyle insülin tedavisine alternatif olarak kullanılmaktadır (İqbal ve

ark., 2012). Süfonilüre grubuna ait bir ilaç olan glibenklamidin, pankreas beta hücrelerinden insülinin birinci faz salınımını uyararak kandaki glikoz konsantrasyonlarını düşürdüğü ve vücut hücrelerinin endojen insüline duyarlılığının artmasına neden olarak insülin direncini azalttığı bilinmektedir (Ohadoma ve Michael, 2011).

İnsülin ve oral antidiyabetik ilaç tedavisine ek olarak bitkilerde bulunan fitokimyasal bileşiklerin kan glukoz düzeyinin düşürülmesinde ve dengelenmesinde yaygın bir şekilde kullanımı söz konusudur (Ohadoma ve Michael, 2011; Agirman ve ark., 2020; Hanalp ve ark., 2021).

2.7. Streptozotosin ve Etki Mekanizması

Streptomyces bakterisinden elde edilen STZ daha sonra sentetik olarak elde edilmiştir. $C_8H_{15}N_3O_7$ formülü ile gösterilen STZ'nin molekül ağırlığı 265 g/mol'dur (Malkoç, 2016). Kimyasal bir ajan olan STZ özellikle fare ve sıçanlarda DM oluşturma deneylerinde kullanılmaktadır. STZ pankreatik β -hücrelerine karşı toksik etki gösterir. Alınan STZ ile pankreastaki β hücreleri hasara uğrar ve bu hasarın sonucunda DM oluşur. GLUT 2 aracılığıyla yapısında bir glukoz molekülü bulunduran STZ pankreastaki β hücrelerinde yoğunlaşır. Burada STZ'nin yarattığı etki ile β hücreleri glukozu karşı etkisini yitirir. Ardından ilkin deney hayvanında iki saat sonra kandaki glukoz seviyesi oldukça düşer ve bu düşüşe bağlı olarak hipoglisemi gelişir. Daha sonra hiperglisemi ile sonuçlanır. STZ'nin β hücrelerinde yarattığı etkinin yanı sıra hücre içinde yarattığı etki ile DNA hasarında rol oynadığı gözlemlenmiştir. STZ'nin ilk önce β -hücrelerinin glukozu olan ilgisini kaldırarak etki ettiği tahmin edilmektedir. (Rakieten ve ark., 1963; Irer ve Alper, 2004). Daha sonra dönüşümsüz beta hücre hasarına ve hücre kaybına neden olmaktadır. Dolaşımdaki insülin azlığı hiperglisemi ile STZ'nin diyabetojenik etkileri ortaya çıktığı belirtilmiştir (West ve ark., 1996).



Şekil 1. Streptozotosin'in kimyasal yapısı

2.8. Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturulması

Deney hayvanları ile DM oluşturmada genel olarak rat ve fare kullanılmaktadır. Deney hayvanları ile DM oluşturma alloxan ve STZ gibi kimyasal ajanlarla yapılmaktadır. Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda STZ dozunun genel olarak 70-45 mg/kg aralığında kullanıldığı ve deney süresinin ise üç ile dokuz hafta sürdürdüğü görülmüştür (Arya ve ark., 2014; Dogan ve ark., 2015; Hanalp ve ark., 2021).

2.9. Serbest Radikaller

Dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulunduran serbest radikaller bu eşlenmemiş elektronlardan dolayı oldukça reaktif yani kararsız moleküllerdir (Kasap, 2010). Reaktif moleküller kararlı hale gelebilmek için diğer moleküllerden elektron kopararak kararlı hale gelirler. Elektronu koparılan molekül ise kararsız hale geçer ve serbest radikallere dönüşür. Serbest radikaller reaktif oksijen ve nitrojen türlerinden oluşmaktadır. Reaktif oksijen/nitrojen türleri (ROS/RNS) süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), hidroperoksil ($HOO^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$) ve nitrik oksitten ($NO^{\cdot}$) oluşmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).

2.10. Diabetes Mellitusun Oksidatif Stresle İlişkisi

Serbest radikaller yapısında bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron çifti ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen kaynaklı serbest radikaller; süperoksit, hidroksil, peroksil, hidroperoksil ve nitrik oksit gibi reaktif türlerdir. Ekzojen kaynaklı serbest radikaller ise kirli hava, sigara dumanı, pestisit ve radyasyondur (Dogan ve ark., 2018).

Vücutta serbest radikallerin zararlarına karşı savunma görevi gören antioksidan savunma sistemleri vardır. Bu savunma sistemleri ROS'ların etkilerini bastırarak hücrelere zarar vermelerini engellerler. Oksidatif stres ile artan ROS'lar proteinlere, lipitlere ve nükleik asitlere saldırarak zarar vermektedir. Ayrıca, serbest radikallerin oluşturduğu bu etki sonucunda oluşan oksidatif stres hiperglisemi ve insülin direnci üzerinde etkisinin olduğu ve DM'nin patogenezinde yer aldığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Dogan ve ark., 2015; Çelik ve Yıldız, 2010).

2.11. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar hücrede oksidatif stresin etkisini azaltan ya da yok eden maddelerdir (Doğanay, 2014). Enzimatik savunma sistemleri ve enzimatik olmayan savunma sistemleri olarak ikiye ayrılmaktadır (Ekici ve Sağdıç, 2007).

2.11.1. Süperoksit dismutaz

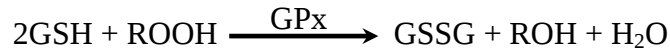
Süperoksit dismutaz (SOD) reaktif oksijen türlerine karşı savunma görevi gören enzimatik bir antioksidandır. Süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene katalizler.



SOD'un SOD1, SOD2 ve SOD3 olmak üzere üç formu bulunmaktadır. Bu formların her birinin seviyesinin düşmesi serbest radikal oluşumunu artırır. Yaşlanmayla ve hücre hasarı ile birlikte SOD seviyesi de düşmektedir (Aslankoç ve ark., 2019).

2.11.2. Glutasyon peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GPx) H₂O₂ kaynaklı oksidatif hasara karşı koruyucu görevi üstlenen dört alt birim protein ve her proteinde bir selenyum atomu ihtiva eden bir enzimdir. GPx H₂O₂'den O₂'nin oluşmasını engeller (Karabulut ve Gülay, 2016). GPx'in azalması antioksidan savunma sistemlerinde hasara yol açar. Bu azalmaya bağlı olarak bazı hastalıklar belirir (Aslankoç ve ark., 2019).



(GSH=Redükte glutasyon, GSSG=Okside glutasyon, GPx=Glutasyon peroksidaz)

2.11.3. Katalaz

Katalaz (CAT) dört protein alt birimden meydana gelir. Bu proteinlerin her biri hem grubu ve bir nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) molekülü bulundurur (Karabulut ve Gülay, 2016). CAT özellikle karaciğer peroksizomlarında bulunur. CAT enziminin eksikliği halinde çeşitli hastalıkların oluşabileceği belirtilmiştir (Aslankoç ve ark., 2019).

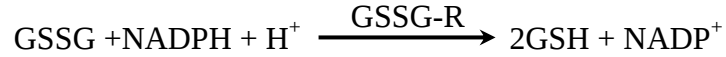


2.11.4. Glutasyon S-transferaz

Glutasyon S-transferaz (GST), oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı savunma sistemi olarak görev yapan bir enzimdir. Hücrenin temizlenmesi fizyolojik ve ksenobiyotik maddelerin uzaklaştırılması gibi çok yönlü bir enzimdir. GST'nin serbest radikallere karşı savunma özelliğini yitirmesi DM ve onun komplikasyonlarını beraberinde getirmektedir (Karkucak ve ark., 2014).

2.11.5. Glutasyon redüktaz

Glutasyon redüktaz (GR), Yapısında adenin dinükleotid bulunduran flavoprotein bir enzimdir. GR NADHP ile tepkimesinden bir elektron kopararak tekrar GSH dönüşmesini sağlar. Böylelikle NADPH serbest radikalının oluşturacağı hasarın önüne geçilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).



2.11.6. Redükte glutasyon

Non-enzimatik bir molekül olan GSH vücut için oldukça önemli bir antioksidandır. Serbest oksijen radikallerini temizleyerek oksidatif stresin getireceği zararlı etkilere karşı koruyucu görevi görür (Dogan ve Celik, 2012).

2.12. Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikaller doymamış yağ asitlerin çift bağ pozisyonuna saldırarak hücre membranında lipid hasarına yol açmaktadır. Lipid peroksiasyonu sonucunda majör ürün olan malondialdehit (MDA) ve bazı ürünler oluşur. MDA, tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girdikten sonra lipid peroksitlerini ölçmek için membran hasar biyomarkırı olarak kullanılmaktadır (Ullah ve ark., 2016). DM, vücudun lipit profilinde, hücreleri lipit peroksidasyonuna daha duyarlı hale getiren rahatsızlıkların oluşmasına sebep olur (Pérez-Matute ve ark., 2009). Yapılan pek çok çalışmada DM hastalarında MDA artışının olduğu belirlenmiştir (Arya ve ark., 2014; Dogan ve ark., 2015).

2.14. Diyabet ve Biyokimyasal parametreler

DM ile oksidatif stres arasında yakın bir ilişki olduğu bilinmektedir. DM hastalarında ROS artışı ile beraber dokuya spesifik enzimlerin dolaşıma sızmasına sebep olmaktadır (Dogan ve ark., 2015). Ayrıca, DM lipid profili parametreleri üzerinde de olumsuzluklara sebep olmakta ve artan düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL_c) oksidasyonu ile beraber akut miyokard infarktüsünü tetiklediği bilinmektedir (Cakmak ve ark., 2008). Aspartat aminotransferaz (AST) organa özgü bir enzim olup

karaciğer, kalp ve iskelet kasında fazlaca bulunmaktadır. Bazı karaciğer ve kalp hastalıklarında AST değeri yüksek olur (Çambay, 2011). Alanin aminotransferaz (ALT) transferaz enzim grubunda yer alan bir enzimdir. Karaciğer hücre harabiyetini gösteren testlerden biridir. DM, karaciğer ve kalp hastalıkları gibi durumlarda hücreden dolaşıma sızan doku harabiyet parametrelerinden biridir (Doğan ve Çelik, 2016). Laktat dehidrogenaz (LDH) dokuya özgü bir enzimdir. Laktik ve pruvik asidin birbirlerine dönüşümlerini çift yönlü olarak sağlar. Kalp ve karaciğer hastalıklarının tanısında kullanılır. Vücut hücre ve sıvılarının neredeyse tamamında, kalp kası, iskelet kası, karaciğer, böbrek ve eritrosit de yoğun olarak bulunur. LDH'ın dolaşımdaki artışı doku harabiyet indikatörü olarak yararlanılır (Ayhan, 2016). Alkalen fosfataz (ALP) özellikle karaciğer ve kemik hastalıklarında yararlanılan bir enzimdir. Karaciğer, kemik, plasenta, böbrek ve ileal mukozada yoğun olarak bulunmaktadır. ALP değerinin yüksek olması karaciğer ve kemikten ileri gelmektedir. DM hastalığında, hamile kadınlarda, çocuklarda ve 40-65 yaş arası yetişkinlerde ALP yüksekliği görülebilmektedir (Savaş, 2014). Kreatinin böbrek hasar biyomarkırlarından biridir. Kreatin, vücudun enerji artırımı için gerekli olan kreatinin fosfata dönüşür (İbiş ve Yılmaz, 2006). Böbrek fonksiyonlarının bakılmasında önemlidir (Duman ve Erden, 2004). Suda çözünen ve böbrek yolu ile idrardan atılabilen üre, protein metabolizmasında amonyağın detoksifikasyonu sonucu oluşur. Laboratuvar testlerinde üre yerine kan azotu kullanılmakta ve ürede azot miktarı bakılmaktadır (Duman ve Erden, 2004). Ürenin artması ve azalması birtakım hastalıkların teşhisinde yararlanılır. Artması böbrek hastalığı, azalması ise gebelik, ileri karaciğer hasarı, malabsorbsiyon bozuklukları gibi hastalıklara yol açar (Wolf, 1999). Glukoz ve glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) parametreleri DM tanısında en belirgin indikatör parametrelerdir. HbA1c DM hastalarında uzun süreli glisemik kontrolünün sağlanması ve komplikasyon olma ihtimalinin belirleyen önemli testlerden biridir. Kronik kompliksasyonların önüne geçilmesi veya azaltılması için HbA1c değerinin % 7'nin altında tutulması gerektiği savunulmaktadır. ADA tarafından, HbA1c DM teşhisinde kullanılan bir tanı yöntemi olduğunu belirtmiştir (Güven ve ark., 2011). Lipid profili parametreleri DM ve kronik hastalık durumlarında bakılması elzem olan parametrelerdir. Trigliserit, kolesterol ve LDL_c düzeyi DM hastalarında genellikle artmaktadır (Dogan ve ark., 2015). Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL_c) düzeyi ise düşmektedir. Dolaşımda artan

trigliserit, kolesterol ve LDL_c düzeyleri kardiyovasküler hastalarında kalp krizi ve ölümle sonuçlanabilmektedir (Cakmak ve ark., 2008; Agirman ve ark., 2020).

İnsülin molekül ağırlığı 6000 Dalton olup 21 amino asitlik A zinciri ile 30 amino asitlik B zincirinden oluşan bir polipeptittir. Pankreasta langerhas adacıkları tarafından sentezlenen insülin hormonu, dolaşımdaki fazla glukozu hücreye alımını gerçekleştirerek kan glukoz seviyesini düzenler. Pankreas bezinin langerhans adacıklarındaki β -hücrelerinin zarar görmesi insülin salınım bozukluğuna yol açar. Yetersiz insülin salınımı dolaşımdaki kan glukoz düzeyinin yüksek kalmasına ve sonuçta DM ve DM ile ilişkili bozuklukların gelişmesine sebep olur (Doğan ve Çelik, 2016).

C-Peptid pankreas adacıklarının β -hücrelerinde sentezlenen 31 amino asitten oluşan bir polipeptiddir (Poteryaeva ve Usynin, 2021). İnsülin üretimi sırasında yan ürün olarak ortaya çıkar (Doruk, 2019). İnsülin ile birlikte salgılanır ama yarılanma ömrü insülininden daha yüksektir. Hiperglisemi ve hipogliseminin belirlenmesinde yardımcı olur. β -hücre kaybını belirtmede ve dışarıdan insülin alımında oluşacak hipoglisemiyi belirlemede önemlidir (Poteryaeva ve Usynin, 2021).

2.8. *Cyanus depressus*

Cyanus cinsi bilim dünyasına ilk kez İskoç kökenli İngiliz botanikçi Philip Miller tarafından 1754 yılında “The Gardener’s Dictionary” isimli eser ile tanıtılmıştır. Daha sonra İsviçreli botanikçi Augustin Pyramus de Candolle 1838 yılında “Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis” isimli eserin 6. cildinde bu cinsi *Centaurea* cinsinin bir seksiyonu olarak belirtmiştir. Günümüzde *Cyanus* grubunu bir cins olarak kabul eden birçok bilim insanının yanında (Hellwig, 2004; Bancheva ve Greilhuber, 2006; Olšovská ve ark., 2016). *Centaurea* cinsi içerisinde bir altcins (Hilpold ve ark., 2014) veya *Centaurea* cinsi içerisinde bir alt grup (Garcia-Jacas ve ark., 2001) olarak kabul eden araştırmacılar da mevcuttur. *Cyanus* cinsi Avrupa’nın orta ve güney bölgeleri, Afrika’nın kuzeyi, Anadolu’nun tamamı, Kafkaslar, İran ve Afganistan’da yayılış göstermektedir (Dostál, 1976; Wagenitz ve Hellwig, 1994; Czerepanov, 2001). Şirin’in aktardığına göre *Cyanus* grubu dünyada 40 tür ile, Türkiye’de 8’i endemik olmak üzere 21 takson ile temsil edilmektedir. *Cyanus depressus* (M.Bieb.) Soják

taksonu bilim dünyasına ilk kez Friedrich August Marschall von Bieberstein tarafından *Centaurea depressa* ismi ile tanımlanmıştır (Bieberstein, 1808). Daha sonra takson Jiří Soják tarafından *Cyanus* cinsine aktarılmıştır (Soják, 1972). *Cyanus depressus* taksonu ülkemizin güneydoğusu hariç diğer bütün bölgelerinde yayılış göstermektedir. (Şirin, 2018).



Şekil 2. *Cyanus depressus* görseli

Tarançı ve ark.'ya (2016) göre *Centaurea depressus* bitkisi ile elde edilen su ve metanol ekstraktları ile kolon kolorektal adenokarsinom (Caco-2) hücre hatları üzerindeki apoptotik ve antioksidan aktivitelerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Hazırlanan ekstraktlar ile toplam antioksidan kapasite belirlenmeye çalışılmış ve SOD aktivitesi ölçülmüştür. Çalışma ile *Centaurea depressus*'un Caco-2 kanser hücreleri üzerinde antioksidan etki gösterdiği ve çalışmada kullanılan ekstraktların biyoaktif bileşenlerinin tümör önlemede ve kanser ilaçları çalışmalarına katkı sağlayabileceği belirtilmiştir.

Jafari-Sales ve ark. (2019), *Centaurea depressus*, *Reseda lutea* ve *Fumaria asepal* bitkilerinin antibakteriyel etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. 50-400 mg/ml'lik konsantrasyonlarla hazırlanan ekstraktlar agar ve disk difüzyon yöntemleri ile bakteri üzerinde çalışmışlardır. Seyreltme testleri ile minimum bakterisidal konsantrasyon ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC/MBC) belirlemeye

çalışmışlardır. Patojenik bakteriler üzerinden *in vitro* olarak çalışılan bu deneyde bitkilerle hazırlanan ekstraktların bakteriler üzerinde inhibitör etkisinin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Ünlü ve ark. (2012), *Centaurea depressus*'un antibakteriyel etkisini ve Caco-2, HT29 ve HeLa kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Sitotoksik aktivitelerinin esas alındığı bu çalışmada antiproliferatif etkinin belirlenmesi için trypan blue assay yöntemini kullanmışlardır. Genotoksik etki ise comet yöntemi ile belirlenmiştir. Su ve metanol ekstraktları kullanılarak yapılan bu çalışma bitkinin kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği insan gingival fibroblast hücre hattı üzerinde ve lenfosit hücre üzerinde sitotoksik ve genotoksik etki göstermediği belirtilmiştir. Bu çalışmada, ayrıca bitkinin su ekstraktında HT29 kanser hücreleri üzerinde önemli bir etki gösterdiği tespit edilmiş olup, genetik hasarı önleyici özelliğinden dolayı anti kanser ajan olarak önerilebileceği rapor edilmiştir.

