



A Study of Antidiabetic Effect of Pomegranate Seed Oil on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats[#]

Rahaf Alhalabi^{1,a}, Nihat Mert^{1,b}, Leyla Mis^{2,c,*}, Handan Mert^{1,d}

¹Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Van Yüzüncü Yıl University, Van, Türkiye

²Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Van Yüzüncü Yıl University, Van, Türkiye

*Corresponding author

Research Article

Acknowledgment

#This study was produced from the Doctoral Thesis titled "Antidiabetic and Antioxidant Effects of Pomegranate Seed Oil in Rats Induced with Diabetes by STZ", studied by Rahaf Alhalabi Baskin. This study was supported by VAN YYÜ Scientific Research Projects Directorate as project number TDK-2018-7371. We would like to thank Van YYÜ Scientific Research Project Unit Directorate for supporting this thesis project.

History

Received: 01/07/2024

Accepted: 22/07/2024

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease caused by irregularities in carbohydrate, fat and protein metabolism. Today, it has been observed that alternative therapies are needed to control diabetes and reduce its complications. In this study planned to investigate the anti-diabetic and antioxidant activity of Punica granatum seed oil, rats were randomly selected with 8 rats in each group and divided equally into 4 groups. The control group received saline, while the pomegranate oil group received pomegranate oil by gavage (2 ml/kg/day). To induce diabetes, 45 mg/kg single dose of streptozotocin (STZ) i.p. was administered to the third and fourth group rats and STZ was administered similarly to the fourth group rats and the same dose of pomegranate seed oil was given daily by gavage for three weeks. At the end of the experiment, blood samples were taken from the hearts of the rats and glucose, insulin, adiponectin, resistin, total cholesterol (TC), triglyceride (TG), HDL cholesterol, LDL-cholesterol, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) levels were recorded. In HDL and TAS levels, an increasing effect was observed in the diabetes + pomegranate oil group. While there were no significant changes in resistin levels, adiponectin and insulin levels decreased significantly in the diabetic group. When the final body weights were analyzed, it was determined that diabetic rats had the lowest value. Elevated glucose levels in diabetic rats decreased significantly when pomegranate oil was added. It was concluded that pomegranate oil may have antihyperglycemic, antioxidant and antihypercholesterolemic functions.

Keywords: Adiponectin, Antioxidant, Diabetes, Insulin, Pomegranate seed oil, Resistin

STZ ile Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Nar Çekirdeği Yağının Antidiyabetik ve Antioksidant Etkileri[#]

Bilgi

#Rahaf Alhalabi Baskın tarafından çalışılan "STZ ile Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Nar Çekirdeği Yağının Antidiyabetik ve Antioksidant Etkileri" başlıklı Doktora Tezinden üretilmiştir. Bu çalışma VAN YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TDK-2018-7371 No'lu proje olarak desteklenmiştir. Bu tez projesini destekleyen Van YYÜ Bilimsel Araştırma Proje Birimi Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz.

Süreç

Geliş: 01/07/2024

Kabul: 22/07/2024

Copyright



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

Öz

Diabetes mellitus (DM) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki düzensizliklerin neden olduğu metabolik bir hastalıktır. Günümüzde diyabeti kontrol altına almak ve komplikasyonlarını azaltmak için alternatif tedavilere ihtiyaç duyulduğu gözlemlenmiştir. Nar çekirdeği yağının anti-diyabetik ve antioksidan aktivitesini araştırmak üzere planlanan bu çalışmada, ratlar her grupta 8 rat olacak şekilde rastgele seçilmiş ve eşit olarak 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna serum fizyolojik verilirken, nar yağı grubuna nar yağı gavaj yoluyla (2 ml/kg/gün) verilmiştir. Diyabet oluşturmak için üçüncü ve dördüncü grup sıçanlara 45 mg/kg tek doz streptozotocin (STZ) i.p. ve dördüncü grup sıçanlara STZ benzer şekilde uygulanmış ve aynı doz nar çekirdeği yağı gavaj yoluyla üç hafta boyunca günlük olarak verilmiştir. Deney sonunda sıçanların kalplerinden kan örnekleri alınmış ve glikoz, insülin, adiponektin, resistin, total kolesterol (TK), trigliserid (TG), HDL kolesterol, LDL-kolesterol, total antioksidan seviye (TAS), toplam oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) seviyeleri kaydedilmiştir. Sonuç olarak; nar çekirdeği yağının diyabette yükselen glikoz seviyesini düşürerek, artan kolesterol, LDL, TOS ve OSI değerlerini azalttığı tespit edildi. HDL ve TAS seviyelerinde ise diyabet+nar yağı grubunda yükseltici etkisi gözlemlendi. Resistin düzeylerinde önemli değişimler bulunmazken adiponektin ve insülin düzeyi diyabetli grupta önemle azalmıştır. Son canlı ağırlıklar incelendiğinde diyabetli sıçanların en düşük değere sahip olduğu saptandı. Diyabetli sıçanlarda yükselen glukoz değeri nar yağı ilave edildiğinde önemli olarak düşmüştür. Nar yağının antihiperlipidemik, antioksidan ve antihiperkolesterolemik fonksiyonlarının olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Adiponektin, Antioksidan, Diyabet, İnsülin, Nar çekirdeği yağı, Resistin

