

PAPER DETAILS

TITLE: Effect of Pine Oil on Antihyperglycemic and Some Biochemical Parameters in serum of Streptozotocin Induced Tip-2 Diabetic rats

AUTHORS: Ersin DEMİR,Ökkes YILMAZ

PAGES: 140-156

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/165590>



[http://dx.doi.org/ 10.7240/201332504](http://dx.doi.org/10.7240/201332504)

Streptozotosin ile Tip-2 Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Çam Yağının

Antihiperglisemik ve Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisi

Ersin DEMİR^{1*}, Ökkeş YILMAZ¹

¹Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 23169, Elazığ

Özet

Bu çalışma, streptozotosin ile Tip-2 diyabet oluşturulan Wistar sıçanlarda çam yağının hiperglisemi ile bazı biyokimyasal parametrelere etkisinin araştırılması için tasarlandı. Sıçanlar, kontrol (K), diyabet (STZ-DM) ve diyabet+çam yağı (STZ-DM+ÇY) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Diyabet gruplarına intraperitoneal enjeksiyonla streptozotosin (45 mg/kg) verilerek diyabet oluşturuldu. Çam yağı grubundaki sıçanlara (STZ-DM+ÇY) haftada iki gün 1 ml/kg (v/v) dozunda intraperitoneal enjeksiyonla çam yağı ve 1 g/L düzeyinde saf çam yağı içme suyuna ilave edilerek verildi. Analiz sonuçlarına göre, STZ-DM grubu ile karşılaştırıldığında STZ-DM+ÇY grubunda açlık kan glikoz düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), vücut ağırlığının anlamlı ($p<0.001$) bir şekilde arttığı saptandı. STZ-DM grubuna göre STZ-DM+ÇY grubunun serumunda MDA-TBA düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$) saptandı. Elde ettiğimiz sonuçlara göre K grubu ile karşılaştırıldığında STZ-DM grubunda vitamin K₂, vitamin D₃, α -tokoferol, retinol, kolesterol ve sterol miktarı önemli düzeyde ($p<0.001$) artmıştır. Ayrıca serumda STZ-DM grubuna göre STZ-DM+ÇY grubunda vitamin K₂, α -tokoferol ve sterol düzeyinin anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) azaldığı, vitamin D₃, retinol, vitamin K₁ ve kolesterol düzeyinin anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) arttığı saptandı. Elde ettiğimiz verilere kontrol göre STZ-DM grubunda stearik, oleik ve linoleik asit düzeyinin anlamlı ($p<0.001$) düzeyde arttığı tespit edildi. Ayrıca STZ-DM grubuna göre STZ-DM+ÇY grubunda stearik, oleik ve linoleik asit düzeyinin anlamlı düzeyde ($p<0.001$) azaldığı, palmitoleik asit düzeyinin anlamlı düzeyde ($p<0.001$) arttığı belirlendi. Bu çalışma, çam yağının hipoglisemik potansiyele sahip olduğunu ve ayrıca serumda bazı biyokimyasal parametreler üzerinde olumlu etki gösterdiği tespit edildi.

Anahtar sözcükler: Hiperglisemi, çam yağı, lipid peroksidasyon, antioksidan aktivite, yağ asidi

Effect of Pine Oil on Antihyperglycemic and Some Biochemical Parameters in serum of Streptozotocin Induced Tip-2 Diabetic rats

Summary

The present study was designed to evaluate the effect of pine oil on hyperglycemia and some biochemical parameters in streptozotocin-induced type- 2 diabetic rats. Rats were divided into three groups: control (C) diabetes (STZ-DM), diabetes+pine oil (STZ-DM+PO) grups. Diabetes induced in rats by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (45 mg/kg). 1 ml/kg the dose pine oil was intraperitoneally injected twice in a week to the diabetes+pine oil (STZ-DM+PO), plus 1 g/L dose of pure pine oil was added to drinking water of these group. According to our analysis results; fasting blood glucose levels were significantly decreased ($p<0.001$) in STZ-DM+PO group when compared to STZ-DM group. In addition, body weight was found to increase significantly ($p<0.001$) in STZ-DM+PO compared to STZ-DM group. MDA-TBA levels in serum decreased significantly ($p<0.001$) in STZ-DM+PO group in comparison to STZ-DM group. While compared to control group; vitamin K₂, vitamin D₃, α -tocopherol, retinol, cholesterol and sterols level were significantly ($p<0.001$) increased in STZ-DM group. Also when compared to STZ-DM group; vitamin K₂, α -tocopherol and sterols levels decreased significantly ($p<0.001$), vitamin D₃, retinol, vitamin K and cholesterol levels increased significantly ($p<0.001$) in the sera of STZ-DM+PO group. According to our results; stearic acid, oleic acid, linoleic acid levels were significantly ($p<0.001$) increased in control groups and also stearic acid, oleic acid, linoleic acid levels decreased significantly ($p<0.001$), palmitoleic acid level increased significantly ($p<0.001$) in the serum of STZ-DM+PO group when both of the groups compared to STZ-DM group. This study demonstrates that pine oil possesses hypoglycemic potentials in STZ induced diabetic rats and concluded that pine oil has positive effect on some biochemical parameters in the serum.

Keywords: Hyperglycemia, pine oil, lipid peroxidation, antioxidant activity, fatty acid

Giriş

Diabetes mellitus insülin eksikliği veya dokuların insüline karşı oluşturduğu direnç sonucunda meydana gelen karbohidrat, lipid ve protein metabolizmasında bozukluklara yol açan ve kendisine özgü komplikasyonları olan bir hastalıktır. Çok su içme, çok idrara çıkma, normal veya aşırı yemeye rağmen kilo kaybı klasik semptomlarıdır [1]. Son yıllarda dünya genelinde diyabetli kişi sayısında ciddi bir artış görülmekte ve 2030 yılında diyabetli kişi sayısının 366 milyona ulaşacağı öngörülmektedir [2]. Bu tarihte Türkiye' de diyabetli hasta sayısının 6,5 milyon kişiye ulaşacağı tahmin edilmektedir [3].