Babaoğlu Aydaş ve ark. (2016), Flavonoid bakımından zengin bir bitki olan *Centaurea depressa*'nın fenilalanin amonyak liyazın (PAL) biyokimyasal analizini amaçlamışlar. Çalışmada, *Centaurea depressa* bitkisinin PAL enzim aktivitesinin yüksek ve farklı çevre koşullarında kaybolmayan, fenilketonürlü hastalar için diyet gıdalarının ve biyoteknolojik ürünlerin geliştirilmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Taranç (2014), *Tanacetum albipannosum*, *Achillea* sp ve *Centaurea depressus* bitkilerinden elde edilen su ve metanol fraksiyonlu ekstraktların HT-29, Caco-2 ve HeLa kanserli hücre hatları üzerinde antioksidan, antikanserojenik ve anti-apoptotik etkilerinin rapor edildiği çalışmada, *Centaurea depressus* bitki ekstresinin antikanser ajan olarak kullanmada kolaylık sağlayacağı ve antikanser mekanizmalarının belirlenmesi ile koruyucu ve tedavi edici ilaçların gelişiminde katkılar sağlayacağını belirtmiştir.

Rafiee ve ark. (2014), *Centaurea cyanus* bitkisinden izole edilen seskiterpen lakton, diterpen ve fenolik bileşiklerin MCF-7 ve EJ-138 insan meme ve mesane kanser hücre hatları üzerinde güçlü inhibitör etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Rahimi-Madiseh ve ark. (2016), *Centaurea cyanus* etanolik ekstresi (400 ve 800 mg/kg) diyabetik rat böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiği, kan glukoz düzeyini düşürdüğü ve böbrek lezyonlarını histolojik olarak önemli oranda engellediğini bildirmişler.

Mobaiyen ve ark. (2015), *Centaurea cyanus* çiçeğindeki esansiyel yağ asitlerinin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Escherichia coli* bakteri suşları üzerinde antibakteriyal etkiye sahip olduğunu ve enfeksiyon hastalıklarında sentetik bir ilaç potansiyeli olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Hazırı ve ark. (2017), *Centaurea cyanus* çiçeğinde elde edilen metanol, etil asetat, aseton, dietil eter, su ve kloroform fraksiyonlu ekstraktların *S. aureus*, *E. coli* ve *L. monocytogenes* üzerinde antibakteriyal etkileri mühtemelen içerdikleri flavonoid, fenol, terpen ve alkaloidler sayesinde olabileceğini bildirmişlerdir.

Escher ve ark. (2018), *Centaurea cyanus* yapraklarında optimize edilmiş sulu ekstraktta (LC-ESI-MS/MS) ana bileşiklerin klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve p-kumarik asit, izo-kersitrin ve kumarin olduğunu belirlemişler. Aynı çalışmada, bahsedilen maddelerin lipid peroksidasyon inhibisyonu, antioksidan aktivite, anti-hemolitik aktivite, antimikrobiyal, antihipertansif, sitoprotektif etki ve hücre içi reaktif oksijen türlerinin süpürücü etkilerinin olabileceğine dikkat çekmişler.

Lokovandt ve ark. (2019), *Centaurea cyanus* bitkisinin yenilen kısımlarındaki (çiçek) tokoferoller, organik asitler ve apigenin türevleri (esas olarak apigenin-7-O-glukuronid-4'-O-(6-O-malonil glukozit) yenilmeyen kısımlara göre daha çok olduğunu belirtmişler. Bitki içeriğinin antioksidan ve antihemolitik etkisinin rapor edildiği çalışmada, genel olarak, ekstraktların Gram pozitif bakterilere karşı daha aktif olduğu ve tümör olmayan karaciğer PLP2 hücrelerine karşı sitotoksositeye sahip olmadığını belirtmişler. Ayrıca, bitki çiçeğinin potansiyel bir doğal siyanidin bazlı renklendirici kaynağı olabileceğini ve bitkinin alt kısımlarının ise farklı gıda veya farmasötik formülasyonlarda kullanılabilecek biyoaktif özelliklere sahip olabileceğini iddia etmektedirler.

Mirzaie ve Karizi (2016), *Centaurea cyanus* ekstraktının fitokimyasal bileşenlerini, antioksidan, anti-tümör ve anti-bakteriyel aktivitelerini araştırdıkları çalışmada n-heksadekanoik asit ve linoleik asitin majör bileşikler olduğunu bulmuşlar. Aynı çalışmada, Real-time PCR sonuçlarına göre kolon kanseri hücre hattında Bax ve Bcl2 ekspresyon seviyesinin sırasıyla önemli ölçüde arttığını ve azaldığını, ekstraktın önemli anti-bakteriyel ve anti-kanser etkileri olduğunu ve ilaç endüstrileri için potansiyel kullanımları olduğunu belirtmişler.

Pires ve ark. (2018), *Centaurea cyanus* bitki çiçeği ekstresinin tümör hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivite ve antibakteriyel etkilerin belirlendiği çalışmada, bitkideki koruyucu etkilerin içermiş olduğu fenolik bileşik miktarıyla ilişkili olduğunu ve gıda endüstrisi alanında potansiyel bir kaynak olabileceğini rapor etmişler.

Koca ve ark. (2009), *Centaurea iberica* çiçeğinden elde ettikleri heksan, kloroform, etilasetat ve sulu metanol ekstraktları ile hazırlanan formülasyonun fare ve sıçan yara modeli üzerinde biyokimyasal ve histopatolojik olarak iyileştirici etkisinin olduğunu belirtmişler.

Özcan ve ark. (2019), *Centaurea hypoleuca* toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol, metanol ve etil asetat ekstraktlarının alzheimer (kolinesteraz) ve DM (glukosidaz ve amilaz) tanı testlerinde antioksidan, antimikrobiyal ve enzim inhibitör etkisinden dolayı ilaç potansiyelinin olabileceğini belirtmişler.

Zater ve ark. (2016), *Centaurea diluta* çiçeği ekstresinin insan akciğer kanser hücre hatlarında antisitotoksik, antifungal ve antimikrobiyal etkisinin olduğunu rapor etmişler.

Zengin ve ark. (2018), *Centaurea saligna* bitkisinden hazırlanan etil asetat, metanol ve su ekstraktlarındaki fitokimyasal bileşiklerin enzim inhibitör ve antioksidan potansiyeli sebebiyle tip T2DM, Alzheimer hastalığı ve epidermal hiperpigmentasyon hastalıkları ve komplikasyonların yönetiminde etkili olabileceğini rapor etmişler.

Khanavi ve ark. (2012), İndometazin ile peptik ülser oluşturulan ratlarda *Centaurea bruguierana* çiçeğinden elde ettikleri farklı fraksiyon ekstraktlarının

farmakolojik ve histolojik sonuçlarına göre peptik ülserle karşı önleyici aktiviteye sahip olduğunu kanıtlamışlar.

Yırtıcı (2019), Önemli fenolik ve falovonid içeriğe sahip *Centaurea fenzlii* Reichardt bitkisi etanol ekstresinin kolinesteraz, α -amilaz, α -glukozidaz ve tirozinaz enzimlerine karşı inhibe edici, süperoksid radikal temizleyici ve antioksidan rolünün olabileceğini bildirmiştir.

Dereli ve ark. (2020), *Centaurea kurdica* Reichardt çiçek metanol ekstresinde kuersitrin, izokersetin ve naringenin-7-O-glukopiranozid maddeleri izole edilirken yaprak ekstresinde ise β -amirin, β -sitosterol, stigmasterol bileşiklerin olduğunu belirlemişler. Aynı çalışmada, elde edilen fitokimyasal bileşiklerin mekanik ve toksisite çalışmaları sonucunda depresif hastalar için bir umut ışığı olabileceği belirtilmiştir.

Çelikezen ve ark. (2019), *Cantaurea behen* bitkisi uçucu yağının insan kan hücreleri kültürleri üzerindeki sitotoksik ve oksidatif etkilerinin belirlendiği çalışmada, *Cantaurea behen* uçucu esansiyel yağının kültürlenmiş insan tam kan hücreleri üzerinde sitotoksik ve oksidan etkiye sahip olabileceği belirtilmiştir.

Csupor ve ark. (2010), *Centaurea sadleriana* janka metanol özütünün n-heksan fraksiyonu rat yara iyileşme sürecini önemli ölçüde hızlandırdığı ve halk sağlığında yararlı etkilerinin olabileceğini rapor etmişler.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Bitkisel materyal

Çalışmada *Cyanus depressus* (Gökbaş, Yatık gökbaş; Acımık, Peygamber çiçeği) bitkisinin çiçek kısımları kullanıldı. Bitki Van Tuşba ilçesi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi kampüsünden Mayıs 2020’de toplandı. Güneşten korunarak gölgede kurutulan bitki, teşhis için bir örnek alınarak Arş. Gör. Dr. Hüseyin EROĞLU tarafından teşhis edildi. Teşhis sonrası bitkinin *Cyanus depressus* (M. Bieb) Soják olduğu rapor edilerek 165168 nolu kayıt numarasıyla Van Fen Fakültesi Herbaryumu (VANF)’nda kayıt altına alındı.

3.1.2. Deney hayvanı (Sıçan)

Çalışmada Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 2-3 aylık, 180-350 g ağırlığındaki 35 adet erkek *Wistar albino* ırkı sıçan kullanıldı. Sıçanlar 25 ± 2 °C oda sıcaklığında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık periyodunda standart plastik kaplarda *ad libitum* (istenildiği kadar) olarak beslenmeleri sağlandı. Yapılan çalışmada parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındı.

3.1.3. Analizlerde kullanılan cihazlar ve malzemeler

AE-S90-MD UV/VIS spektrofotometre, NÜVE NF 1200R soğutmalı santrifüj, ISOLab LS-EJ-320AB hassas terazi, JSWB-22T sıcak su banyosu, WTW İmolab pH 7110 pH metre, WiseMix VM-10 vorteks, Eppendorf plus mikro pipet, Ultrasonik homojenizatör (SONOPULS HD 2200, Bandelin, Berlin, Germany), Vestel derin dondurucu, Wisecryo difiriz (-80 °C), Kross saf su cihazı, Rotary mikrotom (H315, Mikrom GmbH, Almanya), Mikroskop (Leica DMI 6000B model), enjektör, falkon 50 mL plastik tüp, EDTA’lı ve Biyokimya tüpleri, diseksiyon seti, kurutma kâğıdı.

3.1.4. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler

Bovin serum albumin (Sigma, A2153-10G), Beta Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), Coomasie Blue G, Etil alkol (Sigma, Cas no:64-17-5), Metafosforik asit (HPO_3), Tiyobarbitürik asit (TBA), Trikloro asetik asit (TCA), 1.1.3.3.tetraethoksiopropan (MDA), Askorbik asit, Demir II sülfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Okside glutasyon (GSSG), Redükte glutasyon (GSH), 5-5'-Ditiobis 2- nitrobenzoik asit (DTNB), Hidroksi metil amino metan (Tris), Hidroklorik asit (HCl), Sodyum klorür (NaCl), Sodyum hidroksit (NaOH), Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), Sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4), Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), Coomasie Blue G, Hidrojen peroksit (H_2O_2), Ketamin (%10 luk), Formaldehit, Ksilen, Parafin, Hematoksilen, Eozin.

3.2. Yöntem

3.2.1. Etanol bazlı liyofilize ekstrakt hazırlanması

Liyofilize ekstre Dogan ve ark.'a (2018) göre hazırlandı. Özetle; toprak, toz ve haşerelerden temizlenmiş bitki numuneleri gölgelik laboratuvar ortamında iyice kurutulmaları sağlandı. Kuruyan çiçek kısımları blender yardımı ile toz haline getirildikten sonra 40 g çiçek toz örneği 1 L % 80 etanol olacak şekilde 2 saat süreyle çalkalayıcıda karıştırıldı. Kaba kurutma kağıdında geçirilen ekstre supernatanları enjektör yardımıyla 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirildi. +37 °C'de evaporatör yardımıyla çözücünden arındırılan yoğunlaştırılmış fraksiyonlar -85 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liyofilizatör cihazında kuruyana kadar bekletildi. Elde edile liyofilize ekstreler deney uygulamasına kadar -20 °C'de saklanarak deneysel uygulamalar için hazır hale getirildi. Deney sırasında daha önce belirlenmiş olan dozlar canlı hayvan ağırlığına göre mg/kg olarak toz ekstre miktarı tartılıp, belirlenen miktarda saf suda çözündürülerek sıçanlara gavaj seti kullanılarak verildi.

3.2.2. Toksisite testi ve dozların belirlenmesi

Toksisite testinde 18 adet *wistar albino* ırkı erkek sıçan 3 gruba ayrıldı. Elde edilen *Cyanus depressus* ekstreleri sıçan ağırlıklarına göre 100 mg/kg, 500 mg/kg ve 1000 mg/kg olacak şekilde 7 gün boyunca günde tek doz olarak gavaj seti kullanılarak

uygulandı. Uygulama sonunda herhangi bir ölüm veya toksik bulguya rastlanılmadı ve çalışmada kullanılacak çalışma dozu (400 mg/kg ekstre) belirlendi.

3.2.3. Streptozotosinle (STZ) sıçanlarda diyabet oluşturulması

Üç hafta sürdürülen çalışmada otuz beş (35) adet hayvan beş eşit gruba (n=7) ayrıldı. Çalışmaya başlamadan önce DM yapılacak hayvanlar belirlendi ve STZ, 0.1 M sitrat tamponu (pH:4.5) içinde çözündürülerek canlı hayvan ağırlıklarına göre 50 mg/kg intraperitoneal (i.p.) uygulanarak DM olmaları sağlandı (Hanalp ve ark., 2021). Uygulama sonrası 72. Saatte glukometre yardımıyla kan glukoz değerleri ölçüldü ≥ 200 mg/dL çıkan hayvanlar DM olarak kabul edildi. Pozitif kontrol grubuna ise DM'li sıçanlara oral olarak antidiyabetik ilaç olan glibenklamid canlı hayvan ağırlıklarına göre 3 mg/kg uygulandı (Agirman ve ark., 2020).

3.2.4. Deneyisel muamele ve grupların oluşturulması

Her grupta 7 tane olacak şekilde otuz beş (35) adet sıçan 5 gruba rastgele dağıtıldı.

(I) Kontrol grubu (n=7): Hayvanlar belirtilen süre boyunca standart yem ve su ile *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışma süresince hayvanlara her gün çeşme suyu gavaj olarak verildi.

(II) CD-400 mg/kg grubu (n=7): Hayvanlar belirtilen süre boyunca standart yem ve su ile *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışma süresince hayvanlara her gün vücut ağırlıklarına göre *Cyanus depressus* (400 mg/kg ekstre) gavaj olarak verildi.

(III) DM grubu (n=7): Çalışmaya başlamadan önce 50 mg/kg STZ (i.p.) ile diyabet yapılan hayvanlar belirtilen süre boyunca standart yem ve su ile *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışma süresince hayvanlara her gün çeşme suyu gavaj olarak verildi.

(IV) DM + CD-400 mg/kg grubu (n=7): Çalışmaya başlamadan önce 50 mg/kg STZ (i.p.) ile DM oluşturulan hayvanlar belirtilen süre boyunca standart yem ve su ile *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışma süresince diyabetik hayvan grubuna

her gün vücut ağırlıklarına göre *Cyanus depressus* (400 mg/kg ekstre) gavaj olarak verildi.

(V) DM + Gly-3 mg/kg grubu (n=7): Çalışmaya başlamadan önce 50 mg/kg STZ (*i.p.*) ile DM oluşturulan hayvanlar belirtilen süre boyunca standart yem ve su ile *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışma süresince, diyabetik hayvan grubuna her gün vücut ağırlıklarına göre 3 mg/kg glibenklamid gavaj olarak verildi. Ayrıca deney boyunca tüm grupların haftalık canlı ağırlık ve kan glukoz değerleri ölçüldü.

3.2.5. Kan ve doku örneklerinin alınması

Deney sonunda sıçanlar anesteziye alındıktan sonra enjektörler yardımıyla gerekli olan kan hayvanların kalbinden alındı. Serumda bakılacak olan biyokimyasal parametreler için kan biyokimya tüplerine aktarılırken; HbA1c değerleri için kan EDTA'lı tüplere aktarıldı.

3.2.6. Doku homojenizasyonu

Derin dondurucuda (-80 °C) bekletilen sıçanların karaciğer, böbrek ve pankreas dokuları buz üzerinde çözünmeleri sağlandı. Ekstraksiyon için 50 mM KH₂PO₄ ve 1 mmol/L EDTA (pH:7.4) içeren tampon kullanıldı (Dogan ve ark., 2018). 500 mg doku tartılarak üzerine 5 mL soğuk tampon eklendi. Dokular cam bagetle iyice ezildikten sonra Ultrasonic Processor homojenizatörde (SONOPULS HD 2200, Bandelin, Berlin, Germany) 3 dakika homojenize edildi. Ekstrakt hemen soğutmalı santrifüj cihazında (+4 °C) 30 dakika 9500 rpm'de santrifüj edildi. Karaciğer, böbrek ve pankreas dokularından elde edilen berrak süpernatantlar enzim tayinleri için kullanıldı.

3.2.7. Total protein tayini

Total protein konsantrasyon tayini için standart olarak sığır serum albümini (BSA) kullanıldı (Bradford, 1976). Protein tayini, proteine bağlanan Coomassie Blue G boya reaktifinin, spektrofotometrik olarak 595 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyonunun ölçülmesi prensibine dayanır. Total protein tayini karaciğer, böbrek ve pankreas dokuları süpernatantlarında bakılan antioksidan enzimler, glutatyon ve MDA parametreleri mg/protein cinsinden ifade edildi.