^a alhalabi.rahaf@gmail.com
^c leylamis@yyu.edu.tr

^b https://orcid.org/0000-0002-6679-1971
^d https://orcid.org/0000-0002-5110-2862

^b mertnihat@hotmail.com
^d hmert@yyu.edu.tr

^b https://orcid.org/0000-0001-7185-3316
^d https://orcid.org/0000-0001-9827-7996

Giriş

Diabetes Mellitus (DM), yetersiz insülin sekresyonu veya insülin direnci nedeniyle bozulmuş protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasından kaynaklanan yüksek morbidite ve mortaliteye sahip bir sendromdur (Seghrouchni ve ark., 2002; Comba ve ark., 2015; Comba ve ark., 2023). Diyabet sırasında ortaya çıkan hiperglisemi, enzimatik olmayan protein glikasyonu ve glukoz otoksidasyonu nedeniyle serbest radikallerin miktarı artmaktadır (Mis ve ark., 2018).

Doğal ürünlerin alternatif tıp ve içerdiği kimyasal maddelerin tedavi amacıyla ekstrekte edilme ve kullanıma sunulma çalışmaları oldukça popüler hale gelmiştir. Özellikle bitkisel kökenli antioksidan takviyelerinin kullanım güvenliği, kabul edilebilirliği ve sonuçların kolayca saptanması nedeniyle araştırmacıların antioksidan etkileri olan terapötik ajanlar geliştirmek için çalışmaları devam etmektedir (Mollazadeh, 2016; Comba ve ark., 2017).

Nar bitkisinin farklı bölgelerden hazırlanan ekstraktlarının antidiyabetik ve anti-peroksidatif etkileri bilinmektedir. *Punica granatum* sulu kabuk ekstraktının 0,43 g / kg dozunda diyabetik sıçanlara 4 hafta boyunca verilmesi, kan şekeri seviyesini ve insülin seviyesi artışını önemli düzeyde azaltmıştır. β hücre sayısı; sulu kabuk ekstresi verildiğinde nispeten artmış, bunun çok güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu, serbest radikal temizleyici olarak işleve ve β hücrelerini hasardan koruyabilecek kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Khalil, 2004). Punisik asit (PA) nar çekirdeği yağında bulunan konjuge bir α -linolenik asit molekülüdür ve narın birçok sağlık problemlerine katkıda bulunan temel maddedir. Şimdiye kadar, PA'nın glukoz metabolizması, serum lipid ve insülin üzerine etkisi ve insülin direncine etkisini test etmek için yapılan deneysel çalışmalar sürmektedir.

Punica granatum çekirdek yağının anti-diyabetik ve antioksidan aktivitesinin araştırılması için planlanan bu çalışmada STZ ile deneysel diyabet oluşturulup, nar çekirdeği yağının glukoz, insülin, adiponektin, resistin, düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL), yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL), Trigliserit (TG), kolesterol, total antioksidan kapasite (TAS) ve toplam oksidan durum (TOS) düzeylerindeki değişimlerin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Yöntem

Otuz iki adet 185-250 g ağırlığında sağlıklı dişi Wistar albino sıçan temin edildi. Sıçanlar deneyden önce 7 gün boyunca ortama adapte edildi. Hayvanlar standart koşullar altında kafeslerde barındırıldı. Standart ticari sıçan yemi (pellet chow) ve içme suyu ad libitum olarak verildi. Çalışma için kullanılan 32 rat herbiri sekiz rattan oluşan 4 gruba ayrıldı. Çalışma öncesi tüm ratlar tartıldı ve kan glikoz düzeyleri ölçüldü.

Birinci Grup (Kontrol-K): İntraperitoneal (i.p.) yoldan 45 mg/kg tek doz serum fizyolojik enjektte edildi.

İkinci Grup (Diyabet Grubu-D) : Ratlara 45 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) pH: 4,5 soğuk sitrat tamponu içinde çözüldü, i.p. yoldan uygulandı (Karabay ve ark., 2006).

Üçüncü Grup (N): Nar çekirdeği yağı verilen grup : Sekiz adet rattan oluşan hayvanların deney öncesi kan şekerleri ölçülüp nar çekirdeği yağı (2 ml/kg/gün) (Nekooeian ve ark., 2014) intragastrik tüp ile 20 gün boyunca günde bir kez verildi.

Dördüncü Grup (Diyabet+nar çekirdeği yağı grubu-D+N): Ratlara 45 mg/kg tek doz STZ (Sigma, USA) pH: 4,5 olan soğuk sitrat tamponu içinde, i.p. uygulandı. Nar çekirdeği yağı bu gruba da aynı yöntemle (2 ml/kg/gün) 20 gün süre ile verildi.

72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri saptandı. Kan glikoz düzeyi 250 mg/dl ve üzerinde olan ratlara diyabet gruplarına dahil edildi.

