



Vaccinium myrtillus L. ekstresinin diyabetli sıçanlarda paraoksonaz ve lipoprotein düzeyleri



Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN

Adiyaman Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Adiyaman

TBD Biyokimya Günleri – Sivas 2016

2-5 Kasım 2016

Vaccinium myrtillus L. ekstresinin diyabetli sıçanlarda paraoksonaz ve lipoprotein düzeyleri



Karzan Mahmood SAEED¹

Tahir KAHRAMAN²

1-YYÜ SBE Temel Eczacılık Bilimleri AD Biyokimya BD Van

2-ADYU Eczacılık Fakültesi Biyokimya AD Adıyaman

TBD Biyokimya Günleri – Sivas 2016

2-5 Kasım 2016

Giriş



- ❖ Diyabetes mellitus (DM), 2030 yılına kadar 360 milyon insanı etkilemesi beklenen, hızlı bir şekilde büyüyen yaygın bir halk sağlığı problemidir (*Ryden ve ark., 2013*).
- ❖ Bu hastalık, akut (koma, ketoasidoz) ve kronik (miyokardiyal enfarktüs, serebrovasküler hasar, nöropati, nefropati ve retinopati) birçok komplikasyonla seyirlidir (*Forbes ve Cooper, 2013*).



- ❖ Çevresel özelliklerin değiştirilmesinden terapötik ilaç kullanımına kadar diyabet tedavisinde oldukça geniş yaklaşımlar benimsenmiştir.
- ❖ Bu ilaçların kullanılmasıyla birçok yan etkilerinden dolayı araştırmacılar, alternatif ilaç adaylarına yönelmişler bunlarda doğal tıbbi bitkiler ve içerikleri olmuştur (*Krentz ve Bailey, 2005*).



- ❖ *Vaccinium myrtillus L. (Yaban mersini)*, fenolik bir bileşik olan antosiyanin içermesinden geleneksel tıpta diyabeti de içeren birçok hastalığın tedavisinde kullanılan tıbbi bir bitkidir (*Tracy, 2007*).
- ❖ Paraoksonaz (PON) enzimi, yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) ile ilişkili kalsiyuma bağımlı glikoprotein yapıda olup, organofosfat hidrolizi yoluyla detoksifiye edici etki göstermektedir (*Grdic ve ark., 2011*).

Tracy (2007). Humana Press. New York. USA.

Grdic ve ark. (2011). *Biochemia Medica*, 122-130.



❖ PON enziminin önemi, organofosfatlı bileşiklerin detoksifikasyonu ile bağlantılı (*Androutsopoulos ve ark., 2011*), antioksidan aktivitesi ve antiaterojenik özellikleri ile de, düşük dansiteli lipoproteinleri (LDL) oksidatif modifikasyondan korumalarından ileri gelmektedir (*Mackness ve ark., 1998*).

Androutsopoulos ve ark.(2011). *Toxicol Appl Pharmacol*, 256, 3, 418-424.

Mackness ve ark., (1998). *FEBS Letters*, 423, 1, 57-60.

Amaç



- ❖ Bu çalışmada, *Vaccinium myrtillus* L. (Yaban mersini) meyvesi ekstresinin, diyabetik sıçanlarda PON enzim aktivitesinde ve lipoprotein seviyeleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem



- ❖ Deneş hayvanları; kontrol (K), diyabet (D), *Vaccinium myrtillus* (VM) ve diyabet+ *Vaccinium myrtillus* (DVM) olarak dört (4) gruba ayrıldı. Her grupta 8 sıçan yer aldı.
- ❖ Çalışma, YYÜ Hayvan Deneşleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.11.2015 tarih ve 2015/13 sayılı izni araştırma onayı ile 05.05.2016 tarih 2016/4 sayılı araştırma kesin sonuç onayı alınarak etik kurallara göre gerçekleştirildi.

Deneme Grupları



❖ Kontrol (K) Grubu:

Üç (3) hafta boyunca standart sıçan yemi ile aynı saatte her sıçana 1mL distile su intragastrik gavaj ile verildi.

❖ Diyabet (D) Grubu:

Deneysel diyabet, intraperitoneal streptozotosin (STZ) (45 mg/kg) ile gerçekleştirildi. (*Yegin ve ark., 2010*). Glukoz düzeyi >270 mg/dL, diyabetli olarak kabul edildi.