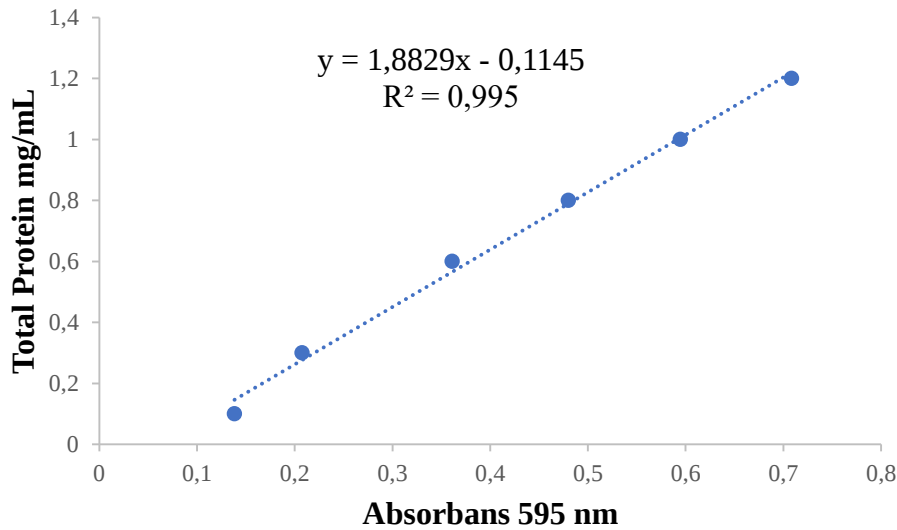
Çözeltiler

1. Konsantre Bradford solüsyonu (5×): 100 mg Coomassie Blue G sırasıyla 50 mL absolüt etanol ve 100 mL ortofosforik asit (% 85) içerisinde çözündürüldü. Daha sonra solüsyon distile su ile 200 mL'ye tamamlandı ve filtre edildi.

2. Bradford çalışma solüsyonu (1×): Yukarıda hazırlanan ve filtre edilen solüsyonun distile su ile 1:5 oranında sulandırılması ile hazırlandı.

Protein Tayin Yöntemi

6 adet standart 10 mg/mL stok BSA'dan seri sulandırmalar yapılarak hazırlandı. Standartlar, örnek ve kör bradford çalışma solüsyonu ile muamele edildikten sonra 20 dk karanlıkta inkübe edildi. 20 dk sonunda 595 nm dalga boyunda spektrofotometre köre karşı sıfırlandıktan sonra örnek ve standartların absorbansı ölçüldü. Standartlara karşılık gelen konsantrasyon-absorbans değerleri ile standart eğri grafiği oluşturuldu. Örneklerdeki total protein konsantrasyonu eğri kullanılarak sonuçlar mg/mL protein olarak ifade edildi.



Şekil 3. Protein standart eğrisi

4.2.8. Redükte glutatyon tayini

İndirgenmiş glutatyonun (GSH), fosfat tamponu kullanılarak 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile süpernatanttaki sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan sarı rengin spektrofotometrik olarak 412 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Beutler ve ark., 1963).

Çözeltiler

1. Fosfat Çözeltisi: 0.3 M disodyum fosfat, distile su ile hazırlandı (pH:6.8).
2. DTNB (Ellman's Ayırıcı): 40 mg DTNB, %1 sodyum sitrat, 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.
3. Standart çözeltileri: Standartlar için 100 µM GSH stok çözeltisi fosfat tamponu içerisinde taze olarak hazırlandı daha sonra stok çözeltisi seyreltilerek 6 adet standart hazırlandı.

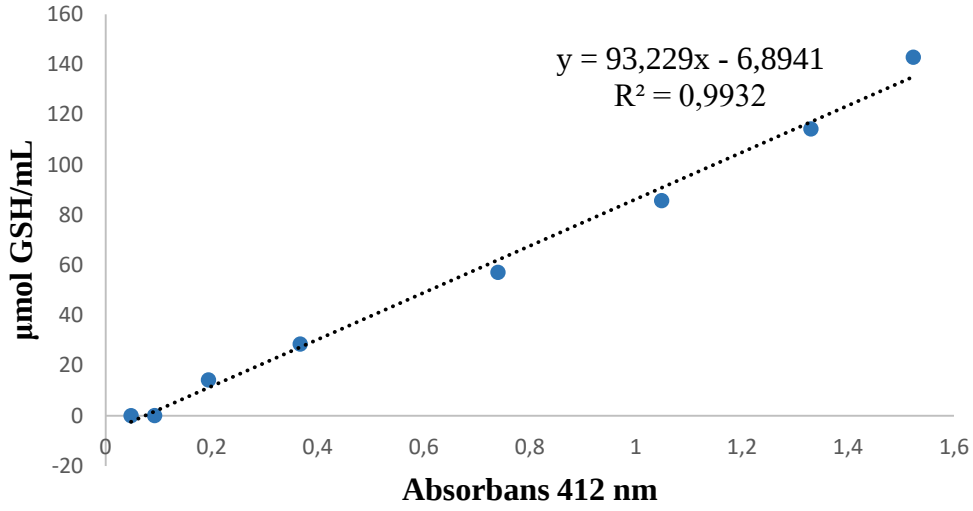
Deneyin yapılışı

Tablo 1. GSH yöntemi

Ayıraçlar	Numune (mL)	Standart	Kör (mL)
Numune	0.2	---	---
Standart	---	0.2	---
Distile su	---	---	0.2
Fosfat Çözeltisi	1	1	1
Tüplere şekildeki gibi pipetleme yapıldıktan sonra vortekslendi. Sonra sıcak su banyosunda 60 °C'de 10 dakika inkübe edildi ve çıkarılarak oda ısısına getirildi.			
DTNB (Ellman's Ayırıcı)	0.2	0.2	0.2
Spektrofotometrede 412 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu.			

GSH standartlarına karşılık gelen absorbans değerlerinden oluşturulan standart eğriye göre karaciğer, böbrek ve pankreas doku süpernatantlarında GSH konsantrasyonu hesaplanarak sonuçlar µmol GSH /mg protein olarak ifade edildi.

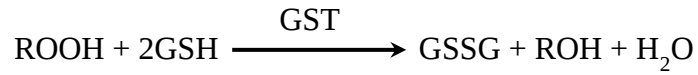
GSH Standart Eğrisi



Şekil 4. GSH standart eğrisi

4.2.9. Glutasyon S-transferaz enzim tayini

Glutasyon S-transferaz, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile glutasyonun –SH grubu arasındaki tepkimeyi katalizler. Enzim aktivitesi 340 nm’de 37 °C’de CDNB ile glutasyon konjugasyon şiddetini ölçerek tespit edilir (Mannervik ve Guthenberg, 1981).



Deneyin yapılışı

Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edilen karaciğer, böbrek ve pankreas doku süpernatantları kullanıldı. Karışımlar Tablo 2’ye göre 3,5 mL’lik küvete pipetlenerek 340 nm’de absorbans ölçümü gerçekleştirildi.

Tablo 2. Karışımların küvete alınması ile GST ölçümün yapılması

	Kör (mL)	Numune (mL)	Son konsantrasyon
PBS	2.7	2.7	0.1 M
Distile Su	0.1	---	---
CDNB	0.1	0.1	1 mM
GSH	0.1	0.1	1 mM
Süpernatant	---	0.1	---

Absorbanslar, 3 dakika boyunca 30 saniyede bir kaydedilerek her örneğin absorbansındaki dk başına değişim (ΔA) belirlendikten sonra GST'nin molar ekstinksiyon katsayısı (9.6 mmol/L/cm) ve küvetteki sulandırma oranı hesaba katılarak, enzimin mL'deki aktivitesi belirlendi. Bulunan değer, örneğin mL'sindeki total protein miktarına bölünerek GST'nin spesifik aktivite değeri hesaplanarak sonuçlar, nmol CDNB-glutatyon konjugatı/dk/mg protein olarak ifade edildi.

4.2.10. Glutatyon redüktaz enzim tayini

Prensip: GR GSSG'nin NADPH tarafından GSH'a indirgenmesini katalize eder. GR aktivitesi (EU), 37 °C'de 340 nm dalga boyunda dakika başına harcanan NADPH miktarından hesaplandı. 5 dakika boyunca ölçülen absorbansın lineer olan kısmı dakika başına hesaplandı ($A = \epsilon \times b \times c$), (Carlberg ve Mannervik, 1985). Enzim aktiviteleri karaciğer, böbrek ve pankreas doku süpernatantlarında ölçüldü. Ve sonuçlar U/g doku olarak hesaplandı.



Analiz materyali olarak daha önce muhafaza edilen karaciğer, böbrek ve pankreas doku süpernatantları kullanıldı. Aşağıdaki tabloda yer alan miktarlar uygun şekilde karıştırılarak ölçüm yapıldı.

Tablo 3. GR karışımların küvete alınması ile ölçümün yapılması

Ölçüm Prosedürü	Kör (µL)	Numune (µL)
Fosfat Tamponu	1500	1500
Homojenat Tamponu	1200	-
β-NADPH 2 mM	150	150
GSSG 20 mM	150	150
Numune (Süpernatant)	-	1200

4.2.11. Katalaz enzim tayini

Prensip: Katalaz, aşağıdaki reaksiyona göre H₂O₂'in suya ve oksijene ayrılmasını katalizler. Katalaz enziminin aktivite tayini, 37 °C 240 nm'de H₂O₂'in tüketilme esasına dayanan spektrofotometrik metoda göre tespit edildi (Aebi, 1974).



Enzim aktiviteleri karaciğer, böbrek ve pankreas doku süpernatantlarında ölçüldü. Katalaz tarafından H₂O₂'in dekompoze olma oranı, spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda ölçüldü. Çünkü H₂O₂, ışığı bu dalga boyunda absorbe etmektedir. Kullanılan solüsyonlar aşağıda tablo 4'deki gibi hazırlandılar.

Tablo 4. Katalaz fosfat tamponun hazırlanışı

Kimyasal	MA	50 mM için	Son Hacim (distile su)	Sol. Adı
KH ₂ PO ₄	136,09 g/mol	6.805g	1000mL	A
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	358,14 g/mol	17.907 g	1000 mL	B ₁
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	178,14 g/mol	8.907 g	1000 mL	B ₂
Na ₂ HPO ₄ (saf)	141,96 g/mol	7.098 g	1000 mL	B ₃

Tablo 5. Katalaz fosfat tampon solüsyonların karıştırılarak hazırlanması

50 mM Fosfat tamponu (1 L)	A Solüsyonu (mL)	B Solüsyonu (mL)
pH 7.5 için	160	840

H₂O₂ çözeltisi ise; absorbanısı 0.500 nm'ye tampon ile ayarlanmış olan H₂O₂'li fosfat tamponudur. Yaklaşık 300 mL, pH 7.50 mM olan fosfat tamponu renkli kaba aktarılır. Spektrofotometre 240 nm'de fosfat tamponuna göre sıfırlanıp renkli kaptaki tampona 10-20 µL hacimlerle H₂O₂ ilave edilir. Optik Dansite (OD) 0.500 nm oluncaya kadar devam edilir ve aralarda karıştırılır.

Deneyin yapılışı: Örnek ve tampon kuvartz küvet içerisine Tablo 6'da belirtilen miktarlarda bırakıldıktan sonra küvetin ağzı bekletilmeden kapatılır ve küvet hızlıca alt-üst edilerek absorbanısı okunur. Absorbans azalması, her 15 sn'de bir defa olmak üzere 5 dakika süre ile kaydedilir ve hesaplamada hesaplamada 2 dakikalık lineer absorbans azalmasının en yüksek (A1) ve en düşük (A2) değerleri esas alınır.

Tablo 6. Katalaz tampon ve örneklerin küvete pipetlenmesi

Tampon	Kör (mL)	Numune (mL)
Fosfat Tamponu	2.99	-
H ₂ O ₂ çözeltisi	0.01	-
H ₂ O ₂ 'li fosfat tamponu	-	2.99
Süpernatant	-	0.01

Enzim aktivitesi hesabı: $A = e \times c \times L$,

A: absorbans/dakika, e: ekstinksiyon katsayısı, c: konsantrasyon, L: ışık yolu (1 cm).

H₂O₂'nin 240 nm'deki milimolar ekstinksiyon katsayısı: 0.0436 mM⁻¹cm⁻¹
(0.0436 mM= 0.0436 mmol/L= 0.0000436 mmol/mL= 0.436 µmol/mL=43.6 nmol/mL)

Katalaz aktivitesi (nmol/dk/mL) = $\Delta A_{43.6} \times \text{Küvet içi sulandırma (Vt/Vö)} \times \text{SO}$

Katalaz spesifik aktivitesi (nmol/dk/mg protein) = $\frac{\text{Katalaz aktivitesi (nmol/dk/mL)}}{\text{Total protein miktarı (mg/mL)}}$

ΔA: Absorbansın 240 nm dalga boyunda dk başına değişimi

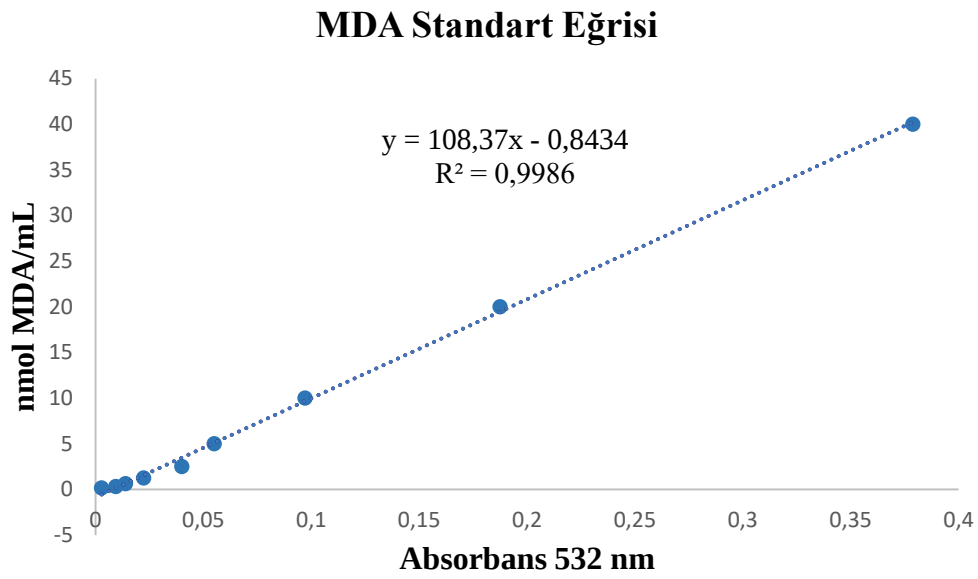
Vt: Toplam hacim

Vö: Örnek hacmi

SO: Süpernatant sulandırma oranı

4.2.12. Malondialdehit tayini

Yağ asitlerinin, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden malondialdehid, tiyobarbitürik asit ile pembe renkli forma girmesi prensibine dayanır (Buege ve Aust, 1978).



Şekil 5. MDA standart eğrisi

Deneyin yapılışı

MDA standart eğrisi için 1.1.3.3.tetraethoksiopropan kullanıldı. Standar eğri şekil 5'teki gibidir.

MDA seviyesi karaciğer, böbrek ve pankreas doku süpernatantlarında tabloda belirtildiği gibi ölçülmüştür.

Tablo 7. MDA Yöntemi

Ayıraçlar	Numune (mL)	Standart (mL)	Kör (mL)
Numune	0.1	---	---
Kör	---	---	0.1
Standart	---	0.1	---
Tris-HCl tamponu (150 mM)	0.1	0.1	0.1
Askorbik asit çözeltisi (1.5 mM)	0.1	0.1	0.1
FeSO ₄ .7H ₂ O (1 mM)	0.1	0.1	0.1
Distile Su	0.6	0.6	0.6
Tüplere şekildeki gibi pipetleme yapıldıktan sonra tüpler karıştırıldı. Pipetlemeden sonra tüpler 37 °C’de 15 dakika inkübe edildi.			
TCA (%10)	1	1	1
TBA Çözeltisi (%0,375)	2	2	2
Tüplere şekildeki gibi pipetleme yapıldıktan sonra tüpler vortekslendi. Tüpler vortekslendikten sonra kaynayan su banyosunda (95 °C) 15 dakika bekletildi.			

İşlem sonrası tüpler 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. 532 nm dalga boyunda tek okuma yapıldı. Sonuçlar standart grafikten (Şekil 5) değerlendirilir.

4.2.13. Serum biyokimyasal parametre tayini

Serumda aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), kreatinin, üre ve glukoz parametreleri ile lipit profili [total trigliserit (TG), total kolesterol (TC) ve HDL kolesterol (HDL-c)] düzeyleri (ARCHITECT 16200, Abbott park, IL 60064 USA) otoanalizatör cihazında Abbott biyokimya kitlerinde fotometrik olarak bakıldı. Serum insülin ve C-peptid okumaları Haznzhou Eastbiopharm Co., Ltd (ÇİN) ticari ELİSA kitlerindeki üreticinin kit kitapçıklarındaki talimatlarına göre yapıldı.

4.2.14. Histolojik prosedürler

Ratlardan dikkatli bir şekilde çıkartılan karaciğer, böbrek ve pankreas dokuları %10’luk nötral tamponlu formaldehit fiksatifi ile 24 saat tespit edildi. Tespit edilen dokular, fosfat tuz tamponu (PBS; 0.01 M, pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra dereceli etanol

(%70, %80, %96 ve absölü) serilerinden geçirilerek, dehidrate edildi. Dokular daha sonra ksilende şeffaflaştırılarak parafine gömüldü. Parafine gömülmüş olan dokuların bloklarından rotary mikrotom (H315, Mikrom GmbH, Almanya) ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Lamlara aktarılan kesitler hematoksilen ve eozin ile boyandıktan sonra, Entellan ile kapatıldı. Preparatlar, mikroskop (Leica DMI 6000B model) ile incelenerek uygun büyütmede fotoğrafları çekildi.