Biyokimyasal Analizler

Total kolesterol (TK), yüksek Yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL), trigliserit (TG), düşük Yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL) gibi lipid profilleri spektrofotometrik olarak Roche Modular P 800 otoanalizör ve Cobas integra 5000 otoanalizör ile ölçülmüştür. Kan glukozu Lever Chek-TD-4222 Biosensor glukoz ölçüm cihazı ve stripleri kullanılarak ölçülmüştür.

İnsülin, Adiponektin ve resistin seviyeleri, Statfax 2100 okuyucu kullanılarak ELISA kitleri ile tespit edilmiştir. Rat İnsülin Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA YL Biont) (Kat No: YLA0037RA), (Kat No.: YLA0076RA) ve (Kat No.: YLA0203RA) kitleri (sırasıyla) ile ölçülmüştür.

Toplam antioksidan kapasite TAS ve toplam oksidan durum TOS seviyesi Erel'in otomatik kolorimetrik yöntemi ile ölçülmüştür ve sırasıyla $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L ve mmol Trolox eşdeğeri/L cinsinden hesaplanmıştır. Oksidatif Stres İndeksi OSI aşağıdaki gibi hesaplanmıştır: $\text{OSI} = \left[\frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L}}{\text{TAS, } \mu\text{mol Trolox eşdeğeri/L}} \right] \times 100$ (Erel, 2005).

Araştırmanın Etik Yönü

Çalışma 18.02.2020 tarihinde Van YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından (TDK-2018-7371) onaylanmış olup, hayvanların kullanımı ve bakımı üniversite yönergeleri gözetiminde sürdürülmüştür.

İstatistik Analizler

Verilerin analizinde "SPSS Statistic 20" paket programı kullanıldı. Tüm parametrelerin istatistik analizinde Kruskal Wallis testi uygulandı. Kruskal Wallis testinin p (sing) değerleri 0,05 'ten küçük olduğu sonuçlarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu söylemek mümkündür.

Bulgular ve Tartışma

Kontrol grubu, diyabet grubu, nar çekirdeği yağı grubu ve diyabet+nar çekirdeği yağı grubuna ait incelenen parametreler ve ratların elde edilen verileri Çizelge 1'de sunuldu. Sunulan bu çalışmada nar yağının canlı ağırlık üzerine etkisi Çizelge 1'de gösterilmiş ve rastgele seçilen sıçanların deneme başındaki canlı ağırlıkları ile deneme sonundaki canlı ağırlıkları karşılaştırılmıştır.

Çizelge 1. Tüm gruplara ait canlı ağırlık, glikoz, insulin, adiponektin, resistin, serum lipid, TAS ve TOS düzeyleri (mean±SD, n=8)
Table 1. Body weight, glucose, insulin, adiponektin, resistin, serum lipid, TAS and TOS levels of all groups (mean±SD, n=8)

Parametreler	n	Kontrol X ± Sx	Nar Çekirdeği Yağı X ± Sx	Diyabet X ± Sx	Diyabet+Nar Çekirdeği Yağı X ± Sx	p
İlk Canlı ağırlık (g)	8	196,88±10,67 ^a	206,25±11,57 ^{ab}	226,25±13,82 ^b	219,38±11,16 ^b	0,001
Son canlı ağırlık (g)	8	218,250±6,80	213,75±8,24 ^b	179,71±11,57 ^a	186,80±12,1 ^a	0,001
Glukoz(başlangıç)(mg/dl)	8	102,75±12,33 ^a	102,00±11,26 ^a	110,88±13,70 ^a	98,63±11,16 ^a	0,421
Glukoz (bitiş) (mg/dl)	8	127,50±40,15 ^c	105,38±4,63 ^c	409,50±59,68 ^a	307,88±29,87 ^b	0,001
İnsülin (µg/l)	8	4,11±0,04 ^a	4,04±0,14 ^a	1,01±0,13 ^c	2,07±0,13 ^b	0,003
Adiponektin (µg/l)	8	9,06±1,17 ^a	10,30±0,91 ^a	5,19±0,65 ^b	8,98±1,407 ^a	0,002
Resistin (pg/ml)	8	0,35 ±0,04 ^a	0,37±0,011 ^a	0,36±0,02 ^a	0,35±0,03 ^a	0,315
Kolesterol (mg/dl)	8	51,71±3,28 ^{ab}	45,57±3,9 ^{ab}	56,6±7,4 ^b	45,14±4,58 ^a	0,031
HDL (mg/dl)	8	33,33±2,4 ^b	33,64±3,84 ^{ab}	28,90±3,9 ^a	30,69±2,4 ^{ab}	0,015
LDL (mg/dl)	8	7,72± 2,6 ^a	6,4±1,02 ^a	17,21±3,10 ^b	9,4±2,7 ^a	0,003
Trigliserit (mg/dl)	8	52,9±9,02 ^a	42,56±11,82 ^a	52,84±5,83 ^a	45,83±12,5 ^a	0,09
TAS(mmol trolox Eq/l)	8	1,14±0,36 ^{ab}	1,51±0,37 ^b	0,86±0,22 ^a	1,45±0,38 ^b	0,002
TOS (µ mol (H ₂ O ₂ Eq/l)	8	2,63±0,49 ^{ab}	1,92±0,47 ^a	4,95±1,13 ^c	3,22±0,52 ^b	0,001
OSI (Arbitrary Unit)	8	0,25±0,08 ^a	0,127±0,05 ^b	0,59±0,07 ^c	0,23±0,06 ^a	0,015