Üç (3) hafta boyunca her gün standart sıçan yemi ile aynı saatte her sıçana 1mL distile su intragastrik gavaj ile verildi.

Yegin ve ark. (2013). *J Memb Biol*, 246, 8, 621-626.

Deneme Grupları



❖ *Vaccinium myrtillus L.* (VM) Grubu:

Üç (3) hafta boyunca standart sıçan yemi ile her gün aynı saatte *Vaccinium myrtillus L.* (Bilberry, GNC, USA) ekstresi 1.2 mg/kg distile suda çözdürülerek her sıçana 1 mL düzeyinde intragastrik gavaj ile verildi (*Grace ve ark., 2009*).

Deneme Grupları



❖ Diyabet ve *Vaccinium myrtillus* L. (DVM) Grubu:

Deneysel diyabet, intraperitoneal streptozotosin (STZ) (45 mg/kg) ile gerçekleştirildi. (*Yegin ve ark., 2010*). Glukoz düzeyi >270 mg/dL, diyabetli olarak kabul edildi.

Üç (3) hafta boyunca standart sıçan yemi ile her gün aynı saatte *Vaccinium myrtillus* L. (Bilberry, GNC, USA) ekstresi 1.2 mg/kg distile suda çözdürülerek her sıçana 1 mL düzeyinde intragastrik gavaj ile verildi (*Grace ve ark., 2009*).

Grace ve ark. (2009). *Phytomedicine*, 16, 5, 406-415.

Kan Örneklerinin Alınması



- ❖ Çalışmanın 22. günü sonrasında anestezi altında sıçanların kalp apeksinden enjektörle kan numuneleri alındı. EDTA'lı ve jelli tüplere aktarıldı. Kan glukoz miktarı ölçümü ve tüm kanda HbA1c ölçümü aynı gün gerçekleştirildi. Elde edilen serumlar, PON enzimi ve lipoprotein ölçümleri için analize kadar -20° C'de saklandı.

Biyokimyasal Analizler



- ❖ Serum PON enzim aktivite düzeyi, rel assay PON enzim kiti ile spektrofotometrik; serum lipoprotein ve glukoz düzeyleri kit ile otoanalizatörde, HbA1c düzeyi ise, kit ile kolorimetrik olarak analiz edildi.

İstatistik Analiz



- ❖ Değişkenler bakımından grupların karşılaştırmasında Kruskal-Wallis analizi kullanıldı. Farklı grupları belirlemede Dunnet çoklu karşılaştırma testi, hesaplamalarda, ortalama \pm standart hata, minimum ve maksimum değerler hesaplandı. İstatistik anlamlılık düzeyi % 5 olarak alındı ve hesaplamalar için SPSS 13.0 for Windows istatistik paket programından yararlanıldı.

Bulgular



❖ Deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara *Vaccinium myrtillus* L. Ekstresi uygulamasının, serum paraoksonaz (PON) ve lipoprotein düzeylerindeki etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, gruplara ait serum glikoz, HbA_{1c}, total kolesterol, trigliserit, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol ve PON enzim aktivite düzeylerinin ortalamaları aşağıda verildi.

Bulgular



	Kontrol (K) Ortalama±SH N = 8	Diyabet (D) Ortalama±SH N = 8	V.myrtillus (VM) Ortalama±SH N = 6	Diyabet+V. Myrtillus (DVM) Ortalama±SH N = 8
Glukoz mg/dL	158 ± 15 c	636 ± 30 a	230 ± 20 c	463 ± 90 b
HbA1c %	3.79 ± 0.04 c	8.02 ± 0.28 a	3.79 ± 0.07 c	6.67 ± 0.74 b

Satırlar arasında farklı harfler istatistik açıdan önemlidir (p<0.05).

Bulgular



	Kontrol (K) Ortalama±SH N = 8	Diyabet (D) Ortalama±SH N = 8	V.myrtillus (VM) Ortalama±SH N = 6	Diyabet+V. Myrtillus (DVM) Ortalama±SH N = 8
Kolesterol mg/dL	56.25 ± 3.20 b	76.88 ± 10.71 a	44.13 ± 1.49 c	51.83 ± 4.00 bc
Trigliserit mg/dL	93.75 ± 4.69 a	100.88 ± 11.40 a	53.75 ± 4.51 b	84.83 ± 6.36 a

Satırlar arasında farklı harfler istatistik açıdan önemlidir (p<0.05).