4.2.14.1. Pankreas langerhans adacıklarında morfolometrik ölçümler

Cyanus depressus bitki ekstresinin diyabetik ratlarda, Langerhans adacıklarındaki iyileştirici etkisinin belirlenmesi için, deney gruplarındaki bireylerden (n=7) alınan pankreas kesitlerinde, Langerhans adacığı çap ve alan ölçümleri gerçekleştirildi. Bunun için, deney gruplarındaki her bireye ait olan pankreas kesitinin en az 10 farklı sahasında, mikroskop ile bağlantılı bir kamera (Leica DFC490, Leica Microsystems) kullanılarak, 200× veya 400× büyütmede, fotoğraflar çekildi. Adacık çap ve alan ölçümleri <https://imagej.nih.gov/ij/download.html> internet adresinden indirilebilen, ImageJ 1.46 yazılımından yararlanılarak gerçekleştirildi. Çekilen fotoğraflar yazılıma aktarıldıktan sonra, yazılımın “analiz” eklentisi kullanılarak adacık çap ve alan ölçümleri yapıldı. Adacık çap ve alan ölçümleri, yazılımın kullanıcı rehberi (ImageJ User Guide, version revised edition IJ 1.46r)’nde tarif edildiğı şekilde, analiz eklentisi kullanılarak, gerçekleştirildi. Adacık çap ölçümünde belirlenen kriterler ise, Dra ve ark. (2019) ve Hanalp ve ark. ’ndan (2021) bazı modifikasyonlar yapılarak belirlendi. Kısaca; bir bireye ait olan pankreas kesitindeki en az 10 farklı Langerhans adacığının çekilen resimler üzerinde en ve boy uzunlukları, yazılımın “analiz” eklentisi kullanılarak, ölçüldü. Daha sonra her adacık için belirlenen en ve boy uzunluklarının ortalaması alındı. Bu şekilde, bireyin her adacığı için “ortalama çap uzunluğu” belirlendi. Bireyin her adacığı için elde edilen “ortalama çap uzunluğu” değerlerinin ortalaması alınarak, o birey için “ortalama Langerhans adacık çapı” belirlendi. Gruplardaki her hayvan için belirlenen “ortalama Langerhans adacığı çap değerleri” istatistiksel analizler için kullanıldı. Alan ölçümü için, çap ölçümüne benzer olarak, her bireyin en az 10 farklı Langerhans adacığından çekilmiş olan fotoğraflar, ImageJ 1.46 yazılımına aktarıldı. Kısaca; bir bireye ait pankreas kesitindeki en az 10 farklı Langerhans adacığının alanı ölçüldü. En az 10 farklı Langerhans adacığından elde

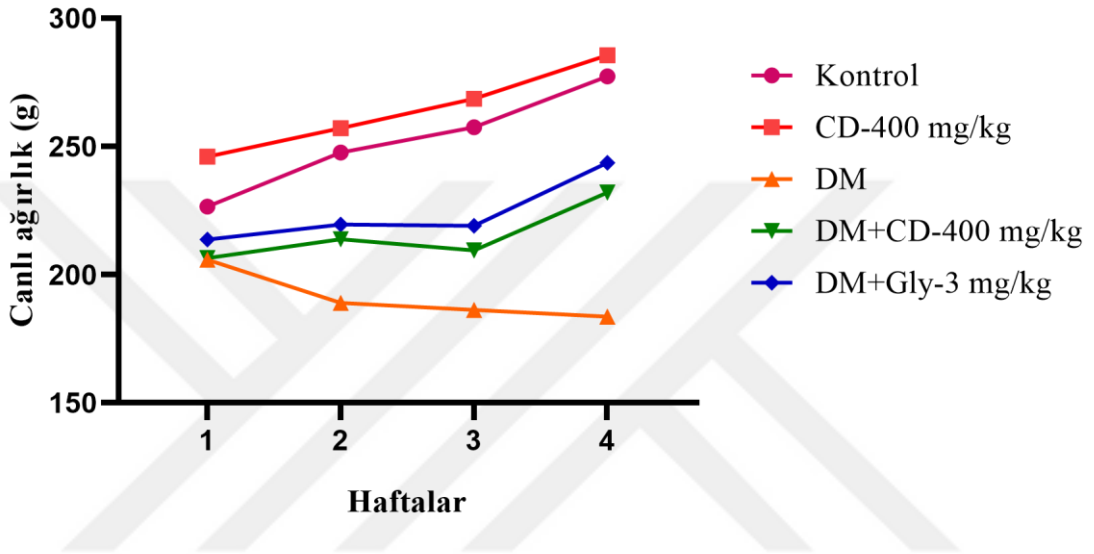
edilen alan ölçüm sonuçlarının ortalaması alınarak, bireye ait olan “ortalama adacık alanı” belirlendi. Her hayvan için “ortalama Langerhans adacığı alan değeri” belirlendikten sonra elde edilen veriler, istatistiksel analizler için kullanıldı.

4.2.15. İstatistiksel analizler

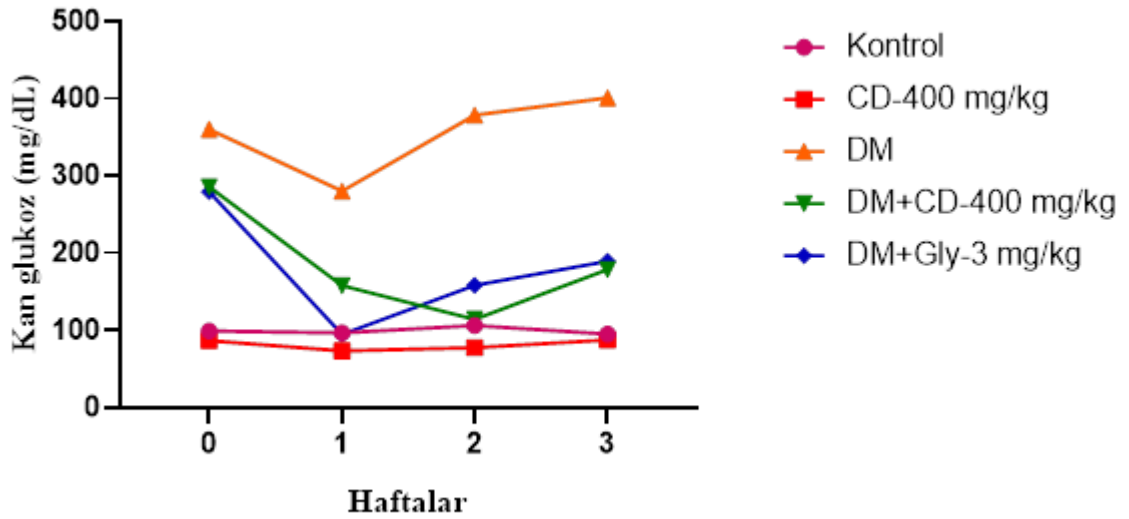
Çalışma sonunda elde edilen gruplara ait tüm veriler Graphpad prism 8 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak, ikiden fazla olan gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey Çoklu karşılaştırma testinden yararlanıldı. Tüm analizlerden elde edilen ham değerler, grupların ortalaması $\pm$ standart hata şeklinde sunuldu. Önem derecesi bütün testler için ($p \leq 0.05$) olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Haftalık canlı hayvan ağırlıkları (CHA) şekil 6’da gösterilmiştir. Kontrol ve DM + CD-400 mg/kg gruplarının son haftaki CHA ağırlıkları başlangıç CHA’ya göre artışı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Diğer gruplarda ise zamana bağlı CHA’da istatistiksel fark bulunmadı.



Şekil 6. Haftalık canlı hayvan ağırlıkları değişimi



Şekil 7. Haftalık kan glukoz değişimi

Tablo 8. *Cyanus depressus* bitki ekstresinin biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi

Parametre	Kontrol	CD-400 mg/kg	DM	DM+CD-400 mg/kg	DM+Gly-3 mg/kg
Glukoz (mg/dL)	133.57 ± 17.68 ^b	136.86 ± 26.35 ^b	513.25 ± 152.81 ^a	250.00 ± 68.80 ^b	208.80 ± 57.88 ^b
HbA1c (%)	4.42 ± 0.21 ^b	4.14 ± 0.43 ^b	7.84 ± 0.32 ^a	5.03 ± 0.27 ^b	4.89 ± 0.31 ^b
AST (U/L)	109.57 ± 13.09 ^c	113.47 ± 15.42 ^c	395.22 ± 98.40 ^a	269.52 ± 67.66 ^b	100.50 ± 29.10 ^c
ALT (U/L)	31.74 ± 3.02 ^c	33.51 ± 8.10 ^c	236.80 ± 48.23 ^a	147.69 ± 33.84 ^b	64.39 ± 14.94 ^c
LDH (U/L)	762.49 ± 109.51 ^{bc}	857.48 ± 139.46 ^{bc}	1.598.91 ± 319.08 ^a	982.75 ± 171.83 ^b	638.08 ± 183.72 ^c
TG (mg/dL)	37.39 ± 3.38 ^a	45.36 ± 9.90 ^a	50.08 ± 15.08 ^a	39.23 ± 11.02 ^a	43.20 ± 9.49 ^a
TC (mg/dL)	68.86 ± 6.72 ^b	70.57 ± 5.03 ^b	49.25 ± 7.11 ^c	62.17 ± 10.30 ^{bc}	84.50 ± 11.04 ^a
HDL (mg/dL)	49.41 ± 4.04 ^{ab}	47.69 ± 5.01 ^b	32.76 ± 7.81 ^c	39.38 ± 7.15 ^{bc}	58.58 ± 7.51 ^a
Kreatinin (mg/dL)	0.50 ± 0.02 ^b	0.50 ± 0.03 ^b	0.58 ± 0.09 ^a	0.56 ± 0.03 ^{ab}	0.49 ± 0.03 ^b
ÜRE (mg/dL)	40.33 ± 4.82 ^b	35.10 ± 6.32 ^b	80.55 ± 18.76 ^a	49.27 ± 8.60 ^b	44.50 ± 10.82 ^b

CD-400 mg/kg; *Cyanus depressus* 400 mg/kg ekstre, DM; Diabetes mellitus, DM + CD-400 mg/kg; Diabetes mellitus + *Cyanus depressus* 400 mg/kg ekstre, DM + Gly-3 mg/kg; Diabetes mellitus + Glibenklamid 3 mg/kg ekstre.

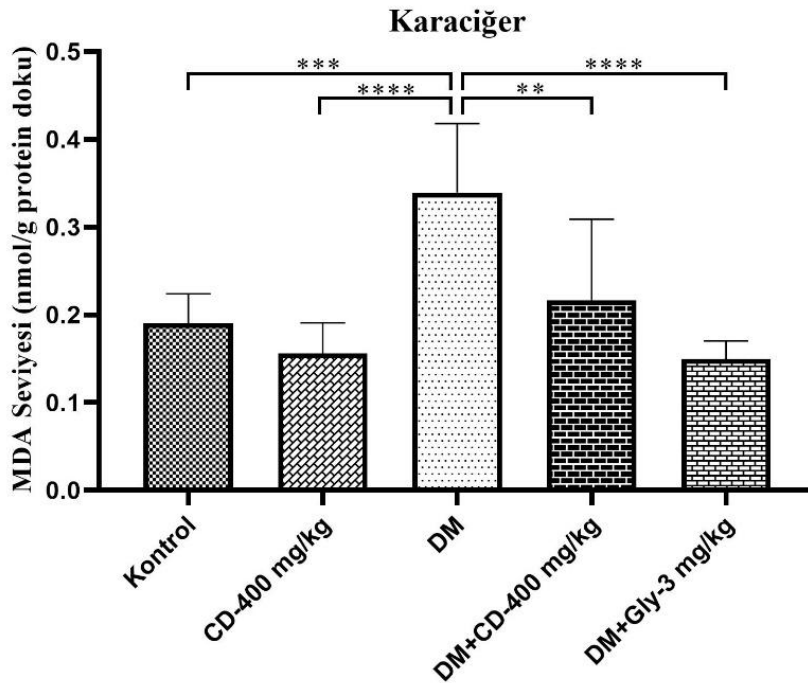
Aynı satırdaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Tablo 8’de görüldüğü gibi, DM grubu glukoz, HbA1c, AST, ALT, LDH, Kreatinin (DM + CD-400 mg/kg hariç) ve ÜRE düzeyleri diğer tüm gruplara kıyasla artışları istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0.05$). Diğer yandan TC düzeyindeki değişim gruplar arası kıyaslamada istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, DM grubu TG ve HDL (DM + CD-400 mg/kg hariç) düzeylerindeki düşüş ise diğer tüm gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

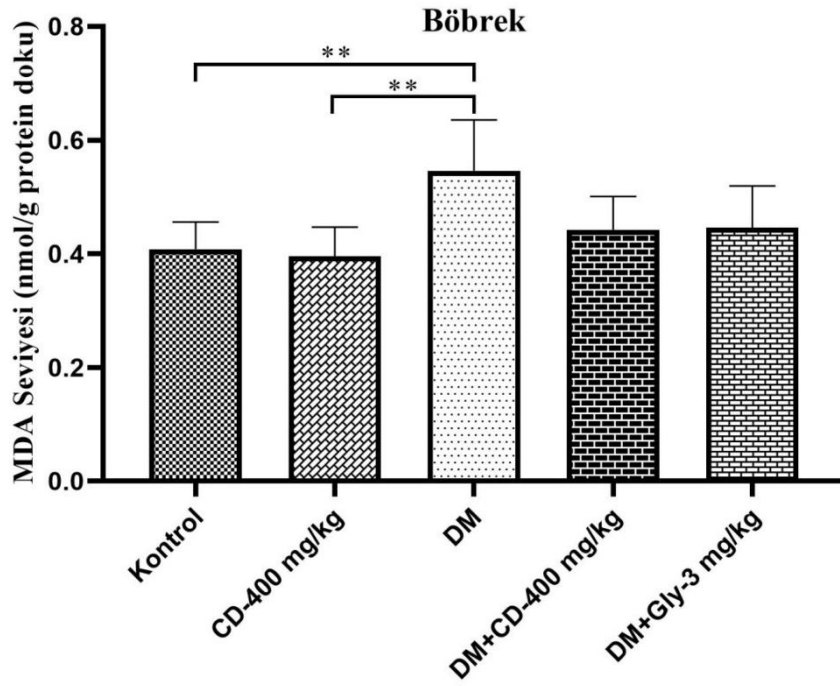
Şekil 8’de görüldüğü gibi karaciğer dokusu MDA içeriği DM grubunda diğer tüm gruplara göre artışı istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Şekil 9’da görüldüğü gibi, böbrek dokusundaki MDA düzeyi DM grubunda Kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarına kıyasla artışı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Diğer grupların birbirleriyle kıyaslanması ise istatistiksel anlamlı bulunmadı.

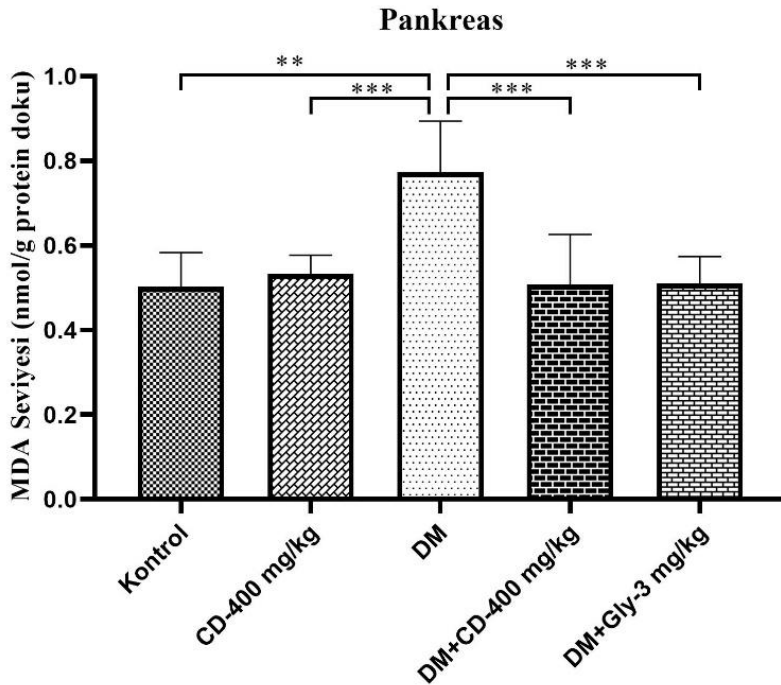
Şekil 10’da görüldüğü gibi, pankreas bezinin MDA içeriği DM grubunda diğer tüm gruplara göre artışı istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$).



Şekil 8. Deneysel gruplara ait karaciğer MDA içerikleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. ****: $p < 0.0001$, ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$



Şekil 9. Deneysel gruplara ait böbrek MDA içerikleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. **: $p < 0.01$

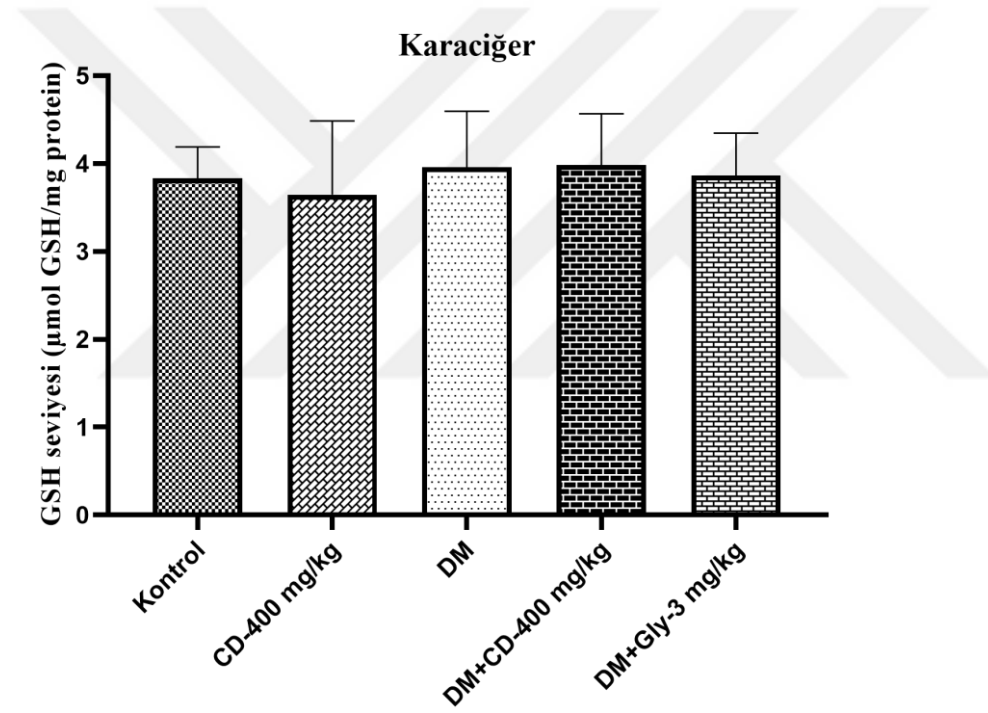


Şekil 10. Deneysel gruplara ait pankreas MDA içerikleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$

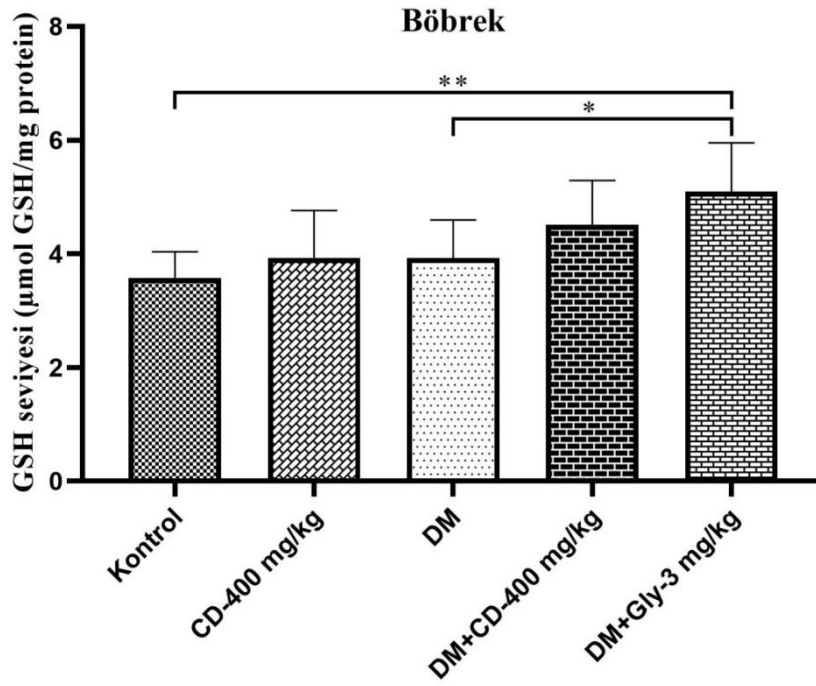
Şekil 11’de görüldüğü gibi karaciğer dokusundaki GSH düzeyi gruplar arası karşılaştırmalarında istatistiksel olarak fark bulunmadı.