Yirmi günlük deneme sonunda kontrol ve nar yağı grubunun canlı ağırlıkları benzer düzeyde bulunurken, STZ ile diyabet oluşturulan grupta önemli ölçüde kilo kaybı gözlenmiştir. Nar yağı ilavesinin canlı ağırlık kazancı üzerine pozitif yönde minimal etkisi olmuştur. Yani 20 günde nar yağı diyabet grubuna 14 g olumlu katkıda bulunmuştur.

Sıçanlarda serum adiponektin değerleri diyabetli grupta kontrol ve nar çekirdeği yağı grubundan daha düşük olarak bulundu. Diyabetli sıçanlara nar çekirdeği yağı verilince 5,20 µg/l'ye düşen adiponektin 8,98 µg/l a yükseldi. Adiponektin düzeyleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulundu (p ≤ 0,002).

Serum insülin düzeyi kontrol ve nar çekirdeği yağı grubunda STZ verilmesini takiben diyabetli grupta 1,01 µg/l'a düştüğü tespit edildi. Bu diyabet oluşumunu destekleyen bir bulgudur ancak diyabetliler nar çekirdeği yağı verildiği zaman düzey yükseldi ve bu değer değişimleri yine nar çekirdeği yağının antidiyabetik etkisini vurgulamaktadır. Grupların insülin düzeyleri ortalamalar arasındaki fark anlamlı bulundu (p ≤ 0,003).

Resistin düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bulunmadı (p ≥ 0,05).

Nar çekirdeği yağının kolesterol üzerine etkisini göstermek için yapılan analizler sonucunda diyabetli grup 56,6 mg/dl ile en yüksek değere sahip oldu. Yalnız bu gruba nar çekirdeği yağı verilince düzey 45,14 mg/dl ye düşerek olumlu bir görünüş sergiledi. Grupların kolesterol düzeyleri ortalamalar arasındaki fark anlamlı bulundu (p ≤ 0,031).

HDL düzeyi diyabetli olanlarda bu değer 28,90 mg/dl ye inerken nar çekirdeği verilmesi halinde 30,69 mg/dl'ye yükseldi. Ama istatistiksel önem saptanmadı (p ≥ 0,05).

Diyabetik kontrol sıçanlarının serum LDL miktarları diğer üç gruptan oldukça yüksek bulundu. Kontrol ve nar çekirdeği yağı verilen gruplardaki 7,72 ve 6,4 mg/dl değerleri STZ ile diyabet oluşturulan grupta 17,2 mg/dl' ye

yükseldi. Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önem göstermektedir (p ≤ 0,003).

Kontrol grubu sıçanların serum trigliserit(TG) düzeyleri ile diyabetik kontrol sıçanları arasında anlamlı bir fark yoktu. Öte yandan nar çekirdeği yağı ve nar çekirdeği yağı ile tedavi edilen diyabetik sıçanların serum trigliserit düzeyleri hem kontrol hem de diyabetik grup sıçanlarının değerlerinden daha düşüktü. Ama istatistiksel önem saptanmadı (p ≥ 0,05).

Total antioksidan kapasite bakımından nar çekirdeği ilave edilen her iki grupta en yüksek değerlere ulaşıldı. Diyabette TAS düzeyi oldukça azalma gösterirken nar çekirdeği yağı ilavesi bu değeri yükseltmiş ve 0,86 (mmol trolox Eq/l) dan 1,45 (mmol trolox Eq/l) a çıkarmıştır. Grupların TAS düzeyleri ortalamalar arasındaki fark anlamlı bulundu (p ≤ 0,002).

Toplam oksidan seviye (TOS) için yapılan analizlerde diyabet grubunda en yüksek değer ölçüldü. Kontrol ve nar yağı grubunda en düşük miktarlar saptanırken, nar çirdeği yağı ileve edilen sıçanlarda TOS düzeyleri olumlu olarak azaldı. Grupların TOS düzeyleri ortalamalar arasındaki fark anlamlı bulundu (p ≤ 0,001).

Grupların OSI düzeyleri ortalamalar arasındaki fark anlamlı bulundu (p ≤ 0,015). Buna göre OSI oranı nar çekirdeğinin antioksidan özelliğinden önemli derecede etkilenmiş gözükmektedir.

Son yıllarda, çeşitli bitki ekstralarının diyabetes mellitus tedavisinde yararlı olduğu iddia edilmiştir. Daha önce gerçekleşen birçok araştırmada bu mekanizmayı farklı şekilde yorumlanmıştır. Bazı bitki ekstraları beta hücrelerinin rejenerasyonunu uyararak, pankreası zararlı etkenlerin yıkımından koruyarak, glukoz yüklemesine sınır getirerek, beta hücrelerinin insülin salgılaması uyararak veya insülin reseptörlerini aktive ederek kandan glukozun absorbe edilmesi gibi farklı mekanizma önerileri sunulmuştur (Jayaraman, 2009).