Özellikle Tip-2 diyabetin tedavisi için çeşitli ilaç geliştirilmiş olmasına rağmen, ilaçların karaciğer ve böbreklerde oluşturduğu toksisite ve ilaçların hasta beklentilerini karşılayamaması nedeniyle hastaları çeşitli alternatifleri aramaya itmiştir. Bitkiler, anti diyabetik özelliği olan ilaçların keşfinde önemli bir kaynak durumundadır. [4]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünya genelinde tıbbi amaçlar için kullanılan 21.000 bitkiyi tanımlamış ve tanımladığı bitkilerin bir kısmı diyabet hastaları tarafından kullanılmaktadır [5].

Çam, Akdeniz ve İran-Turan bölgelerinin en yaygın tıbbi bitkilerinden biridir [6]. Çam yağı kızılçam bitkisinden elde edilmektedir. Türkiye’de çam türlerinde elde edilen drogların özellikle antiseptik, balgam sökücü, solunum ve üriner sistem hastalıkları, romatizma ağrıları ve cilt hastalıklarında kullanılmaktadır [7, 8]. Ayrıca çamdan elde edilen terebentinin antioksidan ve analjezik aktiviteye sahip olduğu [9], başka bir çalışmada ise çam yapraklarında bulunan uçucu yağların sakinleştirici, ağrı kesici, ateş düşürücü ve anti-enflamatuar etkileri bulunduğu rapor edilmiştir [10].

Diyabet ile ilgili komplikasyonların ortaya çıkmasında oksidatif stresin çok önemli rol oynadığı ifade edilmiştir [11]. Diyabetik süreçte hipergliseminin süreklilik arz etmesi oksidatif stresi tetikleyen reaktif oksijen türevlerinin artmasına neden olmaktadır [12]. Oksidatif stresin oluşturduğu reaktif oksijen türevleri hücre membranını oluşturan lipit tabakasıyla etkileşime girerek lipit peroksitlerini üretmekte [13], oluşan bu lipit peroksitler hücrelerde hasar oluşturarak kanser, diyabet ve nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir [14,15, 16].

Antioksidanlar, serbest radikallerin başlattığı oksidasyonu önleme ya da geciktirme özellikleri ile vücut hücrelerini oksidatif hasardan korumaktadırlar. Bitkiler en önemli antioksidan kaynaklarıdır. Karotenoidler, flavonoidler askorbik asit ve alfa tokoferol bitkiler tarafından üretilen en önemli antioksidan moleküllerdir [17]. Yapılan çalışmalarda çamda bulunan bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır [18, 19]. Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan diyabette çam yağının hipoglisemik etkileri ile serumda oksidatif stres (MDA, GSH), yağ asidi kompozisyonu, yağda çözünebilen vitaminler, total kolesterol ve bazı steroller üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Deney Hayvanları: Deneysel uygulamalar, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu’ndan onay alınarak gerçekleştirildi (Etik karar no: 05.05.2011/81). Bu çalışmada 30 adet 8-10 haftalık Wistar albino ırkı erkek sıçanlar kullanıldı.

Deneysel diyabetin oluşturulması: Bu sıçanlar rastgele kontrol (K), diyabet (STZ-DM) ve diyabet+çam yağı (STZ-DM +ÇY) olmak üzere üç gruba dağıtıldı. Diyabet oluşturmak için diyabet ve diyabet+çam yağı gurubunu oluşturan sıçanlara 45 mg/kg dozunda streptozotosin (STZ) sitrat tamponunda (pH 4.5) çözülerek intraperitoneal enjeksiyonla verildi [20]. 72 saatin sonunda tüm sıçanlar bir gece önceden aç bırakıldı. Aç bırakılan sıçanların kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazında okunması suretiyle açlık kan glikoz düzeyleri ölçüldü. Bu ölçüm sonucunda, açlık kan glikoz düzeyi 140-200 mg/dL arası olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi ve çalışmaya dahil edildi [21]. Bu çalışma 60 gün sürdü ve çalışmanın sonunda tüm sıçanlar servikal dekapitasyon yolu ile dekapite edildi. Kan örnekleri EDTA’lı tüplere alındı, sonra kan örnekleri 5000 rpm de 5 dk santrifüj edildi, supernatan ayrı bir deney tüpüne alındı, analizler yapıncaya kadar -86°C’de saklandı. Çam yağı dimetil sülfoksit (DMSO) ile seyreltildi, kullanıma hazır hale getirilen çam yağı solüsyonu, diyabet+çam yağı grubuna haftada iki gün 1ml/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla verildi, ayrıca deney boyunca 0.5 ml çam yağı, 500 ml içme suyuna eklenerek, sıçanların bu suyu içmesi sağlandı. Bu süre zarfında K ve STZ-DM grubuna haftada iki gün 1ml/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla DMSO uygulandı.

Protein tayini: Serumda protein tayini Lowry ve arkadaşlarının tanımladığı metoda göre spektrofotometrik olarak ölçüldü [22]. 10 µl serum örneğine lowry çözeltisi eklendi ve 10 dakika beklendi süre sonunda su ile seyreltilmiş folin reaktifi eklendi ve 30 dakika sonra 760 nm dalga boyunda ölçüldü.

TBA-MDA tayini: TBA-MDA düzeyi Okawa ve arkadaşlarının tanımladığı metotta bazı değişiklikler yapılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü [23]. 1ml alınan serum örneği üzerine 0,5 ml % 8,1'lik SDS (sodyum dodesil sülfat), 0,5 ml % 0.8' lik TBA (tiyobarbitürik asit), 1ml % 10' luk TCA (trikloroasetik asit), 1ml % 20' lik glasiyel asetik asit ve 50 µl % 4' lük BHT (Bütlat Hidroksi Toluen) eklendi ve bu karışım vortekslendi ve sonra 60 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Tüpler soğutulduktan sonra 4 ml butanol/piridin (1:15 oranında) karışımı ilave edildi ve sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Üsteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbansları okundu.