Bulgular



	Kontrol (K) Ortalama±SH N = 8	Diyabet (D) Ortalama±SH N = 8	V.myrtillus (VM) Ortalama±SH N = 6	Diyabet+V. Myrtillus (DVM) Ortalama±SH N = 8
HDL-Kol. mg/dL	51.49 ± 3.34 b	60.85 ± 2.41 a	40.97 ± 1.13 c	46.36 ± 2.29 bc
LDL-Kol. mg/dL	19.90 ± 2.48 ab	24.85 ± 1.38 a	14.09 ± 1.35 b	16.88 ± 4.32 b
VLDL-Kol. mg/dL	18.37 ± 0.99 ab	22.40 ± 2.38 a	10.75 ± 0.90 c	16.97 ± 1.27 b
Paraoksonaz U/L	22.55 ± 6.81 a	1.56 ± 0.82 b	38.64 ± 7.75 c	7.22 ± 1.49 a

Satırlar arasında farklı harfler istatistik açıdan önemlidir (p<0.05).

Tartışma



❖ Çalışmada, diyabetik sıçanların *V. mrytillus* (*Yaban mersini*) ekstresi verilmesiyle, glikoz ve glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) seviyelerinde istatistik olarak önemli bir düşüş saptandı ($p < 0.05$). *Yaban mersini* ekstresi, antioksidan ve antidiyabetik aktivite gösteren antosiyanin, kuersetin ve kateşin gibi flavonoidleri kapsayan çok sayıda biyoaktif bileşik içermektedir (*Helmstädter ve Schuster, 2010*).

Tartışma



❖ Antosiyaninler, insülin direncini iyileştirmek ve insülin seviyesini arttırmak, karbonhidrat katabolizmasını azaltmak ve pankreatik beta hücrelerini oksidatif hasardan korumak gibi birçok mekanizma ile etki gösterir (*Sancho ve Pastore, 2012*). Bu etkilerin göstergesi olarak, bu çalışmada elde edilen kan glikoz seviyesindeki düşüş, daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir (*Cignarella ve ark., 1996; Asgary ve ark., 2015*).

Sancho ve Pastore (2012). *Food Res Int*, 46, 1, 378-386.

Cignarella ve ark. (1996). *Thromb Res*, 84, 5, 311-322.

Asgary ve ark., (2015). *J Sci Food Agric*, 96, 3, 764-768.

Tartışma



- ❖ Diabet (D) grubu total kolesterol, HDL-kolesterol düzeylerinde diğer gruplara göre istatistik olarak önemli bir yükselme saptandı ($p < 0.05$).
- ❖ Diabet (D) grubu serum trigliserit, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeyleri, K grubuna göre aritmetik düzeyde artış saptandı ($p > 0.05$).
- ❖ D grubu ile diyabet sonrası *V. mrytillus* ekstresi ile tedavi edilen DVM grubuna ait serum kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol arasında istatistiksel olarak anlamlı azalma vardır ($p < 0.05$).
- ❖ .

Tartışma



- D grubunda, K grubuna göre anlamlı düzeyde artan bu parametrelerde *V. mrytillus* ekstresi ile tedavi edilen DVM grubunda istatistik olarak anlamlı düzeyde azalma saptandı ($p < 0.05$). Kolesterol ve trigliserit ile ilgili veriler, *Cignarella ve ark., (1996)*; *Adiels ve ark., (2006)*; *Kruger ve ark., (2014)*; *Asgary ve ark., (2015)* yaptıkları çalışmalarla paralellik arz etmektedir.

Cignarella ve ark. (1996). *Thromb Res*, 84, 5, 311-322.

Adiels ve ark. (2006). *Diabetologia*, 49, 4, 755-765.

Kruger ve ark. (2014). *Food Res I*, 59, 41-52.

Asgary ve ark., (2015). *J Sci Food Agric*, 96, 3, 764-768.

Tartışma



- ❖ Çalışmada total kolesterol düzeyinde, sıçanlara yaban mersini ekstresi verildikten sonra DVM grubu serum kolesterol seviyesindeki düşüşün, bu bitkideki antosiyaninlerin feçeste asidik ve nötral sterollerini arttırarak plazma kolesterol seviyesinde düşüşe neden olduğu ileri sürülmektedir (*Liang ve ark., 2013*).

Liang ve ark. (2013). *Eur J Nutr*, 52, 869–875.