Nar bitkisinin farklı bölgelerden hazırlanan ekstraktlarının antidiyabetik ve anti-peroksidatif etkileri

bilinmektedir. Punica granatum sulu kabuk ekstraktının 0,43 g / kg dozunda diyabetik sıçanlara 4 hafta boyunca verilmesi, kan şekeri seviyesini ve insülin seviyesi artışını önemli düzeyde azaltmıştır. β hücre sayısı; sulu kabuk ekstresi verildiğinde nispeten artmış, bunun çok güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu, serbest radikal temizleyici olarak işleve ve β hücrelerini hasardan koruyabilecek kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Khalil, 2004).

Oksidatif stres, diyabetin kronik komplikasyonunda önemli bir rol oynar. Aboonabi ve ark., (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, diyabetik sıçanlar normal kontrol farelerine kıyasla, plazma glukoz seviyesinde önemli bir artış ve plazma insülin seviyesinde önemli bir düşüş göstermiştir. Nar çekirdeği suyu ile 21 gün boyunca yapılan oral tedavi, incelenen tüm biyokimyasal parametreler üzerinde önemli koruyucu etkiler göstermiştir. Ayrıca biyokimyasal bulgular histopatolojik çalışma ile desteklenmiştir. Bu sonuçlar, narın oksidatif stres kaynaklı diyabetik sıçanlara karşı potansiyel koruyucu etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Aboonabi ve ark., 2014). Bushra ve ark., (2018) nar çekirdeği verilmesinin hiperglisemiyi azaltarak antidiyabetik etki yaptığını tespit etmiştir. Nar çekirdeği yağı ile tedavi edilen sıçanlarda serum insülin seviyeleri anlamlı derecede yüksektir ve diyabetik kontrol grubu ile kan glukozu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu durum nar çekirdeği yağının açlık kan şekerini değiştirmeden insülin sekresyonunu iyileştirdiğini düşündürmektedir (Nekooeyan ve ark, 2014).

Vroegrijk ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışma, nar çekirdeği yağı (PSO) takviyesinin gerçekten farelerde periferik insülin duyarlılığını arttırdığını gösteren çalışmadır. Sonuç olarak PSO takviyesinin yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde insülin duyarlılığını arttırdığını ve en azından kısmen iyileştirdiğini göstermektedir. Şimdiye kadar, PA'nın serum lipit, glukoz metabolizması ve insülin direnci üzerindeki etkisini test etmek için yapılan deneysel çalışmalarda tartışmalı sonuçlar doğurmuştur (Shabbir ve ark., 2017).

Sunulan bu çalışmada deneme başında tüm sıçanların açlık kan glukoz değerleri ölçülmüş olup dört grup içinde önemli farklılık bulunmamıştır. Ancak STZ verilmesini takiben diyabet oluşturulan grupta normal değerler yaklaşık 4 kat yükselerek 409.50 mg/dl ye ulaşmış 20 günlük nar yağı verilmesi ile bu değer 307,88 mg/dl 'ye düşmüştür ($p < 0,001$). Bu düşüş yaklaşık olarak % 25 civarında olup, 20 günlük zaman aralığına sığması nar yağının kan glukozu üzerine olumlu etkisinin olduğunu göstermiştir. Serum insülininde PSO kaynaklı bir artışın mekanizması net değildir. Ancak, PPAR- γ duyarlı genlerin yukarı regülasyonu ile ilişkili olabilir. PSO'nun ana bileşeni olan Punisik asitin bu tür genleri yukarı regüle ettiği gösterilmiştir (Nekooeyan ve ark., 2014).

Sunulan bu çalışmada insülin düzeyleri kontrol ve nar çekirdeği yağı grubunda normal düzeylerde iken diyabetli sıçanlarda % 75 oranında azalmış ve istatistiki olarak önemli ($p < 0,05$) bulundu. Nar çekirdeği yağı ilavesinin insülin düzeyine olumlu etki ederek 1,01 μ g/l den 2,07 μ g/l

ye yükseldiği görüldü. Bu artış nar yağının kan glukoz düzeyini düşüren etkisinin insülin düzeyini artırması ile ilişkili olabilir. Azalan insülin ile yükselen kan şekeri, artmış insülin ile azalacaktır. Bu sonuçlar diyabet açısından önemli olarak değerlendirilebilir.