Serumda Lipid Kompozisyonu, ADEK Vitamin, Kolesterol ve Sterol Tayini: Serum örneklerinde lipit, ADEK vitamin, kolesterol ve sterol ekstraksiyonu Hara ve Radin tarafından tanımlanan metoda göre yapıldı [24]. Bunun için, serum örnekleri 3:2 (v/v) oranında hekzan-isopropanol karışımı ile homojenize edildi. Daha sonra bu homojenat santrifüj edilerek elde edilen supernatant kısımdan ADEK vitamin, kolesterol, sterol ve yağ asidi analizi yapıldı. Yağ asitlerinin gaz kromatografisinde (GC) analizinin yapılabilmesi için metil ester türevlerine dönüştürülmesi gerekmektedir bunun için Christie 'nin ifade ettiği asit katalizörlü esterleştirme metodu kullanıldı [25].

Yağ asidi ölçümü için ayrılan örneklerin üzerine % 2 'lik metanolik sülfürik asitten 5 mL ilave edildi, vortex ile iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 55 °C'de 15 saat süre ile metilleşmeye bırakıldı. 15 saatlik süre sonunda, tüpler etüvden çıkarıldı oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 ml % 5 lik sodyum klorür ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri 5 ml hekzan ile ekstre edildi ve hekzan fazı üstten pipetle alınarak 5 mL % 2'lik KHCO₃ ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 saat bekletildi. Daha sonra metil esterlerini içeren karışımın, 45 °C'de ve azot akımı altında çözücüsü uçuruldu, 1 ml n-heptan ile çözülerek gaz kromatografisinde analiz edildi. Yağ asidi metil esterleri gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için SP™-2380 kapiller GC kolon (L× ID. 30 m × 0.25 mm, df 0.20 µm) (Supelco, Sigma, USA) kullanıldı.

ADEK vitamin, kolesterol ve sterol için alınan serum örneklerinin üzerine 5 ml % 5'lik KOH çözeltisi ilave edildi. Vortekslendikten sonra 85 °C'de 15 dakika bekletildi. Tüpler çıkartılarak oda sıcaklığında soğutuldu ve üzerine 5 ml saf su ilave edildi ve karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2x5 mL hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı azot akımı ile uçuruldu. 1 ml (% 60+% 40, v/v) asetonitril/metanol karışımında çözülerek HPLC-UV'de analiz edildi. Mobil faz olarak asetonitril/metanol (%60+%40, v/v) karışımı kullanıldı. Analizde Süpelcosil LC™ 18 (15x4.6 mm, 5 µm; Sigma, USA) kolon kullanıldı.

İstatistik Analizi: İstatistiksel analiz için, SPSS 15.0 paket programı kullanıldı. Kontrol grubu ile deneysel grupları arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi (DMRT) kullanılarak yapıldı [26]. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi için P değeri p<0.05 olarak belirlendi.

Bulgular

STZ enjeksiyonundan sonra, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ-DM grubunda açlık kan glikoz düzeyinin önemli düzeyde arttığı belirlendi ($p<0.001$). STZ-DM grubuna göre STZ-DM+ÇY grubunda açlık kan glikoz düzeyinin anlamlı bir şekilde azalarak ($p<0.001$), kontrol grubu değerlerine yaklaştığı tespit edildi. Deney sonunda, STZ-DM grubu ile mukayese edildiğinde STZ-DM+ÇY grubundaki sıçanların vücut ağırlıklarının anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi ($p<0.001$) (Tablo 1 ve 2).

Kontrol grubuna göre STZ-DM grubunda, MDA-TBA düzeyinin anlamlı düzeyde arttığı bulundu ($p<0.001$). STZ-DM grubu ile karşılaştırıldığında STZ-DM+ÇY grubunun serumunda, MDA-TBA düzeyini anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$) tespit edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, STZ-DM grubunun serumunda, total protein düzeyinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$), STZ-DM+ÇY grubunun serumda ise azaldığı fakat bu azalışın istatistiksel öneminin olmadığı ($p>0.05$) tespit edildi (Tablo 3).

Deney gruplarının serumunda yağ asidi değişimi Tablo 4' de gösterildi. Bu tabloya göre kontrol grubuna göre STZ-DM grubunda 16:1 n-7 düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), 18:0 ve 18:1 n-9 düzeyinin ise anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) arttığı tespit edildi.

Tablo 1. Sıçanların açlık kan glukoz düzeyindeki değişimi (mg/dL)

	K	STZ-DM	STZ-DM+ÇY
STZ' den sonra	96.33±0.71 ^c	148.75±2.39 ^b	273.82±11.31 ^a
Deney sonu	99.33±0.67 ^b	152.33±2.02 ^a	99.57±2.38 ^b

Sonuçlar ortalama±standart (n=10) hata olarak verildi. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P<0.05$) (DMRT)]

Tablo 2. Sıçanların vücut ağırlıklarının değişim (g)

	K	STZ-DM	STZ-DM+ÇY
Deneyin başlangıcı	192.17±0.83 ^b	200.67±3.06 ^a	193.54±1.14 ^{ab}
Deneyin sonu	247.33±1.3 ^{ab}	244.50±2.02 ^b	252.43±1.62 ^a

Sonuçlar ortalama±standart (n=10) hata olarak verildi. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P<0.05$) (DMRT)]

Tablo 3. Serumda MDA-TBA ve total protein düzeyindeki değişim

	K	STZ-DM	STZ-DM+ÇY
MDA-TBA (nmol/g)	4.63±0.06 ^c	6.79±0.01 ^a	6.14±0.22 ^b
Total Protein (µg/g)	83.55±0.76 ^b	108.14±1.28 ^a	106.95±1.39 ^a

Sonuçlar ortalama±standart (n=10) hata olarak verildi. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir (P<0.05) (DMRT)]

16:0, 18:2 n-6, 20:4 n-6 ve 22:6 n-3 düzeyinde görülen değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi (p>0.05). STZ-DM grubu ile karşılaştırıldığında STZ-DM+ÇY grubunun serumunda 18:1 n-9 düzeyinin belirgin bir şekilde (p<0.001) arttığı, 18:0 ve 18:1 n-9 düzeyinin ise belirgin bir şekilde azaldığı (p<0.001) saptandı. 16:0, 18:2 n-6, 20:4 n-6 ve 22:6 n-3 düzeyinde ortaya çıkan değişikliklerin istatistiksel bir anlamı olmadığı tespit edildi (p>0.05).