Şekil 12’de görüldüğü gibi, böbrek dokusu GSH düzeyi DM + Gly- 3 mg/kg grubunda Kontrol ve DM gruplarına göre artış istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0.05$), diğer grup karşılaştırmalarında ise istatistiksel fark bulunmadı.

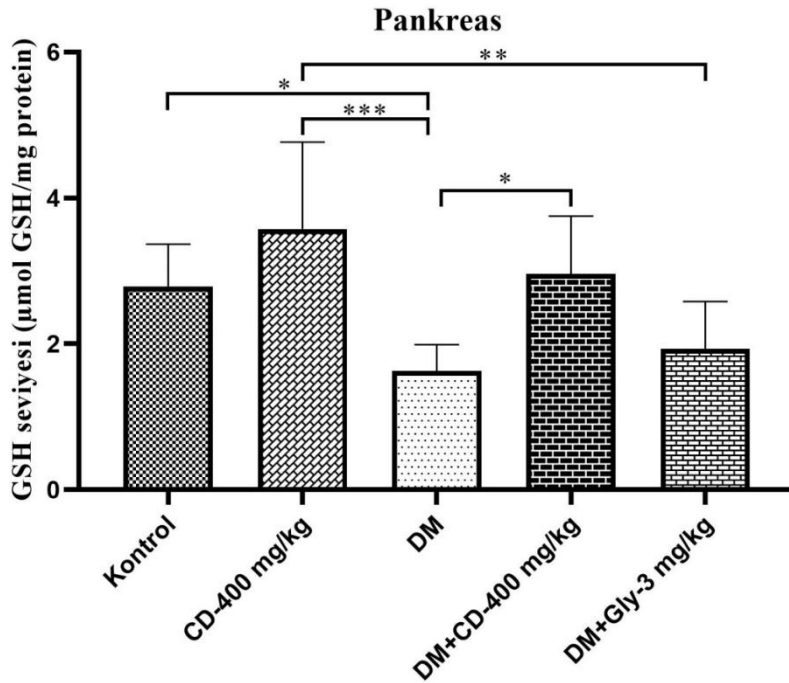
Şekil 13’te görüldüğü gibi pankreas GSH düzeyinin DM grubundaki düşüşü diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).



Şekil 11. Deneysel gruplara ait karaciğer GSH düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.



Şekil 12. Deneysel gruplara ait böbrek GSH düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$.



Şekil 13. Deneysel gruplara ait pankreas GSH düzeyi Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$.

Tablo 9. *Cyanus depressus* bitki ekstresinin çeşitli dokulardaki antioksidan enzim aktivitelere etkisi

Doku	Enzim	Kontrol	CD-400 mg/kg	DM	DM+CD-400 mg/kg	DM+Gly-3 mg/kg
Karaciğer	GST (nmol/g Prt)	2.41 ± 0.57 ^a	1.63 ± 0.43 ^{ab}	1.47 ± 0.30 ^b	2.45 ± 0.97 ^a	1.55 ± 0.15 ^{ab}
	GR (U/g Prt)	1.35 ± 0.22 ^a	1.17 ± 0.22 ^a	1.09 ± 0.12 ^a	1.26 ± 0.31 ^a	1.04 ± 0.08 ^a
	CAT (nmol/g Prt)	3.90 ± 0.39 ^a	2.95 ± 0.82 ^{ab}	2.55 ± 0.60 ^b	3.56 ± 1.01 ^{ab}	2.61 ± 0.34 ^b
Böbrek	GST (nmol/g Prt)	1.95 ± 0.66 ^c	2.56 ± 0.38 ^{bc}	2.55 ± 0.47 ^{bc}	2.98 ± 0.44 ^b	4.01 ± 0.78 ^a
	GR (U/g Prt)	2.23 ± 0.68 ^a	2.08 ± 0.27 ^a	1.57 ± 0.27 ^a	1.78 ± 0.41 ^a	2.26 ± 0.37 ^a
	CAT (nmol/g Prt)	5.55 ± 1.13 ^a	5.25 ± 0.79 ^a	3.53 ± 0.95 ^b	4.77 ± 0.48 ^{ab}	5.01 ± 1.56 ^{ab}
Pankreas	GST (nmol/g Prt)	1.65 ± 0.50 ^{bc}	2.65 ± 0.17 ^a	1.25 ± 0.35 ^c	2.28 ± 0.66 ^{ab}	1.63 ± 0.40 ^{bc}
	GR (U/g Prt)	1.22 ± 0.28 ^b	1.18 ± 0.23 ^b	0.92 ± 0.28 ^b	1.07 ± 0.17 ^b	1.67 ± 0.33 ^a
	CAT (nmol/g Prt)	1.08 ± 0.28 ^a	0.84 ± 0.20 ^a	0.20 ± 0.06 ^b	0.86 ± 0.16 ^a	1.01 ± 0.17 ^a

CD-400 mg/kg; *Cyanus depressus* 400 mg/kg ekstre, DM; Diabetes mellitus, DM + CD-400 mg/kg; Diabetes mellitus + *Cyanus depressus* 400 mg/kg ekstre, DM + Gly-3 mg/kg; Diabetes mellitus + Glibenklamid 3 mg/kg ekstre.

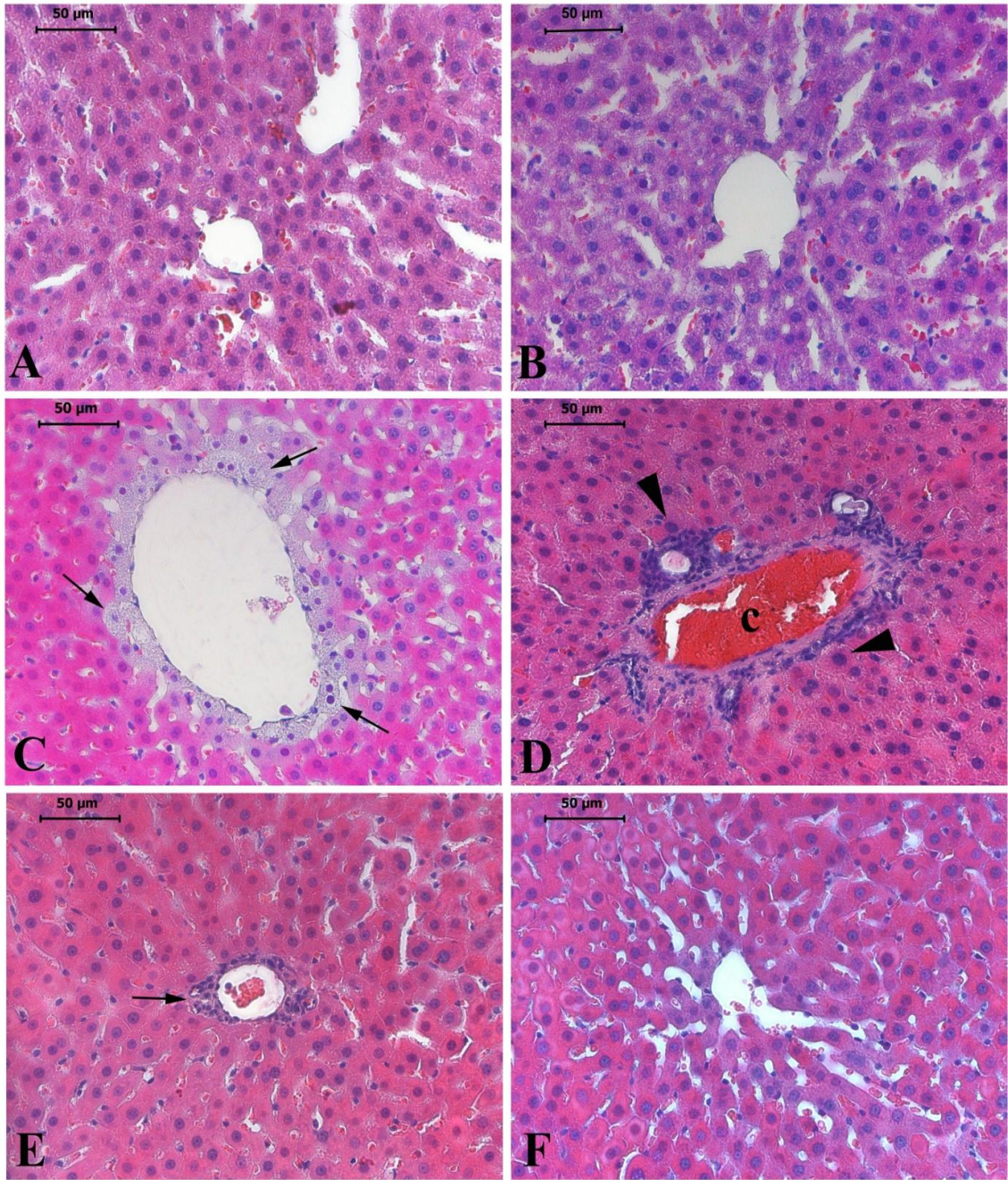
Aynı satırdaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Antioksidan enzim aktiviteleri Tablo 9'daki gibidir. Karaciğer GST aktivitesi DM grubunda Kontrol ve DM + CD-400 mg/kg gruplarına göre azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Benzer şekilde, CAT aktivitesi karaciğer dokusunun DM ve DM + Gly-3 mg/kg gruplarında Kontrol grubuna göre azalması istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$). GR aktivitesinde ise gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel fark bulunmadı.

Böbrek dokusu GST aktivitesi DM + CD-400 mg/kg grubunda Kontrol grubuna göre artışı anlamlı bulundu. Ayrıca, DM + Gly-3 mg/kg grubu böbrek GST aktivitesindeki artış diğer tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Böbrek dokusu CAT aktivitesi DM grubunda Kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş belirlendi ($p < 0.05$). GR aktivitesinde ise gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel fark bulunmadı.

Pankreas bezi GST aktivitesi CD-400 mg/kg grubunda Kontrol ve DM + Gly-3 mg/kg gruplarına göre ve DM + CD-400 mg/kg grubu GST aktivitesi DM grubuna göre artışları istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Pankreas bezinin DM + Gly-3 mg/kg grubunda GR aktivitesindeki artış diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Pankreas bezinin DM grubundaki CAT aktivite kaybı diğer tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarında bulunan ratların karaciğerlerinden alınan ve H&E ile boyanan kesitlerde karaciğer histolojisinin normal görünümde olduğu gözlemlendi (sırasıyla; Şekil 14A ve Şekil 14B). DM grubuna ait ratların karaciğerinde ise hidropik dejenerasyon, portal alanda lökosit infiltrasyonu, lobüler inflamasyon, portal venlerde kongesyon gibi farklı histopatolojik değişimler belirlendi (Şekil 14C ve Şekil 14D). Bazı hepatositlerde ise karyomegali olduğu gözlemlendi (Şekil 14D). DM + Gly-3 mg/kg grubundaki ratların karaciğerlerindeki histopatolojik değişimlerin DM grubundaki ratların karaciğerine kıyasla daha az olduğu tespit edildi (Şekil 14E). DM + Gly-3 mg/kg grubuna benzer olarak DM + CD-400 mg/kg grubundaki ratların karaciğerinde de histopatolojik değişimlerin azaldığı gözlemlendi (Şekil 14F).

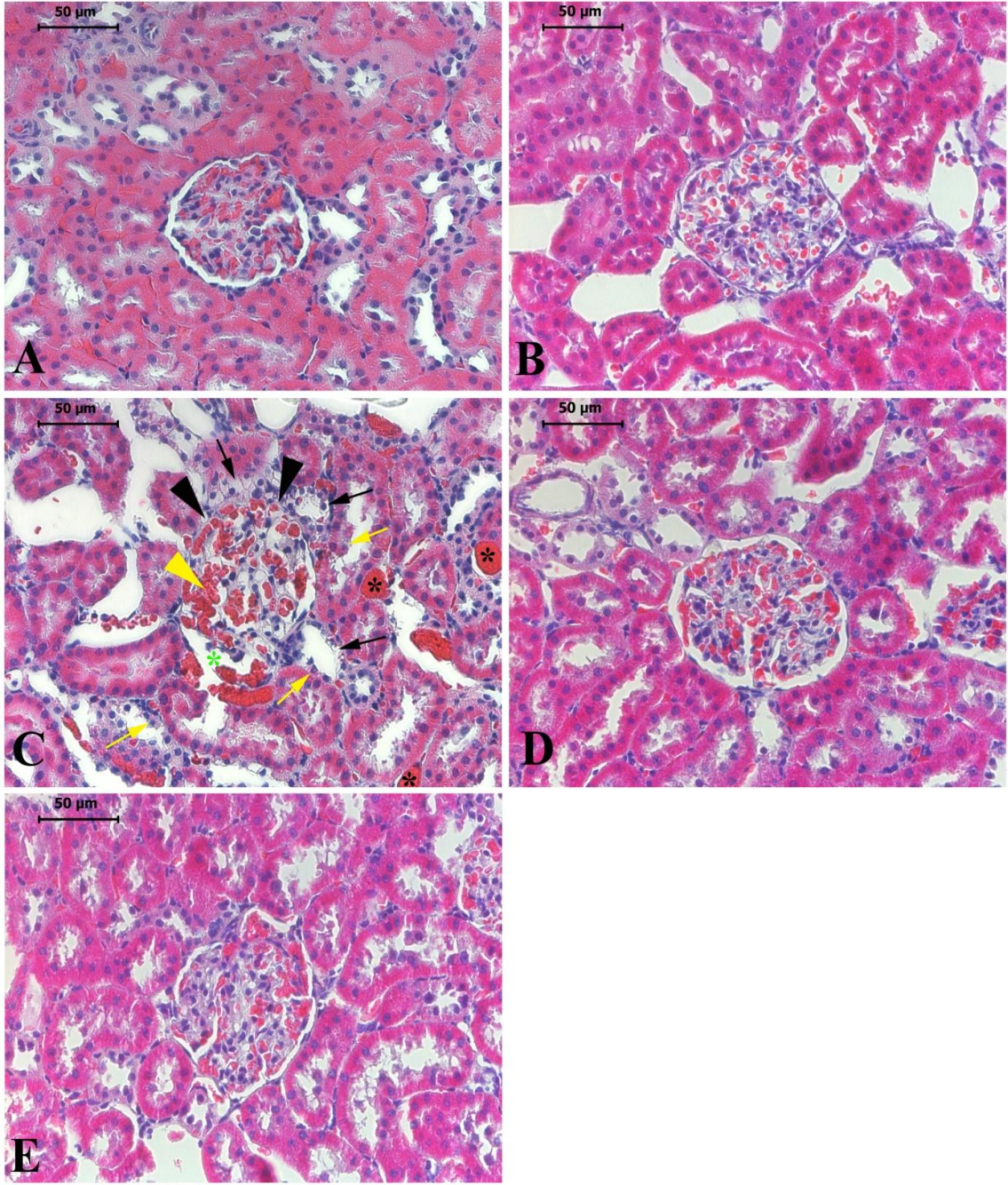


Şekil 14. Farklı grupların karaciğerine ait olan H&E ile boyanmış kesitler. A: Normal histolojik görünüme sahip olan kontrol grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit. B: Normal histolojik görünüme sahip olan CD-400 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit. C: Bazı hepatositlerde hidropik dejenerasyon (oklar)'un gözleendiği DM grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit. D: Portal alanda lökosit infiltrasyonu, karyomegali (ok başları) ve kongesyon (c)'un belirlendiği DM grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit. E: Histopatolojik değişimlerin daha az olduğu DM + Gly-3 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit (ok başı merkezi ven etrafında lökosit

infiltrasyonunu göstermektedir). F: Histopatolojik değişimlerin daha az gözleendiği DM + CD-400 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit.