Adiponektinin, nükleer faktör kB sinyalini cAMP bağımlı geçit aracılığı ile düzenlediğine inanılmaktadır (Ouchi ve ark., 2000). Bu nedenle, yangısal uyarılara cevapta endotel hücrelerinin endojen bir regülatörü gibi görev yaptığı düşünülmektedir (Ouchi ve ark., 2000) Düşük dolaşım seviyeleri, özellikle yüksek molekül ağırlıklı bileşeni (Hara ve ark., 2006), metabolik sendrom ve tip 2 diyabet gelişimi için de güçlü bir risk belirteçidir (Kaser ve ark., 2008). Farmakolojik olarak adiponektin insülinin direncini azalttığı ve obez olarak nitelendirilen farelerde kas ve karaciğer yağ asiti ve triasilgliserol miktarında saptanan azlık ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Fruebis ve ark., 2001; Yamauchi ve ark., 2001). Sunulan bu öngöründe beta oksidasyon ve enerji tüketiminde yer alan bazı enzimlerin gen ekspresyonundaki artışın etkisi büyüktür (Yamauchi ve ark., 2001). Son yıllardaki bazı çalışmalarda açlık plazma adiponektin miktarının iskelet kaslarında bulunan insülin reseptörlerinin tirozin fosforilasyonlarında fonksiyonları açıklanmıştır (Halleux ve ark., 2001) İnsülin duyarlılığında iyileşme ile adiponektin düzeyleri arasında önemli ilişkiler saptanmıştır. PSO verilen diyabetik sıçanlara göre yüksek yağlı (HF) diyetle beslenenlerin daha yüksek insülin konsantrasyonuna sahip olduğu, ancak diğer diyabetik sıçanlara göre % 42 daha yüksek olduğu saptanmıştır. HF'la beslenenlerde PSO verilen gruba kıyasla leptin ve adiponektin daha düşük düzeyde bulunmuştur. PSO verilmesinin insülin duyarlılığında bir iyileşmeyi gösterdiği vurgulanmıştır (McFarlin, 2009). Fu ve Luo (2005) düşük plazma adiponektin seviyelerinin obezite, insülin direnci ve kardiyovasküler hastalık gelişimi ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Sunulan bu çalışmada kontrol grubunda 9,06 \pm 1,17 (μ g/l) olan adiponektin düzeyi, diyabetli sıçanlarda 5,19 \pm 0,65 (μ g/l) düşmüştür. Diyabetli gruba nar yağı verildiği zaman bu değer 8,98 \pm 1,407 (μ g/l) 'a yükselmiştir ($p \leq 0,002$). Adiponektin düzeyindeki bu değişim nar çekirdeği yağının adiponektin miktarlarını artırdığını, yapılan diğer çalışmalar ile uyum içinde olduğunu göstermektedir.

Resistin diyabetik fare modelinde insülin direnci ve obezitede önemli bir rol oynamaktadır. Resistin konsantrasyonları, gestasyonel diyabetli hastalarda; normal glukoz toleransı göre daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,0001$). GDM'li hastalarda gözlenen serum resistin yükselmelerine, insülin düzeyleri ile değil, serum IL-6 düzeyleri ile korele edilmiş, bu da GDM'li hastalarda insülin duyarlılığındaki değişikliklere resistin içerebilen enflamatuar yollardan kaynaklandığını düşündürmektedir (Kusminki ve ark., 2005). Resistin ile obezite ve / veya diyabet arasındaki ilişkilere ait bulgularda tutarsızlıklar raporları vardır. Bazı kemirgen modellerinde, obez hayvanların yağ dokusundaki resistin mRNA ekspresyonunun, serum insülin veya glukoz ile korele olmayan serum resistin seviyeleri ile korelasyon

bulunmadığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2003) başka bir çalışmada (Laudes ve ark., 2010), obez deneklerde resistin ekspresyonunun kontrollere kıyasla önemli ölçüde arttığını, ancak DM2 ile korelasyon olmadığını bulunmuştur. Açıkçası, direncin, obezite ile ilişkili insülin direncinin patogeneze dahil olması DM2'nin daha fazla araştırılmasını gerektirmektedir. Resistin, belirli popülasyonlarda insülin direncine yönelik bir biyobelirteç olarak katkıda bulunur.

Mollazadeh (2016), PSO verilen grubu STZ verilen grupla karşılaştırınca; doku MDA miktarı, serum kreatinin ve üre seviyelerinde önemli bir azalmaya neden olduğunu bulmuştur. Nar çekirdeği yağı tedavisi ile lipit profili iyileşirken tiyol içeriğinde tükenme ve STZ'nin neden olduğu histolojik anormalliklerde önemli ölçüde tersine dönüş saptanmıştır. PSO'nun koruyucu etkilerinin göstergesi olarak kabul edilen serum biyokimyasal parametrelerinde oksidatif stres belirteçlerinde azalma, histopatolojik bulgularda iyileşme ile destek bulunmuştur (Mollazadeh ve ark., 2016). Nekooeian ve ark. (2014) çalışmasında PSO'nun tip 2 diyabetli sıçanlarda lipit profilini değiştirmede gösterilmiştir. Sonuçlar STZ verilen grupla, sonradan nar çekirdeği yağı ile tedavi edilen gruplarda serum LDL seviyesinin önemli ölçüde düştüğünü tespit edilen (Mollazadeh, 2016) çalışması ile uyum içindedir. Serum HDL seviyesi de sadece PSO ile tedavi ile önemli ölçüde artmıştır. Serum TG düzeyi nar çiçeği yağı ile tedavi edilen gruplarda anlamlı olarak azalmıştır (p <0,01). Diyabetik kontrol ve (PSO) gruplarının serum TG, total kolesterol, LDL-C veya HDL-C seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığını tespit eden çalışmalar vardır (Nekooeian ve ark., 2014).