Tablo 4. Deneyisel Tip-2 diyabet oluşturulmuş sıçanların serumunda yağ asidi değişimi (%)

	K	STZ-DM	STZ-DM+ÇY
Palmitik asit 16:0	22.60±0.19 ^b	23.37±0,32 ^{ab}	23.97±0.26 ^a
Stearik asit 18:0	10.74±0.22 ^c	12.49±0,14 ^a	11.40±0.17 ^b
Palmitoleik asit 16:1, n-7	3.06±0.10 ^a	2.70±0,05 ^b	3.22±0.05 ^a
Oleik asit 18:1, n-9	18.88±0.14 ^b	23.07±0,51 ^a	18.85±0.15 ^b
Linoleik asit 18:2, n-6	21.35±0.33 ^b	22.52±0,30 ^a	21.27±0.29 ^b
Araşidonik asit 20:4, n-6	16.58±0,33	17.36±0.32	16.35±0.30
Dokosaheksaenoik asit 22:6, n-3	2.60±0,22	2.27±0.08	2.62±0.12

Sonuçlar ortalama±standart (n=10) hata olarak verildi. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir (P<0.05) (DMRT)]

Tip-2 diyabet oluşturulmuş sıçanların serumunda ADEK vitaminler, kolesterol ve sterol değişimi Tablo 5' de gösterildi. Bu tabloya göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ-DM grubunda vitamin K₂, vitamin D₂, vitamin D₃, α -tokoferol, retinol, kolesterol ve sterol (stigmasterol ve β -sitosterol) düzeyinin kayda değer bir şekilde arttığı ($p<0.001$) saptandı. Vitamin K₁ düzeyinde görülen değişikliğin istatistiksel bir anlamının olmadığı bulundu ($p>0.05$). STZ-DM grubuna göre STZ-DM+ÇY grubunun serumunda vitamin K₂, α -tokoferol, stigmasterol, β -sitosterol düzeyinin belirgin bir şekilde azaldığı ($p<0.001$) buna karşın vitamin D₂, vitamin D₃, retinol, vitamin K₁ ve kolesterol düzeyinin ise belirgin bir şekilde arttığı ($p<0.001$) saptandı.

Tablo 5. Deneysel Tip-2 diyabet oluşturulmuş sıçanların serumunda ADEK vitamin, kolesterol ve sterol değişimi ($\mu\text{g/g}$)

	K	STZ-DM	STZ-DM+ÇY
Vitamin K₂	0.62 $\pm$ 0.06 ^b	2.97 $\pm$ 0.13 ^a	0.93 $\pm$ 0.03 ^b
Vitamin D₂	0.20 $\pm$ 0.03 ^b	0.29 $\pm$ 0.02 ^{ab}	0.38 $\pm$ 0.04 ^a
Vitamin D₃	0.10 $\pm$ 0.00 ^c	0.16 $\pm$ 0.02 ^b	0.47 $\pm$ 0.03 ^a
α-tokoferol	26.86 $\pm$ 0.21 ^c	64.43 $\pm$ 0.84 ^a	29.88 $\pm$ 0.81 ^b
Retinol	0.30 $\pm$ 0.03 ^c	0.42 $\pm$ 0.02 ^b	0.60 $\pm$ 0.02 ^a
Vitamin K₁	0.54 $\pm$ 0.02 ^b	0.53 $\pm$ 0.02 ^b	1.07 $\pm$ 0.06 ^a
Kolesterol $\mu\text{mol/g}$	0.69 $\pm$ 0.03 ^c	0.96 $\pm$ 0.01 ^b	1.06 $\pm$ 0.02 ^a
Stigmasterol	2.50 $\pm$ 0.21 ^c	3.60 $\pm$ 0.09 ^a	3.00 $\pm$ 0.06 ^b
β-sitosterol	3.72 $\pm$ 0.12 ^c	11.54 $\pm$ 0.20 ^a	7.51 $\pm$ 0.17 ^b

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart (n=10) hata olarak verildi. [a-c: aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P<0.05$) (DMRT)]

Tartışma

Bu çalışmada streptozotosin verilerek deneysel Tip-2 diyabet oluşturulan sıçanlara uygulanan çam yağının hiperglisemi ile serumda bazı biyokimyasal parametrelere etkisi incelendi. Diyabete bağlı olarak ortaya çıkan kronik hiperglisemi, hasta yaşam kalitesini olumsuz anlamda etkileyen komplikasyonlara neden olmaktadır. Bundan dolayı, kan glikoz düzeyinin etkili bir şekilde kontrolü, diyabete özgü komplikasyonların önlenmesi için oldukça önemlidir [1]. Diyabet oluşturduğumuz sıçanlara uyguladığımız çam yağı neticesinde, sıçanların açık kan glikoz düzeylerinin belirgin bir şekilde azaldığı ve ayrıca bu grubu oluşturan sıçanların canlı ağırlığında artış olduğunu saptadık. α -glikozidaz ve α -amilaz karbohidratların sindiriminden sorumlu enzimlerdir, bu enzimlerin aktivitelerinin kısıtlanması karbohidratların sindirimi süresinin uzatmakta böylelikle kan glikoz düzeyinin azaltılması sağlanmaktadır [27, 28]. Karbohidrat sindirimine katılan enzimlerin aktivitelerin engelleyen inhibitörlerin diyabet tedavisinde önemli yerinin olduğu araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir. Yapılan çalışmada *Pinus densiflora* kabuk ekstraktının *in vitro* ortamda karbohidrat sindirimine katılan bazı enzimlerin aktiviteleri üzerinde yüksek bir engelleme kabiliyeti gösterdiğini bildirmişler [29]. Başka bir çalışmada ise çam kabuk ekstraktının, diyabetik ratlarda (*Lep^{ob}* (*ob/ob*) mice) postprandial kan glikoz düzeyinin artmasını baskılayabilme kabiliyeti olduğu belirlenmiştir [30]. Bir diğer çalışmada ise, çam kabuğu ekstraktının Caco-2 hücrelerinin membranında bulunan Glut-2 glikoz taşıyıcı protein sayısını azalttığı ifade edilmiştir [31]. Yukardaki araştırma sonuçları dikkate alındığında, çam yağının da benzer aktiviteler yolu ile diyabetik sıçanlarda kan şeker düzeyini azalttığını düşünmekteyiz. Ayrıca yapılan çeşitli çalışmalarda, deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara uygulanan çeşitli bitki ekstraktlarının kan glikoz düzeyi ile bazı biyokimyasal parametreler üzerinde olumlu sonuçlar ortaya çıkardığı rapor edilmiştir [32, 33].