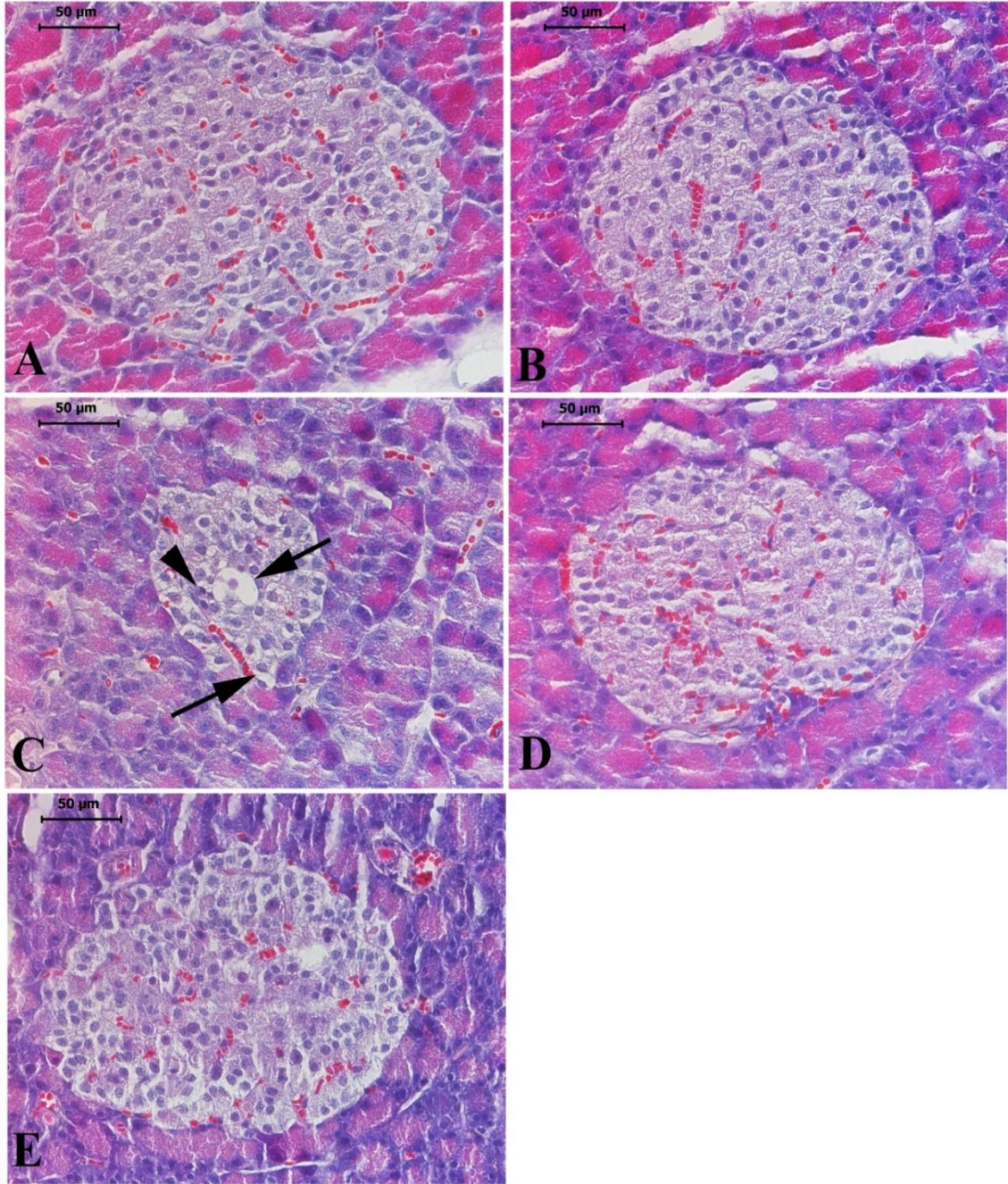
Kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarındaki ratların böbrek histolojisinin normal olduğu gözleendi (sırasıyla; Şekil 15A ve Şekil 15B). DM grubuna ait ratların böbreklerinde yapılan histolojik incelemeler sonucunda tübül epitel hücrelerinde nekrotik değişimler ve hidropik dejenerasyon, tübül lümeninde dilatasyon, glomerular kongesyon, Bowman boşluğunda dilatasyon, bazı Bowman kapsüllerinde adhezyon ve kapillar kongesyon belirlendi (Şekil 15C). DM + Gly-3 mg/kg grubundaki ratların böbrek dokusunda DM grubundaki ratlara kıyasla daha az histopatolojik değişimlerin olduğu gözleendi (Şekil 15D). DM + Gly-3 mg/kg grubuna benzer olarak DM + CD-400 mg/kg grubundaki ratların böbreğinde de histopatolojik değişimlerin azaldığı gözleendi (Şekil 15E).

Kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarındaki ratların pankreaslarından alınan kesitlerde Langerhans adacık histolojisinin normal olduğu gözleendi (sırasıyla; Şekil 16A ve Şekil 16B). DM grubuna ait ratların Langerhans adacıklarının atrofik olduğu ve adacık hücrelerinde nekrotik ve dejeneratif değişimlerin meydana geldiği belirlendi. Adacıklarda bazı hücrelerin çekirdeklerinin yoğun boyandığı ve piknotik özelliğe sahip oldukları, bazı hücrelerde ise hidropik dejenerasyon meydana geldiği tespit edildi (Şekil 16C). DM + Gly-3 mg/kg grubundaki ratların Langerhans adacıklarında, DM grubundaki ratlara kıyasla, daha az histopatolojik değişimlerin olduğu gözleendi (Şekil 16D). Benzer şekilde, DM + CD-400 mg/kg grubundaki ratların Langerhans adacıklarında da histopatolojik değişimlerin azaldığı gözleendi (Şekil 16E).



Şekil 15. Farklı grupların böbreklerine ait olan H&E ile boyanmış kesitler. A: Normal histolojik görünümüne sahip olan kontrol grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit. B: Normal histolojik görünümüne sahip olan CD-400 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit. C: DM grubundaki bir bireyde, nekrotik tübül epitel hücreleri (sarı oklar), hidropik dejenerasyon (siyah oklar), glomerular kongesyon (sarı ok başı), Bowman kapsül boşluğunda dilatasyon (yeşil asterisk), kapıllar kongesyon (siyah asteriskler) ve Bowman kapsülü adhezyonu (siyah ok başları). D: Histopatolojik

değişimlerin daha az olduğu DM + Gly-3 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit. F: Histopatolojik değişimlerin daha az gözlemlendiği DM + CD-400 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan histolojik kesit.

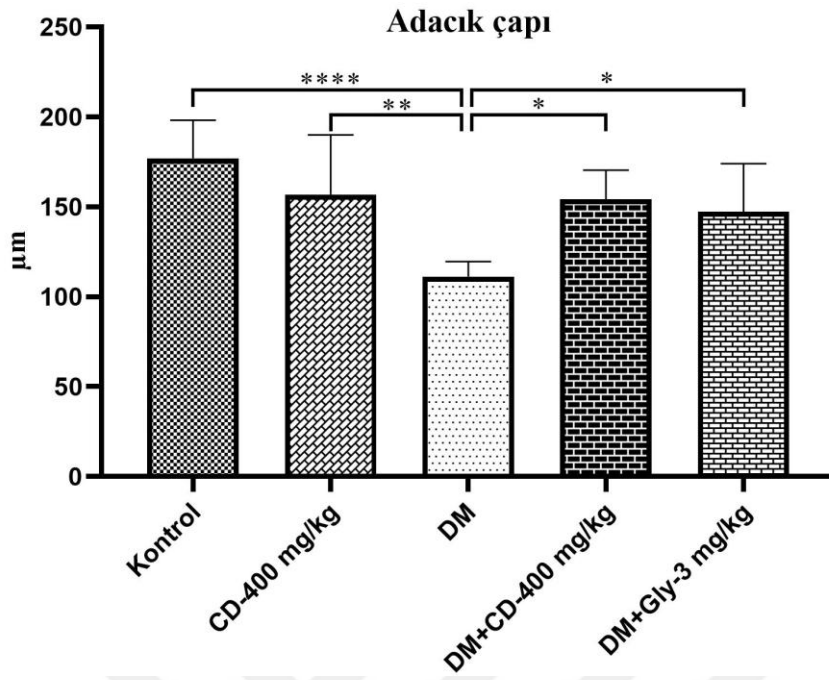


Şekil 16. Farklı grupların pankreaslarından alınan ve H&E ile boyanmış kesitlerinde Langerhans adacıkları. A: Normal histolojik görünüme sahip olan, kontrol grubundaki bir bireye ait olan Langerhans adacığı. B: Normal histolojik görünüme sahip olan CD-400 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan Langerhans adacığı. C: DM grubundaki bir

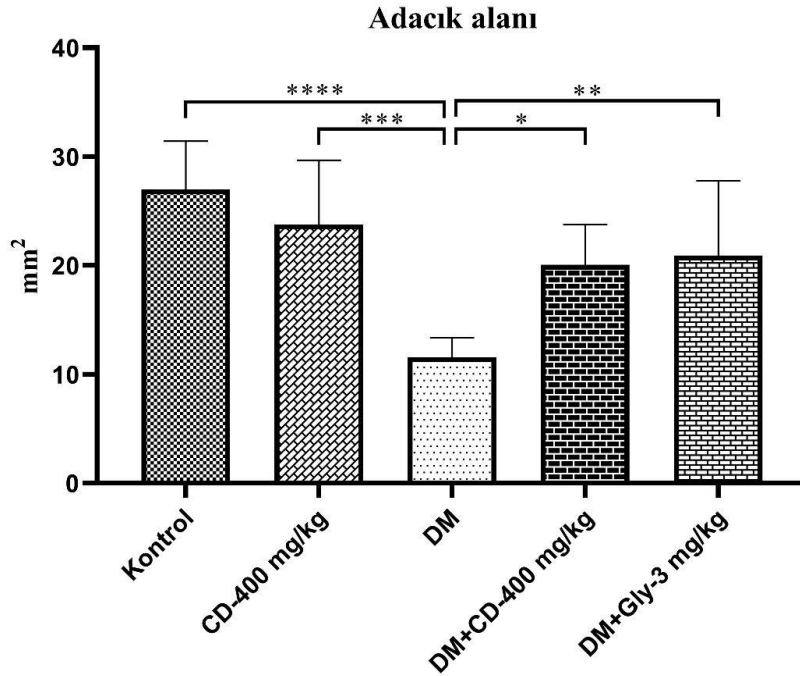
bireye ait olan atrofiye olmuş, hücrelerinde hidropik dejenerasyon (oklar) ve piknotik hücrelerin (ok başı) gözlendiği Langerhans adacığı. D: Histopatolojik değişimlerin daha az olduğu DM + Gly-3 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan Langerhans adacığı. F: Histopatolojik değişimlerin daha az gözlendiği DM + CD-400 mg/kg grubundaki bir bireye ait olan Langerhans adacığı.

Morfometrik ölçümlere ait bulgulara, kontrol ve uygulama gruplarına ait Langerhans adacığı çap ölçüm sonuçları Şekil 17’de gösterilmiştir. Buna göre, kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarında Langerhans adacığı çaplarının sırasıyla, $176.90 \pm 21.31 \mu\text{m}$ ve $156.90 \pm 33.14 \mu\text{m}$ olduğu belirlendi. Adacık çapının DM grubunda ($111.20 \pm 8.38 \mu\text{m}$), kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarına kıyasla azaldığı, bu azalışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (sırasıyla $p < 0.0001$ ve $p < 0.01$). DM + CD-400 mg/kg ve DM + Gly-3 mg/kg gruplarına ait adacık çaplarının (sırasıyla; $154.10 \pm 16.28 \mu\text{m}$ ve $147.20 \pm 26.83 \mu\text{m}$) ise DM grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ($p < 0.05$).

Kontrol ve uygulama gruplarına ait Langerhans adacığı alanı ölçüm sonuçları, Şekil 18’de gösterilmiştir. Buna göre, kontrol ve CD-400 mg/kg grubundaki Langerhans adacık alanları sırasıyla, $27.00 \pm 4.45 \text{ mm}^2$ ve $23.76 \pm 5.92 \text{ mm}^2$ olarak ölçüldü. Adacık alanının DM grubunda ($11.57 \pm 1.80 \text{ mm}^2$), kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarına kıyasla azaldığı, bu azalışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (sırasıyla $p < 0.0001$ ve $p < 0.001$). Adacık alanının, DM + CD-400 mg/kg ve DM + Gly-3 mg/kg gruplarında (sırasıyla; $20.06 \pm 3.69 \text{ mm}^2$ ve $20.91 \pm 6.88 \text{ mm}^2$) ise DM grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (sırasıyla, $p < 0.05$ ve $p < 0.01$).



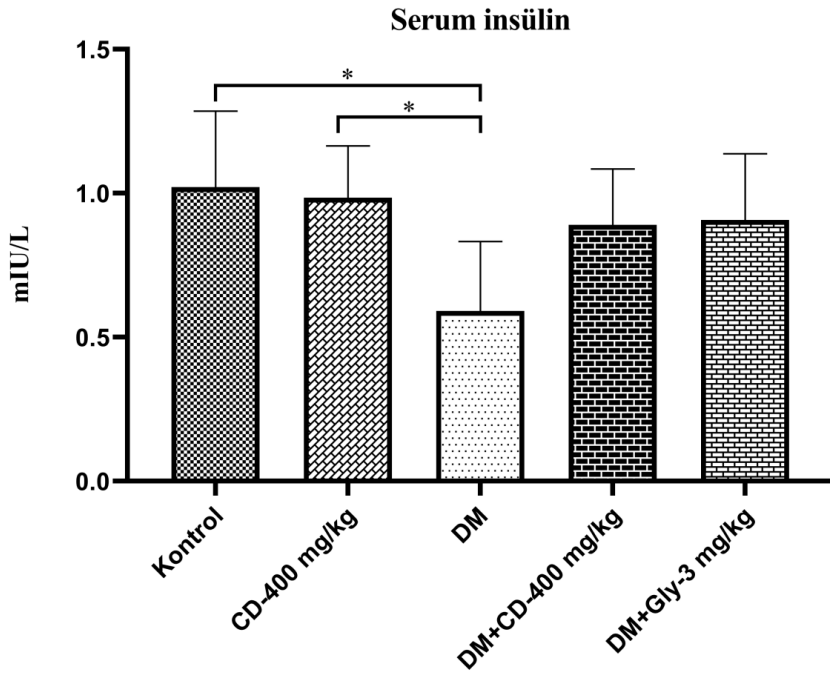
Şekil 17. Deneysel gruplara ait adacık çapı ortalamaları. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. **** : $p < 0.0001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$).



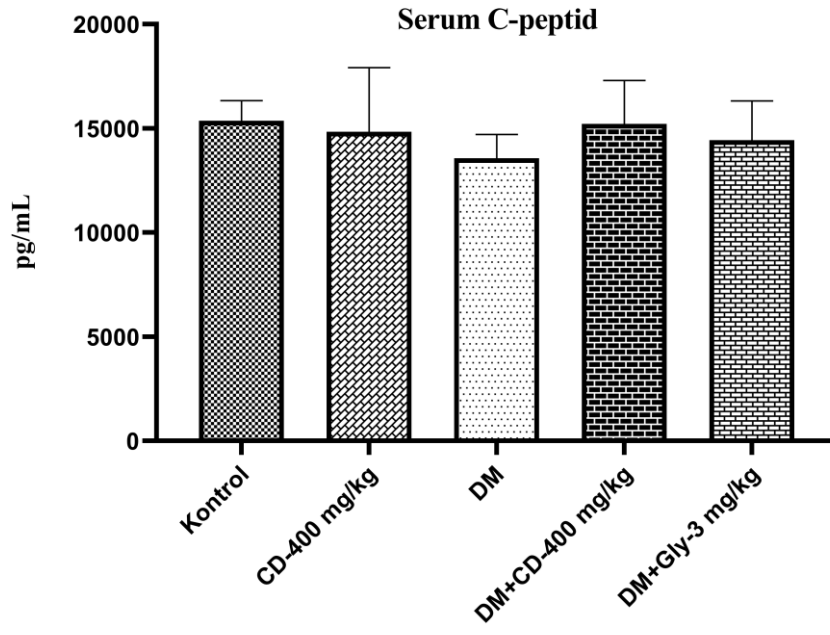
Şekil 18. Deneysel gruplara ait adacık alanı ortalamaları. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. ****: $p < 0.0001$, ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$.

Deneyisel gruplara ait serum insülin düzeyleri Şekil 19’da verilmiştir. Elde edilen bulgulara göre DM grubu insülin düzeyi kontrol ve CD-400 mg/kg gruplarına göre anlamlı azalma görüldü ($p < 0.05$).

Deneyisel gruplara ait serum C-peptid düzeyleri Şekil 20’de verilmiştir. Serum C-peptid düzeyi DM grubunda diğer gruplara kıyasla gözle görülür hafif düşüş görülmekle beraber istatistiksel anlamda farklılık bulunmadı.



Şekil 19. Deneyisel gruplara ait serum insülin düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. * : $p < 0.05$.



Şekil 20. Deneysel gruplara ait serum C-peptid düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

DM pankreas bezinin langerhans adacıklarındaki β -hücrelerinden insülin salınımının yetersizliği ve/veya dolaşımdaki glukozun hücre içerisine alınmasında görevli glukoz taşıyıcıların hedef hücreye tepkinin azalması/bozulması sonucu dolaşımdaki açlık kan glukoz düzeyinin yüksek olması ile karakterize endokrinolojik bir bozukluktur (Agirman ve ark., 2020). DM hasta sayısı dünyada giderek artmaktadır. 2040 yılında erişkin DM hasta sayısının dünyadaki toplam nüfusunun % 10,4'üne ve gelişmekte olan ülkelerde ise % 13'ü bulacağı tahmin edilmektedir (Chinsembu, 2019). Türkiye'de 2017 yılında 6.5 milyon DM hasta sayısı olduğu ve bu sayının 2045 yılında 11.2 milyona ulaşabileceği belirtilmiştir (IDF, 2017). DM bir hastalık olmakla beraber aynı zamanda ülke ekonomilerine de ciddi maliyetler yüklemektedir. Örneğin, 2013 yılı verilerine göre DM hastalığının dünyada yıllık maliyeti 548 milyar dolar olduğu bilinmektedir. Türkiye'de ise DM'li bir bireyin yıllık ortalama tedavi maliyetinin 866 dolar olduğu belirtilmiştir (IDF, 2013). Dahası, DM'nin sebep olduğu komplikasyonlar eklendiğinde bu maliyetin çok daha fazla olabileceği tahmin edilmektedir (Akalin ve ark., 2012).

Deneyisel hayvan modellerinde DM oluşturmak için genellikle STZ ve alloxan kullanılmaktadır (Agirman ve ark., 2020; Dogan et al., 2015). Çalışmalarda daha fazla kabul gören ve mekanizması iyi bilinen STZ (50 mg/kg, *i.p.*) ratlarda DM oluşturma ajanı olarak kullanıldı (Hanalp ve ark., 2021).

Günümüzde yaygın olarak görülen kanser, yaşlanma, damar sertliği, nörodejeneratif, kalp ve DM hastalıkları gibi kronik hastalıkların birçoğunun ve yaşlanmanın hızlanmasında serbest radikallerin neden düşünülmektedir (Aktumsek ve ark., 2011). Oluşan hasarın önlenmesinde antioksidanların önemli koruyucu etkileri vardır. Eski çağlardan beri potansiyel farmasötik etkileri nedeniyle bitkilerin çeşitli hastalıkların önlenmesinde önemli antioksidan kaynaklar olduğu bilinmektedir (Koç ve ark., 2015). Bitkilerdeki birçok doğal bileşik, özellikle fenolik bileşikler, metal şelasyonu, serbest radikallerin temizlenmesi ve lipid peroksidasyonunun engellenmesi gibi önemli antioksidan özelliklere sahiptir.