Aboonabi ve ark. (2014), narın, gelişmiş antioksidan enzimatik durumunun yanı sıra glisemik ve azalmış lipit peroksidasyonunun kanıtı olarak plazma STZ-NA ile indüklenen diyabetik sıçanlarda oksidatif stresi iyileştirme yeteneğine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Toplam antioksidan durumu (TAS), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri azalırken, gama-glutamil transferaz (GGT) ve malondialdehit (MDA) gibi oksidatif stresin biyobelirteç seviyeleri artmıştır. Mollazadeh ve ark. (2017), nar çekirdeği yağı tedavisinde hem doku hem de mitokondriyal fraksiyonlarda diyabetik gruba kıyasla incelenen enzim aktivitesinde önemli bir artış ve OSI değerlerinde azalma meydana geldiğini, nar çekirdeği yağının H9c2 hücrelerinde glukozaya bağlı toksisiteyi, ROS seviyesini ve lipit peroksidasyonunu önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir.

Sonuç

Çalışma sonuçlarımızda TAS ile TOS seviyeleri kontrol ve nar çekirdeği grubunda değişmediği fakat diyabetli grupta oksidan etkisi aracılığı ile değiştiği TOS düzeylerindeki bu artışın nar çekirdeği yağı verilmesiyle azaldığı gözlemlendi. Buna karşılık diyabetik sıçanlarda TAS seviyeleri azalırken, nar çekirdeği yağı grubunda TAS seviyeleri artmıştır. Diyabetik sıçanlarda OSI değerleri

oksidanların varlığı ile arttığı, nar çekirdeği yağı ilavesi ile ise normal seviyelere indiği tespit edildi. Diyabetik grupta resistin düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmamasına rağmen insülin ve adiponektin düzeylerinde anlamlı azalma görüldü. Trigliserit düzeyleri tüm gruplarda benzer bulundu. Diğer üç grupla karşılaştırıldığında diyabetik sıçanlarda LDL kolesterol, TOS ve OSI düzeyleri artmış, HDL düzeyleri ise azalmıştır. Bu bulgular nar çekirdeği yağının diyabette yükselen glukoz düzeyini düşürmesi, artmış kolesterol, LDL TOS ve OSI değerlerindeki yükselmeleri önlemesi ayrıca HDL ve TAS düzeylerindeki azalmaları tersi yöne çevirmesi etkisi ile diyabette gözlenen olumsuz değişimleri düzeltebileceği, antioksidan olarak önemli bir antioksidan madde olarak diyabete bağlı bozukluklarda faydalı olabileceği sonucuna varıldı.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Teşekkür

Bu makale Rahaf Alhalabi Baskın tarafından çalışılan "STZ İle Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Nar Çekirdeği Yağının Antidiyabetik Ve Antioksidant Etkileri" başlıklı Doktora Tezinden üretilmiştir. Bu çalışma VAN YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TDK-2018-7371 No'lu proje olarak desteklenmiştir. Bu tez projesini destekleyen Van YYÜ Bilimsel Araştırma Proje Birimi Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Aboonabi, A., Rahmat, A., & Othman, F. (2014). Antioxidant effect of pomegranate against streptozotocin-nicotinamide generated oxidative stress induced diabetic rats. *Toxicol Rep*, 1, 915-22. DOI: 10.1016/j.toxrep.2014.10.022
- Bushra, Rl., & Khalil, LW. (2018). Effect of pomegranate seed oil on glycemic index in diabetic rabbits. *Ind J Natur Science*, 8 (49), 14362-7.
- Comba, A., Sarıpınar Aksu, D., başbuğan, Y., & Comba, B. (2023). Effect of Barley Grass Juice on Antioxidant Capacity and DNA Damage in Diabetic Rats. *Hitit medical journal*, 5(3). DOI: 10.52827/hititmedj.1281145
- Comba, B., Taş, A., Comba, A., Yurdakul, İ., & Yörük, İH. (2015) . Effect of sildenafil citrate on MDA, GSH, retinol, vitamin D3 and α -tocoferole levels in wound healing: diabetic rat model. *Journal of Applied Biological Sciences*, 9, 82-85.
- Comba, B., Mis, L., Uslu, S., & Comba, A. (2017). The effect of barley grass on antioxidant capacity and DNA damage in rat with renal failure. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26, 6135-6140.
- Erel, O. (2005) A new for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 38, 1103-11. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008
- Fruebis, J., Tsao, T.S., Javorsehi, S., Ebbets-Reed, D., Erickson, M.R., & Yen, F.T. (2001). Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte; complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *PNA*, 98, 2005-10. DOI: 10.1073/pnas.98.4.2005
- Fu., Y., & Luo, N. (2005). Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J Lipid Res*, 46, 1369-79. DOI: 10.1194/jlr.M400373-JLR200.