Streptozotosinin neden olduğu diyabette sıçanların canlı ağırlığında azalmalar ortaya çıkmaktadır [34]. Ağırlık kayıplarının insülin düzeyinde ortaya çıkan azalmaya bağlı olarak yapısal proteinlerde artan katabolik reaksiyonlar nedeniyle ortaya çıktığı araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir [35]. Elde ettiğimiz bulgulara göre incelenen tüm gruplarda, sıçanların canlı ağırlıklarında artışlar görülmüş fakat en düşük ağırlık artışı STZ-DM grubunda gözlemlenmiş, streptozotosinin glikoz metabolizması üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle bu duruma ortaya çıkmış olabilir. Yapılan bir çalışmada, streptozotosin (50 mg/kg) verilerek diyabet yapılan sıçanlar, 30 gün boyunca takip edilmiş ve süre sonunda STZ-DM grubunu oluşturan sıçanların ağırlığında artış olduğu tespit edilmiştir [36]. Fakat ortaya çıkan bu ağırlık artışı uygulama gruplarına göre düşük kalmıştır.

Diyabet hastalığının seyri esnasında serbest radikal düzeyinin artmasına bağlı olarak vücudun antioksidan savunma kapasitesinin azalması ile birlikte oksidatif stresin zararlı etkilerinde artış ortaya çıkmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda da diyabetik sıçanlarda antioksidan savunma sisteminin değiştiği ve kronik hipergliseminin serbest radikal düzeyinin artmasına katkı sağladığı bildirilmiştir [37, 38]. Hem Tip-1 hem de Tip-2 diyabette lipid peroksidasyon (LPO) düzeyinin arttığı ve bu durumunda diyabete has komplikasyonların gelişimini hızlandırdığı ifade edilmiştir [39, 40]. LPO düzeyinin artması, hücre fonksiyonunda bozulmaya, membran akışkanlığında azalmaya ve membrana bağlı olarak bulunan enzim ve reseptörlerin aktivitesinde değişikliklere yol açmaktadır [41]. Yaptığımız çalışmada streptozotosin kullanılarak diyabet oluşturulan sıçanların serumunda lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA-TBA düzeyinin arttığı, çam yağı verilen diyabetik sıçanların serumunda ise MDA-TBA düzeyinin önemli ölçüde azaldığı saptandı. Ortaya çıkan bu azalmaya çam yağında bulunan antioksidan özellikli fitokimyasalların neden olduğu söylenebilir [18, 42]. Yapılan çalışmalarda bitkilerin sahip olduğu fitokimyasal bileşiklerin,

deneysel olarak yapılan çalışmalarda ortaya çıkan patolojik durumları bu bileşiklerin sahip olduğu antioksidan potansiyele bağlı olarak iyileştirici etki gösterdiği araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir [43, 44, 45].

Hem deneysel hem de klinik diyabette yağ asidi kompozisyonunda değişikliklerin olduğu bilinen bir durumdur [46, 47]. Elde ettiğimiz bulgulara göre streptozotosin vererek diyabet oluşturduğumuz sıçanların serumunda yağ asidi kompozisyonunun değiştiğini ve yağ asidi düzeyinin arttığını tespit ettik. Streptozotosin doza bağlı olarak, insülin üreten β -hücrelerinde hasar oluşturarak organizmada insülin yetersizliği meydana getirmektedir. İnsülin yetersizliğinin olduğu durumlarda lipit metabolizması bozulmakta ve yağ dokusundan yağ asitlerinin mobilizasyonu artmakta sonucu kanda yağ asidi düzeyinin arttığı gözlemlenmektedir [48]. Bu çalışmada doymuş yağ asitlerinden olan palmitik ve stearik asit düzeyinin STZ-DM grubunda arttığı, uygulanan çam yağı neticesinde STZ-DM+ÇY grubunda yağ asidi değerlerinin kontrol (stearik asit) grubu değerlerine yaklaştığı tespit edildi. Palmitoleik ve oleik asit tekli doymamış yağ asitlerindendir. Bu iki yağ asidi delta 9 desaturaz enziminin aktivesiyle doymuş yağ asidi olan palmitik asitten zincir uzaması yolu ile oluşmaktadır. Diyet ve insülinin bu enzimin aktivitesi üzerinde önemli etkiye sahiptir. Palmitoleik ve oleik asit, hücrelerdeki fosfolipit ve depo lipidlerinde bulunan yağ asitlerinin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu durum membran akışkanlığı için oldukça önemlidir. Doymuş yağ asitleri ile tekli doymamış yağ asitleri arasındaki dengenin doğrudan membran akışkanlığı ile membranın fiziksel özelliklerini etkilediği ve bu yağ asitleri arasındaki dengede ortaya çıkan değişikliklerin diyabet, obezite, hipertansiyon, kanser ve kalp hastalıklarının ortaya çıkışını tetiklediği bildirilmiştir [49]. STZ-DM grubunda palmitoleik asit düzeyinin azaldığı, oleik asit düzeyinin arttığı, uygulanan çam yağı neticesinde STZ-DM+ÇY grubunda her iki yağ asidi değerinin kontrol grubuna yakın olduğu saptandı. Elde ettiğimiz bu bulguların önceki çalışma bulgularıyla uyumlu olduğunu tespit ettik. Linoleik asit, delta 6 desaturaz enziminin aktivitesiyle araşidonik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerine zincir uzaması yolu ile dönüştürülmektedir. İnsülin yetersizliğinde delta 6 desaturaz enzim aktivitesinin azalması araşidonik asit düzeyinin azalmasına sebep olduğu rapor edilmiştir [35]. Yaptığımız çalışma sonucunda ortaya çıkan verilere göre STZ-DM grubunun serumda linoleik asit düzeyinin artması, bu yağ asidinin metabolize edilemediğinin göstermekte bundan dolayı linoleik asit düzeyi artmış, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeyi azalmıştır. Uyguladığımız çam yağının STZ-DM+ÇY grubunda linoleik asit düzeyini kontrol grubu değerlerine yaklaştığı, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeyinde oluşan değişiklikleri engellediğini belirledik.