Centaurea L. (Asteraceae) cinsi esas olarak Güneybatı Asya ve Akdeniz bölgesinde dağılışı gösteren ve yaklaşık 600 türü bulunan iki yıllık ve çok yıllık çimenli tür ile temsil edilmektedir (Wagenitz ve ark., 1996). Türkiye’de *Centaurea* L. cinsine ait yaklaşık 250 tür bulunur (Susanna ve Garcia-Jacas, 2009). Türkiye’de bulunan bu cinse ait türlerin 114’ü endemik olmak üzere (Güner ve ark., 2000) 205 takson bulunmaktadır. (Şirin ve ark., 2020). *Centaurea* L. cinsi flavonoidler, steroidler, uçucu bileşenler, seskiterpen laktonlar ve yağ asitleri bakımından zengindir (Dob ve ark., 2009; Tekeli ve ark., 2010). *Centaurea* türleri antidiyabetik, antiinflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal, antioksidan, analjezik ve enzim inhibisyon aktiviteleri gibi çok sayıda biyolojik aktiviteye sahiptir (Korga ve ark., 2017; Lockowandt ve ark., 2019; Özcan ve ark., 2019).

Cyanus cinsine ait çeşitli türlerin *in vitro* antidiyabetik enzim inhibisyonuna sahip olduğuna dair çalışmalar olmasına rağmen (Kaskoos, 2013; Acet, 2021) *in vivo* çalışmalar yok denecek kadar azdır. *Cyanus depresssus* M. Bieb bitkisi ile ilgili *in vivo* antidiyabetik çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu sebeple, bu çalışmada *Cyanus depresssus* M. Bieb bitki çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin antidiyabetik, antioksidan ve histolojik değişimler çeşitli doku örneklerinde literatüre kazandırılması amaçlandı. Ayrıca, bitki ekstresinin koruyucu etkileri piyasada oral antidiyabetik ilaç olarak kullanılan glibenklamid (3 mg/kg, oral) (Agirman ve ark., 2020) ile kıyaslanarak olası ilaç potansiyel etkileri *in vivo* diyabetik rat modeli ile ortaya konulması amaçlandı.

Çalışmada haftalık canlı hayvan ağırlıkları (CHA) ve kan glukoz değerlerine bakıldı (Şekil 6 ve 7). Ayrıca serum biyokimyasal parametrelerinden glukoz, HbA1c, AST, ALT, LDH, TG, TC, HDL, Kreatinin ve Üre (Tablo 8) karaciğer, böbrek ve pankreas MDA (Şekil 8, 9, 10), GSH (Şekil 11, 12, 13), GST, GR ve CAT enzim (Tablo 9) aktivitesine bakıldı.

Şekil 6’de görüldüğü gibi DM grubunda zamana bağlı CHA’nın düştüğü ancak Kontrol ve DM + CD-400 mg/kg gruplarında ise başlangıç zamana göre CHA’da artışa neden olduğu belirlenmiştir. DM’nin en belirgin özelliklerinden birisi ani CHA kaybıdır. Bu durumun sebebi muhtemelen glikojen depoları bakımından zengin karaciğer ve kas dokularındaki enerji amaçlı kullanılması ve dolaşımdaki glukozun bu dokularda depo edilmesindeki bir bozukluğun sonucudur. Daha önce STZ ile DM

modeli oluşturulan sıçanların CHA da düşüş görülürken tedavi amaçlı kullanılan bitki veya ilaç gruplarında ise DM'nin komplikasyonlarını düşürerek CHA da artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Doğan ve Çelik, 2016; Dogan ve ark., 2015). DM tedavisinde kullanmış olduğumuz CD-400 mg/kg bitki ekstresinin DM'deki CHA'yi artırması daha önceki yapılmış çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

DM hastalığı dolaşımdaki kan glukoz düzeyi yüksekliği ile karakterize endokrinolojik bir bozukluk olarak bilinir. DM'nin oluşmasında ve ilerlemesinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı bilinmektedir (Maritim ve ark., 2003). Oksidatif stresin, özellikle T2DM'de vasküler komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Pham-Huy, 2008). Diyabetik hiperglisemi, serbest radikal üretimi süreci ile protein glikasyonuna, enzimlerin hasar görmesine, hücrel mekanizmaya ve oksidatif degradasyona neden olur (Asmat ve ark., 2016). Bu sebeple canlılarda glukoz ve HbA1c gibi diyabetik indikatör parametreler ile dokuya özgü biyokimyasal enzim parametrelerin takibi oldukça önemlidir. Kontrolsüz DM hastalarında nefropati, nöropati ve ayak amputesi başta olmak üzere inme, felç, kardivasiküller hastalıklar ve yaşlanmayı hızlandırma gibi sağlık problemlerine neden olmaktadır (Assar ve ark., 2016; Lotfy ve ark., 2017; Harding ve ark., 2019; Abu-Odeh ve Talib, 2021).

Sonuçlarımıza göre, CD bitki ekstresi ve glibenklamidin diyabetik ratlara uygulanması, üç haftalık uygulamadan sonra hiperglisemi ve serum biyokimyasal parametrelerinde (AST, ALT, LDH, Kreatinin ve Üre) belirgin bir iyileşme gösterdi. DM grubunda yükselen haftalık kan şekeri CD veya Gly ile tedavi edilen diyabetik gruplardaki glikoz seviyelerinin normalleşmesi (Şekil 7) ve biyokimyasal parametrelerdeki değişim Tablo 8'de gösterilmiştir. Bu sonuçlar, CD ve Gly normal sıçanlarda glisemik durum ve oksidatif stres belirteçleri üzerinde neredeyse hiçbir etkiye sahip olmayan, ancak STZ ile tedavi edilen sıçanlarda glikoz ve biyokimyasal parametreleri seviyesi üzerinde önemli iyileştirme etkilerin görülmesi, CD ekstre içeriğindeki fitokimyasal bileşikler ile oral antidiyabetik ilacın uyarıcı aktivitesine bağlı olabilir. Çalışmada kullanmış olduğumuz *Cyanus depressus* bitkisinin iki farklı dozunun (400 ve 800 mg/kg, oral), STZ ile DM oluşturulan sıçanlarda 8 haftalık tedavisinin sonucunda kan glukoz, üre ve kreatinin seviyeleri ile böbrekteki histolojik lezyonları önemli ölçüde düşürdüğü rapor edilmiştir (Rahimi-Madiseh ve ark., 2016).

Yine çeşitli *in vitro* çalışmalarında *Centaurea* cinsine ait *C. hypoleuca*, *C. binguelensis*, *C. bornmuelleri*, *C. saligna* ve *C. karduchorum* türlerinin DM ile ilişkili enzim inhibisyonları üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle antidiyabetik ve antioksidan olarak yararlanılabileceği vurgulanmıştır (Dalar ve ark., 2015; Zengin ve ark., 2018; Özcan ve ark., 2019; Zengin ve ark., 2019; Uysal ve ark., 2021). CCl₄ (karbon tetraklorür) ile oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda *C. aegyptiaca* bitki ekstresinin (100 ve 200 mg/kg, oral) AST, ALT, MDA, NO (nitrik oksit) ve histolojik lezyon düzeyini CCl₄ grubuna göre önemli düzeyde düşürdüğü ve GSH düzeyinde ise artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Senosy ve ark., 2018).

Yapılan çeşitli çalışmalarda lipid peroksidasyonun diyabetik ratlarda önemli oranda arttığı GSH düzeyi ve antioksidan enzim aktivitelerinin ise düştüğü rapor edilmiştir (Arya ve ark., 2014; Dogan ve ark., 2015). Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikal aracılı oksidasyonu olan lipid peroksidasyonu diyabetik gruplarda MDA artışına neden olur (Doğan ve Çelik, 2016). Elde edilen bulgulara göre CD veya Gly ile tedavi edilen diyabetik ratların MDA düzeyini normal kontrol seviyelere çektiği görülmüştür (Şekil 8, 9 ve 10). Bu durum, kullanılan DC bitkisinin antioksidan etkisinin olduğu daha önce yapılmış çalışma bulgularıyla desteklenmektedir (Akkol ve ark., 2009; Güneş, 2020).

DM'de ROS seviyesinin yükselmesi *in vivo* GSH ve antioksidan enzimlerindeki aktivite azalmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu enzimlerin düzeylerindeki değişiklik, dokuları oksidatif strese duyarlı hale getirerek diyabetik komplikasyonların gelişmesine yol açar (Lipinski, 2001; Abu-Odeh ve ark., 2021). Elde edilen bulgulara göre CD ile tedavi edilen diyabetik ratların GSH düzeyini (Şekil 13) ve antioksidan enzim aktivitelerini genel olarak normal kontrol seviyelere çektiği görülmüştür (Tablo 9). Serbest radikallerin oluşumu ile endojen antioksidan enzimler arasındaki dengesizlik oksidatif stresin oluşmasına neden olur (Cotter ve Cameron, 2003). Glutasyon serbest radikaller, peroksitler, lipid peroksitler ve ağır metaller gibi ROS'ların neden olduğu önemli hücresel bileşenleri zararlılardan koruyan bir tiripeptid antioksidan maddedir (Pompella ve ark., 2003). SOD, GPx, GST, CAT ve GR enzimleri oluşan O₂⁻, H₂O₂, OH⁻ radikallerini ve ksenobiyotikleri ortadan kaldırmaya katkıda bulunur (Dogan ve ark., 2018). Sonuçlarımızda, CD bitki ekstresi ile tedavi edilen diyabetik ratların

karaciğer ve pankreas dokuları üzerinde antioksidatif özellik göstererek GST ve CAT aktivitesini önemli oranda artırarak kontrol değerlerine çektiği görülmüştür (Tablo 9). Mevcut araştırmanın sonuçları, daha önce bildirilen bulgularla tutarlıdır (Raza ve ark., 2000; Lapshina ve ark., 2006; Al-Snafi, 2015; Samarghandian ve ark., 2016).

Bitki ekstreleri, hasar gören langerhans adacıklarında kalan beta hücreleri üzerinde uyarıcı etkilere ve daha fazla insülin üretimine sahip olabileceği belirtilmiştir (Fazelipour ve ark., 2021). Ayrıca, bitki ekstreleri ile tedavi edilen diyabetik ratların pankreas adacık alanı, adacık çapı, insülin ve C-peptid düzeyinde artış ve pankreas hasarını önlemede etkili olabileceği rapor edilmiştir (Hanalp ve ark., 2021). Bir başka çalışmada, diyabetik ratların kersetin ve kinik asitlerin kombine tedavisinde karaciğer, böbrek ve pankreas lezyon oluşumunda ve MDA düzeyinde ve karaciğer/böbrek hasar biyomarkır düzeylerinde azalma görüldüğü; insülin, C-peptid ve antioksidan enzim aktivitelerinde ise artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Arya ve ark., 2014). Hem biyokimyasal hem de histolojik bulgularımız daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Özetle, STZ ile indüklenen diyabetik rat modelinde *Cyanus depressus* (CD 400 mg/kg) bitki çiçeği liyofilize etanolik ekstrenin anti-hiperglisemik ve antioksidan etkisi hem biyokimyasal hem de histopatolojik bulgularla ilk kez ortaya konuldu. Bu bulgular, gelecekte DM komplikasyonlarını hafifletmek için uygun bir gıda takviyesi formüle etmek için bir ışık olarak sunulabileceği kanaatindeyiz. Ayrıca, bu bitki ile ilgili daha fazla *in vivo* çalışmaların yapılması gerektiği görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abu-Odeh AM, Talib WH. Middle East Medicinal Plants in the Treatment of Diabetes: A Review. *Molecules*. 2021;26(3):742.
- Acet T. Determining the phenolic components by using HPLC and biological activity of *Centaurea triumphetti*. *Plant Biosyst*. 2021;155(1):159-64.
- Aebi H. Catalase. In: *Methods of enzymatic analysis*: Elsevier; 1974. pp. 673-84.
- Agirman E, Celik İ, Dogan A. Consumption of the Syrian mesquite plant (*Prosopis farcta*) fruit and seed lyophilized extracts may have both protective and toxic effects in STZ-induced diabetic rats. *Arch Physiol Biochem*. 2020;1-10.
- Akalin S, Satman I, Ozdemir O. PDB28 cost of disease and its relationship with diabetic complications in turkish patients with type 2 diabetes mellitus. *Value in Health*. 2012;15(7):A498.
- Akkol EK, Arif R, Ergun F, Yesilada E. Sesquiterpene lactones with antinociceptive and antipyretic activity from two *Centaurea* species. *J Ethnopharmacol*. 2009;122(2):210-5.
- Aktumsek A, Zengin G, Guler GO, Cakmak YS, Duran A. Screening for in vitro antioxidant properties and fatty acid profiles of five *Centaurea* L. species from Turkey flora. *Food Chem Toxicol*. 2011;49(11):2914-20.
- Alkanlı N, Ay A, Alkanlı SS. Investigation of the relationship between microvascular complications of diabetes mellitus and proinflammatory cytokine interleukin-18 gene variations. *Gevher nesibe journal of medical & health sciences*. 2020;5(7):67-76.
- Al-Snafi AE. Therapeutic properties of medicinal plants: a review of plants with antioxidant activity (part 1). *IJPT*. 2015;6(3):159-82.
- American Diabetes Association (ADA). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 2019;44(1):13-28.
- Arya A, Al-Obaidi MMJ, Shahid N, Noordin MIB, Looi CY, Wong WF, ve ark. Synergistic effect of quercetin and quinic acid by alleviating structural degeneration in the liver, kidney and pancreas tissues of STZ-induced diabetic rats: a mechanistic study. *Food Chem Toxicol*. 2014;71:183-96.
- Aslankoç R, Demirci D, Ümmahan İ, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, ve ark. Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2019;26(3):362-9.
- Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J*. 2016;24(5):547-53.
- Assar ME, Angulo J, Rodríguez-Mañas L. Diabetes and ageing-induced vascular inflammation. *J Physiol*. 2016;594(8):2125-46.
- Ayhan S. Elit erkek futbolcularda müsabaka performanslarının seçilmiş biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine etkileri (Doktora Tezi). *Malatya: İnönü Üniversitesi*; 2016.

- Babaoğlu Aydaş S, Şirin S, Aslim B. Biochemical analysis of *Centaurea depressa* phenylalanine ammonia lyase (PAL) for biotechnological applications in phenylketonuria (PKU). Pharm Biol. 2016;54(12):2838-44.
- Bancheva S, Greilhuber J. Genome size in Bulgarian *Centaurea* s.l. (Asteraceae). Plant Syst Evol. 2006;257(1):95-117.
- Barnett R. Diabetes. Lancet. 2010;375(9710):191.
- Bayrak G, Çolak R. Diyabet tedavisinde hasta eğitimi. J Exp Clin Med. 2012;29(1):7-11.
- Beutler E, Duron O, Kelly B. Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med. 1963;61:882-8.
- Bieberstein M. Flora taurico-caucasica. Charkoviae: Typis Academicus. 1808;1:430.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;72(1-2):248-54.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. In: Methods in enzymology: Elsevier; 1978. pp. 302-10.
- Cakmak M, Cakmak N, Cetemen S, Tanriverdi H, Enc Y, Teskin O, ve ark. The value of admission glycosylated hemoglobin level in patients with acute myocardial infarction. Can J Cardiol. 2008;24(5):375-8.
- Çambay Z. Diyabetik siçanlarda nar (*Punica granatum*) çiçeğinin serumdaki aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz düzeylerine etkilerinin araştırılması. Ecological Life Sciences. 2011;6(4):124-33.
- Canivell S, Gomis R. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. Autoimmun Rev. 2014;13(4-5):403-7.
- Carlberg I, Mannervik B. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. J Biol Chem. 1975;250(14):5475-80.
- Çelik F, Yıldız EA. Diyabet ve antioksidan vitaminler. Beslenme ve Diyet Dergisi. 2010;38(1-2):35-44.
- Çelikezen FÇ, Hayta Ş, Özdemir Ö, Türkez H. Cytotoxic and antioxidant properties of essential oil of *Centaurea behen* L. *in vitro*. Cyto. 2019;71(1):345-50.
- Coşansu G. Diyabet: Küresel bir salgın hastalık. OMJ. 2015;31:1-6.
- Cotter MA, Cameron NE. Effect of the NAD(P)H oxidase inhibitor, apocynin, on peripheral nerve perfusion and function in diabetic rats. Life Sci. 2003;73(14):1813-24.
- Csupor D, Blazsó G, Balogh Á, Hohmann J. The traditional Hungarian medicinal plant *Centaurea sadleriana* Janka accelerates wound healing in rats. J Ethnopharmacol. 2010;127(1):193-5.
- Czerepanov S. Subgenus *Cyanus*. Flora of the USSR 2001;28:385-415.
- Dalar A, Uzun Y, Mukemre M, Turker M, Konczak I. *Centaurea karduchorum* Boiss. from Eastern Anatolia: Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities. J Herb Med. 2015;5(4):211-6.