- Hara, K., Horikoshi, M., Yamauchi, T., Yago, H., Miyazaki, O., Ebinuma, H., Imai Y, Nagai R., & Kadowaki, T. (2006). Measurement of the high-molecular weight form of adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 29,1357-62. DOI: 10.2337/dc05-1801
- Halleux, C.M., Takahashi, M., Delporte, M.L., Detry, R., Funahashi, T., & Matsuzawa, Y. (2001). Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Comm*, 288,1102-7
- Harzallah, A., & Hammami, M. (2016). Comparison of potential preventive effects of pomegranate flower, peel and seed oil on insulin resistance and inflammation in high-fat and highsucrose diet-induced obesity mice model. *Arch Physiol Biochem*, 122(2),75- 8. DOI: 10.3109/13813455.2016.1148053.
- Jayaraman, R., Shivakumar, A., Anitha, T., Joshi, V.D., & Palei, NN. (2009) .Antidiabetic effect of petroleum ether extract of *Citrullus colocynthis* fruits against streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Rom J Biol Plant Biol*, 54 (2),127-34.
- Kusminski, C., Mcernan, P., & Kumar, S. (2005). Role. of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci*,109,243-56. DOI: 10.1042/CS20050078
- Laudes, M., Oberhauser, F., Schulte, D.M., Freude, S., Bilkovski, R., & Mauer, J. (2010). Visfatin/PBEF/Nampt and resistin expressions in circulating blood monocytes are differentially related to obesity and type 2 diabetes in humans. *Horm Metab Res*, 42, 268-73. DOI: 10.1055/s-0029-1243638
- Lee, JH., Chan, J.L., Yiannakouris, N., Kontogianni, M., Estrada, E., & Seip, R. (2003). Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 88, 4848- 56. DOI: 10.1210/jc.2003-030519.
- McFarlin, B. (2009). Pomegranate seed oil consumption during a period of high-fat feeding reduces weight gain and reduces type 2 diabetes risk in CD-1 mice. *Br J Nutr*, 1, 54–59. DOI: 10.1017/S0007114508159001.
- Karabay, G., Zağyapan, R., & Take, G. (2006). Streptozotocinle oluşturulan diabetin sıçan periferik sinirleri üzerine etkisinin elektron mikroskopik incelenmesi. *Uludağ Üniv Tıp Fak Derg*, 32(3),77-81.
- Kaser, S., Tatarczyk, T., Stadlmayr, A., Ciardi, C., Röss, C., & Tschoner, A. (2008). Effect of obesity and insulin sensitivity on adiponectin isoform distribution. *Eur J Clin Invest*, 38,827-34. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2008.02028.x
- Khalil, E. (2004). Antidiabetic effect of an aqueous extract of Pomegranate (*Punica granatum L.*) peels in normal and alloxan diabetic rats. *The Egypt J Hosp Med*, 92 –9. DOI: 10.21608/ejhm.2004.18177
- Mis, L., Comba, B., Uslu, S. & Yeltekin, A.Ç. (2018). Effect of Wheatgrass on DNA Damage, Oxidative Stress Index and Histological Findings in Diabetic Rats. *International Journal of Morphology*, 36, 1235-1240. DOI: 10.4067/S0717-95022018000401235.
- Mollazadeh, H., Hoseini, A., Farzadnia, M., & Boroushaki, M. (2016). Effects of pomegranate seed oil on oxidative stress markers, serum biochemical parameters and pathological findings in kidney and heart of streptozotocin-induced diabetic rats, *Renal Fail*,38 (8),1256-66. DOI: 10.1080/0886022X.2016.1207053
- Mollazadeh, H., & Boroushaki, M. (2017). Effects of pomegranate seed oil on oxidant/antioxidant balance in heart and kidney homogenates and mitochondria of diabetic rats and high glucose-treated H9c2 cell line. *Avicenna J Phytomed*, 4, 317-33. PMID: PMC5580870
- Nekooiean, A., Eftekhari, M., & Adibi, S. (2014). Effects of pomegranate seed oil on insulin release in rats with type 2 diabetes, *Iran J Med Sci*, 39(20),130-5. PMID: PMC3957012
- Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Okamoto, M., Macda. K., & Kuriyama, H. (2000). Adiponectin, adipocyte-derived plasma protein inhibits endothelial NFκB signaling through cAMP dependent pathway. *Circulation*, 102,1296-301. DOI: 10.1161/01.cir.102.11.1296
- Shabbir, M.A., Khan, M.R., Saeed, M., Pasha, I., Khalil, A.A., Siraj, N. (2017) Punicic acid: A striking health substance to combat metabolic syndromes in humans. *Lipids Health Dis*. 30;16(1). DOI: 10.1186/s12944-017-0489-3
- Seghrouchni, I., Draï, J., Bannier, E., Riviere, J., Calmard, P., & Garcia, I. (2002). Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus, insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta*,321(2),89-96. DOI: 10.1016/s0009-8981(02)00099-2
- Vroegrijk, I., Diepen, J., Berg, S., & Westbroek, I. (2011). Pomegranate seed oil, a rich source of punicic acid, prevents diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Food Chem Toxicol*, 49,1426-30. DOI: 10.1016/j.fct.2011.03.037
- Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H. (2001). The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med*,7,941-6. DOI: 10.1038/90984