A, D, E ve K vitaminleri yağda çözündüklerinden dolayı, yağda çözünen vitaminler olarak tanımlanırlar. Sağlık için gerekli olmakla birlikte her birinin vücutta çok önemli fonksiyonları vardır. Kontrol grubuna göre STZ-DM grubunun serumda vitamin K₂ düzeyinin arttığı, vitamin K₁ düzeyinin ise önemsiz düzeyde azaldığı, STZ-DM+ÇY grubunda ise vitamin K₂ düzeyinin azaldığı, vitamin K₁ düzeyinin ise arttığı belirlendi. Diyetle alınan vitamin K₁ ve vitamin K₂ ile Tip-2 diyabet arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, çalışmaya katılan bireylerin diyetle K vitamini almaları sağlanmış ve bu bireyler 10.3 yıl takip edilmiştir, çalışma sonucunda vitamin K₁ ile vitamin K₂ alınımı arttıkça diyabet riskinin azaldığı tespit edilmiştir [50].

Kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında STZ-DM grubunun serumda vitamin D₂ ve vitamin D₃ düzeyinin arttığı, STZ-DM+ÇY grubunda ise her vitamin değerinin daha da arttığı saptandı. İnsülin duyarlılığında azalma, beta hücre fonksiyonlarında bozulma ve sistemik inflamasyon ve glikoz intoleransı Tip-2 diyabetin gelişmesine neden olmaktadır. Vitamin D'nin bu mekanizmaları etkilediğine dair araştırma bulguları bulunmaktadır. Ayrıca yapılan gözlemsel çalışmalarda da düşük Vitamin D düzeyi ile Tip-2 diyabet gelişme riski arasında ilişki saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada ise başlangıçta diyabetik olmayan 5200 kişi 5 yıl boyunca takip edilmiş ve diyabet gelişen 199 hastanın Vitamin D düzeyinin gelişmeyenlere göre düşük olduğu belirlenmiştir [51].

Yaptığımız çalışmada kontrol grubuna göre STZ-DM grubunun serumda alfa tokoferol düzeyinin arttığı, STZ-DM+ÇY grubunda ise azalarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı saptandı. STZ-DM grubunun serumda alfa tokoferol düzeyi, alfa-tokoferol transfer protein ekspresyonunun artmasından dolayı artmış olabilir. Tip-2 diyabetik Goto-Kakizaki ratlarının kullanıldığı bir çalışmada kontrol grubuna göre diyabetik ratların plazma ve karaciğerinde alfa-tokoferol düzeyinin arttığını, ortaya çıkan bu durumun alfa-tokoferol transfer protein düzeyinin artmasından dolayı ortaya çıktığını ifade etmişler [52]. Yapılan çalışmalarda diyabetik kişilerin plazmalarında β -karoten ve alfa tokoferol düzeyinin kontrol gurubuna göre yükseldiği tespit edilmiştir [53]. Elde ettiğimiz bulgulara göre STZ-DM+ÇY grubunun serumunda alfa tokoferol düzeyinde ortaya çıkan azalmanın çam yağının kan şeker düzeyi ile alfa-tokoferol transfer protein ekspresyonu üzerindeki olumlu etkilerden dolayı ortaya çıkmış olabilir.

Yaptığımız çalışmada STZ-DM grubunun serumunda kontrol grubuna göre retinol düzeyinin arttığı, STZ-DM+ÇY grubunun serumunda ise retinol düzeyinin daha da arttığı tespit edildi. Krempf ve arkadaşları Tip-2 diyabetli bireylerde retinol düzeyinin diyabet olmayan bireylere göre arttığını rapor etmişler [54]. Retinol taşıyıcı protein metabolizmasında ortaya çıkan değişikliklerden dolayı STZ-DM+ÇY grubunun serumunda retinol düzeyi artış olabilir. Kouchak ve arkadaşları Tip-2 diyabetik bireylere uyguladıkları omega-3 yağ asitlerinin bu bireylerin serumunda vitamin E ile vitamin A düzeyinde artışa neden olduğunu belirlemişler [55].

Kolesterol, omurgalı canlıların en önemli yapısal komponenti olmakla birlikte hücre membranının akışkanlığını korunmasında önemli bir moleküldür. Kolesterol aynı zamanda steroit hormonlar ile safra asidinin sentezi için gerekli bir biyomoleküldür. Kan kolesterol düzeyinin yüksek olması ateroskleroze yol açabilmektedir [56]. Elde ettiğimiz bulgulara göre kontrol grubuna göre STZ-DM ve STZ-DM+ÇY grubunun serumunda total kolesterol düzeyinin arttığı, ortaya çıkan bu durumun insülin yetersizliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz, çünkü kolesterol biyosentezi SREBPs (Sterol düzenleyici element bağlayıcı protein) adı verilen transkripsiyon faktörü tarafından regüle edilmektedir [56]. Bu transkripsiyon faktörünün aktivitesi insüline yetersizliğinde baskılanmakta bundan dolayı serumda kolesterol düzeyinin arttığını düşünmekteyiz. Yapılan çalışmalarda SREBPs aktivitesinin insüline bağlı olduğu ifade edilmiştir [57]. Diyabetik ratlara uyguladığımız çam yağının insülin metabolizmasından ziyade intestinal sistemde glikoz alınımlı üzerinde etkili olduğu, bu nedenle kolesterol metabolizmasında ortaya çıkan değişiklikleri engellemede yetersiz kaldığını düşünmekteyiz.