Tartışma



	Kontrol (K) Ortalama±SH N = 8	Diyabet (D) Ortalama±SH N = 8	V.myrtillus (VM) Ortalama±SH N = 6	Diyabet+V. Myrtillus (DVM) Ortalama±SH N = 8
HDL-Kol. mg/dL	51.49 ± 3.34 b	60.85 ± 2.41 a	40.97 ± 1.13 c	46.36 ± 2.29 bc
LDL-Kol. mg/dL	19.90 ± 2.48 ab	24.85 ± 1.38 a	14.09 ± 1.35 b	16.88 ± 4.32 b
VLDL-Kol. mg/dL	18.37 ± 0.99 ab	22.40 ± 2.38 a	10.75 ± 0.90 c	16.97 ± 1.27 b

Tartışma



❖ Diyabette HDL-kolesterol seviyesinin düştüğü bildirilmekte, bu düşüşle de diyabetin patofizyolojisiyle ve diyabetik komplikasyonlarının, özellikle kardivasküler sistem komplikasyonlarının arttığı bildirilmektedir. Ancak, bu bulgular, diyabetin akut etkili olması ve/veya HDL-kolesterol ölçüm prosedüründeki teknik nedenlerden kaynaklanmış olabileğİ kanaatindeyiz (*Cignarella ve ark., 1996; Farbstein ve Levy, 2012; Kostapanos, 2014*).

Cignarella ve ark. (1996). *Thromb Res*, 84, 5, 311-322.

Farbstein ve Levy (2012). *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 10, 3, 353-361.

Kostapanos (2014). *WJEM*, 4, 1, 1.

Tartışma



- ❖ Çalışmada HDL-kolesterol seviyeleri daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermemekte, diyabette HDL-kolesterol seviyesinin düştüğü bildirilmekte, bu düşüşle de diyabetin patofizyolojisiyle ve diyabetik komplikasyonlarının, özellikle kardivasküler sistem komplikasyonlarının arttığı bildirilmektedir.

Tartışma



❖ D grubunda PON enziminde, diğer gruplara göre, istatistiksel düşüş saptandı ($p < 0.05$). D grubu ile VM grubu arasında da istatistik olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.05$). Diyabetik sıçanların yaban mersini ekstresiyle tedavi edildiği DVM grubuna ait serum PON enzim aktivite düzeyleri, hem K hem de D grubu ile istatistik olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). PON enziminin diabette düşüşü daha önce diabet üzerine yapılan çalışmalarla paralellik arz ediyor PON enzimi, HDL-kolesterol ile ilişkili olduğu ve klinik olarak LDL-kolesterolün peroksidasyonunu engellediği ileri sürülmektedir (*Abbott ve ark. 1995*).

Abbott ve ark. (1995). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 15, 11, 1812-1818.

Tartışma



- ❖ Çalışmada serum PON aktivitesinde, diyabet grubuna yaban mersini ekstresi verilen DVM grubu ile D grubu arasında istatistik olarak önemli bir artış saptandı ($p < 0.05$). Farklı bitkilerle yapılan çalışmalarda PON enzimi seviyesinde artış saptanmıştır (*Parsaeyan ve ark., 2012; Yegin ve ark., 2013; Takaeidi ve ark., 2014*).

Sonuç

- ❖ Sonuç olarak, çalışmada yaban mersini ekstresinin, hiperglisemiyi iyileştirdiği ve diyabetik dislipidemiye hafiflettiği ortaya konuldu.
- ❖ PON enzimi diyabette ve koroner arter hastalıklarında düşmektedir.
- ❖ Yaban mersini ekstresi verilmesi, diyabet nedeniyle artan serum kolesterol ve trigliseritler düzeylerini düşürdü. Paraoksonaz (PON) enzim aktivitesinde istatistik önemde yükselmeye neden oldu.

Sonuç

- ❖ Bu bilgilerin ışığında, V. Mrytillus (Yaban mersini) ekstresinin verilmesiyle PON enzim aktivitesinin belirlenmesinin diyabetin erken komplikasyonlarını gösterebileceği ve diyabet hastalığında yaban mersini ekstresinin uygulanmasının, diyabet nedenli komplikasyonları hafifletebileceği düşünülebilir.
- ❖ Bunun için, yaban mersini ekstresinin değişik dozajlarla uygulandığı, PON enzimi aktivitesi, lipid ve lipoprotein çalışmalarını kapsayan uzun süreli ve materyal sayısı fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.



Adiyaman Üniversitesi

Teşekkür ederim.