- Dereli FTG, Ilhan M, Akkol EK. Identification of the main active antidepressant constituents in a traditional Turkish medicinal plant, *Centaurea kurdica* Reichardt. J Ethnopharmacol. 2020;249:112373.
- Dinççağ N. Diabetes mellitus tanı ve tedavisinde güncel durum. İç Hastalıkları Dergisi. 2011;18(4):181-223.
- Dob T, Dahmane D, Gauriat-Desrudy B, Daligault V. Essential oil composition of *Centaurea pullata* L. J Essent Oil Res. 2009;21(5):417-22.
- Dogan A, Celik I, Kaya MS. Antidiabetic properties of lyophilized extract of acorn (*Quercus brantii* Lindl.) on experimentally STZ-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2015;176:243-51.
- Doğan A, Çelik İ. Healing effects of sumac (*Rhus coriaria*) in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharm biol. 2016;54(10):2092-102.
- Dogan A, Celik I. Hepatoprotective and antioxidant activities of grapeseeds against ethanol-induced oxidative stress in rats. Br J Nutr. 2012;107(1):45-51.
- Dogan A, Dalar A, Sadullahoglu C, Battal A, Uzun Y, Celik I, ve ark. Investigation of the protective effects of horse mushroom (*Agaricus arvensis* Schaeff.) against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. Mol Biol Rep. 2018;45(5):787-97.
- Doğanay S, Trabzon Ş, Bahtiyar N, Erdoğan DG, Eren AEÖ, Şahin A. Streptozotocin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda melatoninin antioksidan aktivitesi; kan ve karaciğer dokusunda. Sakarya Tıp Dergisi. 2020;10(4):608-14.
- Doğanay S. Akut yorucu egzersiz yaptırılan ratlarda kan ve karaciğer oksidan/antioksidan sistemler üzerine *bilberry*'nin (yaban mersini) etkileri (Doktora Tezi). Erzurum: Atatürk Üniversitesi; 2014.
- Doruk M. Sabah akşam yapılan yo-yo aralıklı toparlanma testinin (seviye-1) metabolik hormonlar ve biyokimyasal parametreler üzerine akut etkisi (Yüksek Lisans Tezi). Denizli: Pamukkale Üniversitesi; 2019.
- Dostál J. *Centaurea* L. Flora europaea 1976;4:254-301.
- Dra LA, Sellami S, Rais H, Aziz F, Aghraz A, Bekkouche K, ve ark. Antidiabetic potential of *Caralluma europaea* against alloxan-induced diabetes in mice. Saudi J Biol Sci. 2019;26(6):1171-8.
- Duman C, Erden BF. Birinci basamak sağlık hizmetlerine yönelik biyokimyasal laboratuvar verilerinin kısa yorumu. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi. 2004;13(7),256-62.
- Ekici L, Sağdıç O. Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. Gıda. 2008;33(5):251-60.
- Ekoé J-M. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 2019.
- Erol HS. İnflamasyon ve serbest radikaller. Goncagül G, Günaydın E (Editörler). Sağlık bilimleri alanında güncel araştırmalar. Ankara; Duvar yayınevi: 2020.
- Escher GB, Santos JS, Rosso ND, Marques MB, Azevedo L, do Carmo MAV, ve ark. Chemical study, antioxidant, anti-hypertensive, and cytotoxic/cytoprotective activities of *Centaurea cyanus* L. petals aqueous extract. Food Chem Toxicol. 2018;118:439-53.

- Fazelipour S, Hadipour Jahromy M, Tootian Z, Goodarzi N. Antidiabetic effects of the ethanolic extract of *Allium saralicum* RM Fritsch on streptozotocin-induced diabetes in a mice model. Food Sci Nutr. 2021;00:1-12.
- Garcia-Jacas N, Susanna A, Garnatje T, Vilatersana R. Generic delimitation and phylogeny of the subtribe Centaureinae (Asteraceae): a combined nuclear and chloroplast DNA analysis. Ann Bot. 2001;87(4):503-15.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer K. Flora of Turkey and the east Aegean Islands. Supplement 2000;2:28.
- Güneş E. Alteration in the oxidative status of *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) fed with a diet containing *Centaurea depressa* M. Bieb.(Asteraceae). Anim Biol. 2020;70(2):227-37.
- Güven B, Can M, Eskici Z. Hemoglobin varyantının HbA1c ölçümüne etkisi. Fırat Tıp Dergisi. 2011;16(2):97-9.
- Halifeoğlu İ, Karataş F, Çolak R, Canatan H, Telo S. Tip 2 diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum. Fırat Tıp Dergisi. 2005;10(3):117-22.
- Hanalp HC, Kaptaner B, Doğan A. Protective effects of lyophilized ethanolic extract of *Achillea arabica* kotschy. on the islet β cells of streptozotocin-induced diabetic rats. Kahramannaraş Sütçü İmam Univ Doğa Bilim Derg. 2021;24(4):689-700.
- Harding JL, Pavkov ME, Magliano DJ, Shaw JE, Gregg EW. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence. Diabetologia. 2019;62(1):3-16.
- Haziri A, Faiku F, Rudhani I, Mehmeti I, Motori D. Antibacterial activity of different extracts of *Centaurea cyanus* (L.) growing wild in Kosovo. Orient J Chem. 2017;33(4):1636-41
- Hellwig F. Centaureinae (Asteraceae) in the Mediterranean-history of ecogeographical radiation. Plant Syst Evol. 2004;246(3):137-62.
- Hilpold A, Garcia-Jacas N, Vilatersana R, Susanna de la Serna A. Taxonomical and nomenclatural notes on Centaurea: A proposal of classification, a description of new sections and subsections, and a species list of the redefined section Centaurea. Collect Bot. 2014;33:1-29.
- İbiş S, Yılmaz G. Kreatinin sportif performans etkileri. Spor ve Tıp Dergisi. 2006;99-102.
- International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 8th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2017.
- International Diabetes Federation: IDF Diabetes Atlas, 6th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2013.
- Iqbal S, Jose S, Zaafarany I. Synthesis, Physico chemical and spectral studies of mercury complex of glibenclamide; an oral antidiabetic drug. Orient J Chem. 2012;28(1):613.
- İrer SV, Alper G. Deneysel diyabet modelleri. Türk Klinik Biyokimya Dergisi. 2004;2(3):127-36.

- Jafari-Sales A, Mobaiyen H, Jafari B, Sayyahi J. Assessment of antibacterial effect of alcoholic extract of *Centaurea depressa* MB, *Reseda lutea* L. and *Fumaria asepal* on selected standard strains *in vitro*. S J Nursing, Midwifery and Paramedical Faculty. 2019;5(3):63-73.
- Kara K, Çınar S. Diyabet bakım profili ile metabolik kontrol değişkenleri arasındaki ilişki. Kafkas J Med Sci. 2011;1(2):57-63.
- Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. MAKÜ Sag Bil Enst Derg. 2016;4(1):50-59
- Karasakal S. Tip 2 diyabetes mellitus hastalarında diyabet regülasyonu ve diyabet yaşı ile hastanın kırılabilirliğinin bir göstergesi olan yürüme hızı arasındaki ilişki (Uzmanlık Tezi). İstanbul: Sağlık Bilimleri Üniversitesi; 2021.
- Karkucak M, Cander S, Deligönül A, Ocakoğlu G, Gülten T, Gül ÖÖ, ve ark. Tip 1 diyabet (T1D)'li türk hastalarda glutatyon-s-transferaz (GSTT1 ve GSTM1) Gen polimorfizmlerinin araştırılması. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2012;38(2):75-8.
- Kasap Y. Glutatyon (GSH) düzeyinin plasentada araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Ankara: Ankara Üniversitesi; 2010.
- Kaskoos RA. *In-vitro* α -glucosidase inhibition and antioxidant activity of methanolic extract of *Centaurea calcitrapa* from Iraq. Ame J Essent Oils Nat Prod. 2013;1(1):122-5.
- Khanavi M, Ahmadi R, Rajabi A, Arfaee SJ, Hassanzadeh G, Khademi R, ve ark. Pharmacological and histological effects of *Centaurea bruguierana* ssp. *belangerana* on indomethacin-induced peptic ulcer in rats. J Nat Med. 2012;66(2):343-9.
- Koca U, Süntar IP, Keles H, Yesilada E, Akkol EK. *In vivo* anti-inflammatory and wound healing activities of *Centaurea iberica* Trev. ex Spreng. J Ethnopharmacol. 2009;126(3):551-6.
- Korga A, Józefczyk A, Zgórk G, Homa M, Ostrowska M, Burdan F, ve ark. Evaluation of the phytochemical composition and protective activities of methanolic extracts of *Centaurea borysthena* and *Centaurea daghestanica* (Lipsky) Wagenitz on cardiomyocytes treated with doxorubicin. Food Nutr Res. 2017;61(1):1344077.
- Lapshina E, Sudnikovich EJ, Maksimchik JZ, Zabrodskaya S, Zavodnik L, Kubyshin V, ve ark. Antioxidative enzyme and glutathione S-transferase activities in diabetic rats exposed to long-term ASA treatment. Life Sci. 2006;79(19):1804-11.
- Lipinski B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. J. Diabetes Complicat. 2001;15(4):203-10.
- Lockowandt L, Pinela J, Roriz CL, Pereira C, Abreu RM, Calhelha RC, ve ark. Chemical features and bioactivities of cornflower (*Centaurea cyanus* L.) capitula: The blue flowers and the unexplored non-edible part. Ind Crops Prod. 2019;128:496-503.
- Lockowandt L, Pinela J, Roriz CL, Pereira C, Abreu RM, Calhelha RC, ve ark. Chemical features and bioactivities of cornflower (*Centaurea cyanus* L.) capitula: The blue flowers and the unexplored non-edible part. Ind Crops Prod. 2019;128:496-503.
- Lotfy M, Adeghate J, Kalasz H, Singh J, Adeghate E. Chronic complications of diabetes mellitus: a mini review. Curr Diabetes Rev. 2017;13(1):3-10.

- Malkoç M, Livaoğlu M, Kural B, Yıldız O, Örem A, Mungan S, ve ark. Deli balın (*R. Ponticum*) Streptozosin ile uyarılmış diyabetik ratlarda yara iyileşmesi üzerine antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinin incelenmesi. 2016;76.
- Mannervik B, Guthenberg C. Glutathione transferase (human placenta). In: Methods in enzymology: Elsevier; 1981. pp. 231-5.
- Maritim AC, Sanders A, Watkins Iii J. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. J Biochem Mol Toxicol. 2003;17(1):24-38.
- Mirzaie A, Zare Karizi S. Study of chemical composition and characteristics of *Centurea cyanus* extract on colon cancer cell line and analysis of apoptosis gene expression. TUMS. 2016;74(9):626-34.
- Mobaiyen H, Jafari Sales A, Sayyahi J. Evaluating antimicrobial effects of centaurea plant's essential oil on pathogenic bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Escherichia coli* isolated from clinical specimens. J Fasa Univ Med Sci. 2016;5(4):479-87.
- Moini J. Epidemiology of diabetes. Florida; Elsevier: 2019.
- Negi CK, Jena G. Nrf2, a novel molecular target to reduce type 1 diabetes associated secondary complications: The basic considerations. Eur J Pharmacol. 2019; 843:12-26.
- Nous FMA, Coenen A, Boersma E, Kim YH, Kruk MBP, Tesche C, ve ark. Comparison of the diagnostic performance of coronary computed tomography angiography-derived fractional flow reserve in patients with versus without diabetes mellitus (from the Machine Consortium). Am J Cardiol. 2019;123(4):537-43.
- Ohadoma S, Michael H. Effects of co-administration of methanol leaf extract of *Catharanthus roseus* on the hypoglycemic activity of metformin and glibenclamide in rats. Asian Pac J Trop Med. 2011;4(6):475-7.
- Olšovská K, Slovák M, Marhold K, Štubňová E, Kučera J. On the origins of Balkan endemics: the complex evolutionary history of the *Cyanus napulifer* group (Asteraceae). Ann Bot. 2016;118(6):1071-88.
- Özcan K, Acet T, Çorbacı C. *Centaurea hypoleuca* DC: Phenolic content, antimicrobial, antioxidant and enzyme inhibitory activities. S Afr J Bot. 2019;127:313-8.
- Özlüer Başer B, Yangin M, Sarıdaş ES. Makine öğrenmesi teknikleriyle diyabet hastalığının sınıflandırılması. J Nat Appl Sci. 2021;25(1):112-20.
- Pérez-Matute P, Zulet MA, Martínez JA. Reactive species and diabetes: counteracting oxidative stress to improve health. Curr Opin Pharmacol. 2009;9(6):771-9.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. IJBS 2008;4(2):89.
- Pires TC, Dias MI, Barros L, Calhella RC, Alves MJ, Oliveira MBP, ve ark. Edible flowers as sources of phenolic compounds with bioactive potential. Food Res Int. 2018;105:580-8.
- Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, De Tata V, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. Biochem Pharmacol. 2003;66(8):1499-503.

- Poteryaeva ON, Usynin IF. Molecular mechanisms of action and physiological effects of the proinsulin c-peptide (a Systematic Review). *Biochem (Mosc.) Suppl B: Biomed Chem.* 2021;15(1):27-39.
- Rafieea Z, Roudabeh M, Mustafa G. Cytotoxic effects of *Centaurea cyanus*, on human breast and bladder cancer cell types MCF-7 and EJ-138. 2014;17
- Rahimi-Madiseh M, Naimi A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Biochemical and histopathological changes in kidney of diabetic rats treated with hydroalcoholic extract of *Centaurea cyanus*. *JMUMS.* 2016;26(138):17-25.
- Rakieten N. The diabetogenic action of streptozocin. *Cancer Chemother Rep.* 1963;29:91-8.
- Raza H, Ahmed I, John A, Sharma AK. Modulation of xenobiotic metabolism and oxidative stress in chronic streptozotocin-induced diabetic rats fed with *Momordica charantia* fruit extract. *J Biochem Mol Toxicol.* 2000;14(3):131-9.
- Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Samini F, Farkhondeh T. Chrysin treatment improves diabetes and its complications in liver, brain, and pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2016;94(4):388-93.
- Savaş N. Approach to liver function test abnormalities. *TJTFP.* 2014;5(3):1-7.
- Senosy W, Kamal A, El-Toumy S, Gendy E, Husseiny E. Phenolic compounds and hepatoprotective activity of *Centaurea aegyptiaca* L. on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *J Adv Phar. Res.* 2018;2(2):123-32.
- Şirin E, Uysal T, Bozkurt M, Ertuğrul K. *Centaurea akcadaghensis* and *C. ermenekensis* (Asteraceae), two new species from Turkey. *Mediterr Bot.* 2020;41(2):173-9.
- Şirin E. Türkiye’de yayılış gösteren *Cyanus* (Mill.) Hayek (*Centaurea*, Asteraceae) alt cinsi üzerine karyolojik ve mikromorfolojik araştırmalar (Doktora Tezi). Konya: Selçuk Üniversitesi; 2018.
- Soják J. *Časopis Národního Musea, Oddíl Přírodovědný.* 1972;140(3-4):131.
- Stein SA, Lamos EM, Davis SN. A review of the efficacy and safety of oral antidiabetic drugs. *Expert Opin Drug Saf.* 2013;12(2):153-75.
- Tarañcı Ö, Aydaş SB, Aslim B. Apoptotic and antioxidant activity of *Centaurea depressa* Bieb.(Asteraceae) extracts on colon colorectal adenocarcinoma (Caco-2) cell lines. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin.* 2016;62:475-6.
- Tarañcı Ö. Bazı bitki ekstraktlarının kanser hücrelerinde antioksidan, antikanserojenik ve apoptotik etkisinin belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Ankara: Gazi Üniversitesi; 2014.
- Tekeli Y, Sezgin M, Aktumsek A, Ozmen Guler G, Aydın Sanda M. Fatty acid composition of six *Centaurea* species growing in Konya, Turkey. *Nat Prod Res.* 2010;24(20):1883-9.
- Ullah A, Khan A, Khan I. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *SPJ.* 2016;24(5):547-53.

- Ünlü Ö, Babaoğlu Aydaş S, Aslim B. *Centaurea depressa* Asteraceae nin antigenotoksik özelliklerinin ve çeşitli kanser hücre hatları üzerine antiproliferatif etkilerinin belirlenmesi. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi; 3-07 Eylül 2012; İzmir. İzmir; Ege Üniversitesi; 2012. s. 769.
- Uygur MM, DG Y. Diyabet tanısı ve sınıflandırılması. *Türkiye Klinikleri J Nutr Diet*. 2017;3(3):120-9.
- Uysal A, Zengin G, Mahomoodally MF, Picot-Allain C, Jekő J, Cziáky Z, ve ark. A comparative study on biological properties and chemical profiles of different solvent extracts from *Centaurea bingolensis*, an endemic plant of Turkey. *Process Biochem*. 2021;102:315-24.
- Wagenitz G, Hellwig F. *Compositae: Systematics*. DJN Hind, HG Beentje, HG Kew (Editörler). Royal Botanic Gardens. 1994:491-510.
- Wagenitz G, Hellwig FH. *Evolution of characters and phylogeny of the Centaureinae*. Royal Botanic Garden. 1996.
- West E, Simon OR, Morrison E. Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. *West Indian Med J*. 1996;45(2):60-2.
- Wolf PL. Biochemical diagnosis of liver disease. *Indian J Clin Biochem*. 1999;14(1):59-90.
- World Health Organization. *Global report on diabetes*; 2016; Geneva. Switzerland: WHO press; 2016. 88.
- Yırtıcı Ü. *Centaurea fenzlii* Reichardt özütünün antioksidan özellikleri ve enzim inhibisyon etkisinin belirlenmesi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 2019;8(1):66-73.
- Yüksel S. *Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hastaların uyku kalitesi a, depresyon ve yaşam kalitesinin değerlendirilmesi (Yüksek Lisans Tezi)*. Afyon: Afyon Kocatepe Üniversitesi; 2007.
- Zater H, Huet J, Fontaine V, Benayache S, Stévigny C, Duez P, ve ark. Chemical constituents, cytotoxic, antifungal and antimicrobial properties of *Centaurea diluta* Ait. subsp. *algeriensis* (Coss. & Dur.) Maire. *Asian Pac J Trop Med*. 2016;9(6):554-61.
- Zengin G, Bulut G, Mollica A, Picot-Allain CMN, Mahomoodally MF. *In vitro* and *in silico* evaluation of *Centaurea saligna* (K. Koch) Wagenitz-An endemic folk medicinal plant. *Comput Biol Chem*. 2018;73:120-6.
- Zengin G, Llorent-Martínez E, Sinan KI, Yıldıztuğay E, Picot-Allain C, Mahomoodally MF. Chemical profiling of *Centaurea bornmuelleri* Hausskn. aerial parts by HPLC-MS/MS and their pharmaceutical effects: From nature to novel perspectives. *J Pharm Biomed Anal*. 2019;174:406-13.

Ek 2. Tez Orijinallik Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



YÜKSEK LİSANS TEZİ ORJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Gökbaş (<i>Cyanus depressus</i>) Bitki Çiçeği Ekstraktının Antidiyabetik ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması			
İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
2	2	32	5	41
İntihal taraması yapılan program		Taramanın yapıldığı tarih		Benzerlik oranı %
turnitin		06 /07/ 2021		% 9
*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:				
- Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç,				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Kendal Erdem DUMAN				

Öğrencinin Adı Soyadı	Kendal Erdem DUMAN
Anabilim Dalı	Temel Eczacılık Bilimleri
Öğrenci No	18930006010
Programı	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Doç. Dr. Abdulahad DOĞAN	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR
---	----------------------------------