Bitki sterolleri, kolesterolle benzer yapı ve biyolojik fonksiyona sahip bileşiklerdir. Bitkisel yağlar önemli sterol kaynaklarıdır. β -sitosterol ve stigmasterol bitkilerde yaygın olarak bulunan sterol çeşitleridir. Sterollerin kolesterol emilimini önleyici özellikleri bulunmasının yanı sıra anti-kanser, anti-ateroskleroz, iltihap önleyici, antioksidan ve anti-diyabetik özelliklerinin bulunduğu ifade edilmiştir [58]. Yaptığımız çalışmada STZ-DM grubunun serumunda β -sitosterol ve stigmasterol düzeyinin arttığı, STZ-DM+ÇY grubunun serumunda ise hem β -sitosterol hem de stigmasterol düzeyinin azaldığını saptadık. Yapılan çalışmalarda diyabetik ratların dokularında kontrol grubuna göre kolesterol, bitkisel sterol ve stanol düzeyinin arttığı ifade edilmiştir. Ortaya çıkan bu sonucun karaciğer ve barsaklarda bulunan *Abcg5* (ATP-binding cassette transporter G5) ve *Abcg8* (ATP-binding cassette transporter G8) taşıyıcı protein ekspresyonunun azalması ile sterol regülasyonuna katılan bazı genlerin mRNA düzeyinin azalmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir [59]. Yaptığımız çalışmada, çam yağının kan glikoz düzeyini azalttığı, lipid peroksidasyon oluşumunu engellediği ve serumda bazı yağ asidi, lipofilik vitaminler ve sterol parametreleri üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini belirledik, fakat çalışma bulgularımızın kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- [1] American Diabetes Association. (2012). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 35, 64–71.
- [2] Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27, 1047-1053.
- [3] Türker, M., Süzmeçelik, E. (2010). Türkiye ve dünyada rakamlarla diyabet. *Mised*, 23-24: 62-66.
- [4] Aslan, M., Orhan, N. (2010). Diyabet tedavisinde kullanılan bitkisel ürünler ve gıda destekleri. *Mised*, 23-24: 27-38.
- [5] Modak, M., Dixit, P., Londhe, J., Ghaskadbi, S., Devasagayam, T.P.A. (2007). Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 40, 163–173.
- [6] Tuzlacı, E., Erol, M.K. (1999). Turkish folk medicinal plants. Part II: Eğridir (Isparta). *Fitoterapia*, 70, 593–610.
- [7] Kızılarlan, Ç., Sevgi, E. (2013). Ethnobotanical uses of genus *Pinus* L. (Pinaceae) in Turkey. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 12(2), 209-220.

- [8] Baytop, T. (2001). Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present). 1st ed, Istanbul University, Istanbul, 178–249.
- [9] Gülçin, I., Büyükokuroglu, M.E., Oktay, M., Küfrevioğlu, O.I. (2003). Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. *Journal of Ethnopharmacology*, 86, 51–58.
- [10] Li, W., Chen, Y., Wang, X., Qu, S. (1991). Pharmacological studies on the volatile oil isolated from the leaves of *Pinus pumila* (Pall.) Regel. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 16, 172–175.
- [11] Moussa, S.A. (2008). Oxidative stress in diabetes mellitus. *Romanian J. Biophys.*, 18(3), 225-236.
- [12] Lipinski, B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. (2001). *Journal of Diabetes and its Complications*, 15, 203-210.
- [13] Tatsuki, R., Satoh, K., Yamamoto, A., Hoshi, K., Ichihara, K. (1997). Lipid peroxidation in the pancreas and other organs in streptozotocin diabetic rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, 75, 267-273.
- [14] Gago-Dominguez, M., Jiang, X., Esteban Castelao, J. (2007). Lipid peroxidation and the protective effect of physical exercise on breast cancer. *Med. Hypotheses*, 68(5), 1138-1143.
- [15] Reed, T.T. (2011). Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(7), 1302-1319.
- [16] Matsunami, T., Sato, Y., Sato, T., Yukawa, M. (2010). Antioxidant status and lipid peroxidation in diabetic rats under hyperbaric oxygen exposure. *Physiol. Res.*, 59, 97-104.
- [17] Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total pPhenolics and flavonoids cContent in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*, 15, 4324-4333.

- [18] Saleem, A., Kivelä, H., Pihlaja, K. (2003). Antioxidant activity of pine bark constituents. *Z Naturforsch C*, 58(5-6), 351-354.
- [19] Yeşil-Çelikleş, Ö., Ganzera, M., Akgün, İ., Sevimli, C., Korkmaz, K.S., Bedir, E. (2009). Determination of polyphenolic constituents and biological activities of bark extracts from different Pinus species. *J. Sci. Food Agric.*, 89, 1339–1345.
- [20] Ramesh, B., Pugalandi, K.V. (2006). Antioxidant role of umbelliferone in STZ-diabetic rats. *Life Sciences*, 79, 306–310.
- [21] Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., Novelli, M., Ribes, G. (1998). Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224-229.
- [22] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193(1), 265-275.
- [23] Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95(2), 351-358.
- [24] Hara, A. Radin, N.S. (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal. Biochem.*, 90, 420-426.
- [25] Christie, W.W. (1990). Gas chromatography and lipids. The Oil Pres, Glaskow.
- [26] Duncan, B.D. (1957). Multiple range test for correlated and heteroscedastic means. *Biometrics*, 13, 359-364.
- [27] Toeller, M. (1994). Alpha-Glucosidase inhibitors in diabetes: efficacy in NIDDM subjects. *Eur. J. Clin. Invest.*, 24, 31-35.
- [28] Clissold, S.P., Edwards, C. (1988). Acarbose. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential. *Drugs*, 35(3), 214-243.

- [29] Kim, Y.M., Wang, M.H., Rhee, H.I. (2004). A novel α -glucosidase inhibitor from pine bark. *Carbohydrate Research*, 339, 715–717.
- [30] Kim, Y.M., Jeong, Y.K., Wang, M.H., Lee, W.Y., Rhee, H.I. (2005). Inhibitory effect of pine extract on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition*, 21, 756-761.
- [31] El-Zein, O., Kreydiyyeh, S.I. (2011). Pine bark extract inhibits glucose transport in enterocytes via mitogen-activated kinase and phosphoinositol 3-kinase. *Nutrition*, 27, 707–712.
- [32] Thilagam, E., Parimaladevi, B., Kumarappan, C., Mandal, S.C. (2013). α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activity of *Senna surattensis*. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 6, 24-30.
- [33] Zhu, K., Nie, S., Li, C., Lin, S., Xing, M., Li, W., Gong, D., Xie, M. (2013). A newly identified polysaccharide from *Ganoderma atrum* attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia. *International Journal of Biological Macromolecules*, 57, 142-150.
- [34] Cheng, D., Liang, B., Li, Y. (2013). Antihyperglycemic effect of *Ginkgo biloba* extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Biomed Res. Int.*, 2013; 2013: 1-8.
- [35] Ramesh, B., Viswanathan, P., Pugalendi, K.V. (2007). Protective effect of umbelliferone on membranous fatty acid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 566, 231-239.
- [36] Li, X.M. (2007). Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40, 461–465.
- [37] Robertson, R.P., Harmon, J., Tran, P.O., Poitout, V. (2004). Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type-2 diabetes. *Diabetes*, 53, 119-124.

- [38] Kaneto, H., Nakatani, Y., Kawamori, D., Miyatsuka, T., Matsuoka, T.A. (2004). Involvement of oxidative stress and the JNK pathway in glucose toxicity. *The Review of Diabetic Studies*, 1(4), 165-174.
- [39] Feillet-Coudray, C., Rock, E., Coudray, C., Grzelkowska, K., Azais-Braesco, V., Dardevet, D., Mazur, A. (1998). Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clin Chim Acta*, 284, 31-43.
- [40] Akkaya, H., Çelik, S. (2010). Sıçanlarda diyabet öncesi ve sonrası oksidan-antioksidan durum. *F.Ü. Sağ. Bil.Vet.Derg.*, 24 (1), 5-10.
- [41] Soon, Y.Y., Tan, B.K. (2002). Evaluation of the hypoglycemic and anti-oxidant activities of *Morinda officinalis* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Singap. Med. J.*, 43, 77-85.
- [42] Ku, C.S., Jang, J.P., Mun, S.P. (2007). Exploitation of polyphenol-rich pine barks for potent antioxidant activity. *Journal of Wood Science*, 53(6), 524-528.
- [43] Jia, X.Y., Zhang, Q.A., Zhang, Z.Q., Wanga, Y., Yuan, J.F., Wang, H.Y., Zhao, D. (2011). Hepatoprotective effects of almond oil against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food Chemistry*, 125, 673–678.
- [44] Karthikesan, K., Pari, L., Menon, V.P. (2010). Combined treatment of tetrahydrocurcumin and chlorogenic acid exerts potential antihyperglycemic effect on streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *Gen. Physiol. Biophys.*, 29, 23–30.
- [45] Saravanan, G., Ponmurugan, P. (2011). Ameliorative potential of S-allyl cysteine on oxidative stress in STZ induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 189, 100-106.
- [46] Ruiz-Gutierrez, V., Stiefel, P., Villar, J., García-Donas, M.A., Acosta, D., Carneado, J. (1993). Cell membrane fatty acid composition in type 1 (insulin dependent) diabetic patients: Relationship with sodium transport abnormalities and metabolic control. *Diabetologia*, 36, 850–856.

- [47] Srinivasan, S., Pari, L. (2013). Antihyperlipidemic effect of diosmin: A citrus flavonoid on lipid metabolism in experimental diabetic rats. *Journal of functional foods*, 5, 484-492.
- [48] Ramkumar, K.M., Vanitha, P., Uma, C., Suganya, N., Bhakkiyalakshmi, E., Sujatha, J. (2011). Antidiabetic activity of alcoholic stem extract of *Gymnema montanum* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 3390-3394.
- [49] Ntambi, J.M., Miyazaki, M. (2004). Regulation of stearyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Progress in Lipid Research*, 43, 91-94.
- [50] Beulens, J.W., van der A.D.L., Grobbee, D.E., Sluijs, I., Spijkerman, A.M., van der Schouw, Y.T. (2010). Dietary phylloquinone and menaquinones intakes and risk of type-2 diabetes. *Diabetes Care*, 33(8), 1699-1705.
- [51] İyidir, Ö.T., Altınova, A.E. (2012). Vitamin D ve diabetes mellitus. *Türk Jem.*, 16, 89-94.
- [52] Miyazaki, H., Takitani, K., Koh, M., Takaya, R., Yoden, A., Tamai, H. (2013). α -Tocopherol status and expression of α -tocopherol transfer protein in type-2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo)*, 59(1), 64-68.
- [53] Hozumi, M., Murata, T., Morinobu, T., Manago, M., Kuno, T., Tokuda, M., Konishi, K., Mingci, Z., Tamai, H. (1998). Plasma beta-carotene, retinol, and alpha-tocopherol levels in relation to glycemic control of children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo)*, 44(1), 1-9.
- [54] Krempf, M., Ranganathan, S., Ritz, P., Morin, M., Charbonnel, B. (1991). Plasma vitamin A and E in type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) adult diabetic patients. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 61, 38-42.
- [55] Kouchak, A., Djalali, M., Eshraghian, M., Saedisomeolia, A., Djazayeri, A., Hajianfar, H. (2011). The effect of Omega-3 fatty acids on serum paraoxonase activity, vitamins A, E, and C in type-2 diabetic patients. *J. Res. Med. Sci.*, 16(7), 878-884.

- [56] Xiao, X., Song, B.L. (2013). SREBP: a novel therapeutic target. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 45, 2–10.
- [57] Cagen, L.M., Deng, X., Wilcox, H.G., Park, E.A., Raghow, R., Elam, M.B. (2005). Insulin activates the rat sterol-regulatory-element-binding protein 1c (SREBP-1c) promoter through the combinatorial actions of SREBP, LXR, Sp-1 and NF-Y cis-acting elements. *Biochem. J.*, 85, 207–216.
- [58] Berger, A., Jones, P.J., Abumweis, S.S. (2004). Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids Health Dis.*, 3:5, 1-19.
- [59] Scoggan, K.A., Gruber, H., Chen, Q., Plouffe, L.J., Lefebvre, J.M., Wang, B., Bertinato, J., L'Abbé, M.R., Hayward, S., Ratnayake, W.M. (2009). Increased incorporation of dietary plant sterols and cholesterol correlates with decreased expression of hepatic and intestinal Abcg5 and Abcg8 in diabetic BB rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 20, 177–186.