

Diyabetik Ratlarda Zakkum (*Nerium oleander* L.) Çiçeği Etanolik Liyofilize Ekstresinin Eritrosit Frajilite, Hematolojik ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması

Abdulahad DOĞAN

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van

<https://orcid.org/0000-0002-5438-8560>

✉: abduhaddogan@yyu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma streptozotosin (50 mg kg⁻¹) ile Tip 1 diyabet oluşturulan ratlarda zakkum (*N. oleander*) çiçeğinden elde edilen etanolik liyofilize ekstresinin eritrosit frajilite, hematolojik parametreler, total antioksidan kapasite (TAS), total oksidan kapasite (TOS) ve oksidatif stress indeksi (OSI) üzerine olan etkilerine odaklandı. Toksikite testi sonrası, 49 rat 7 gruba ayrıldı. Kontrol, *Nerium oleander* (NO) (50 mg kg⁻¹), Diabetes mellitus (DM), DM+Gly-3 (3 mg kg⁻¹), DM+NO-25 (25 mg kg⁻¹), DM+NO-75 (75 mg kg⁻¹) ve DM+NO-225 (225 mg kg⁻¹). 21 günlük uygulamadan sonra elde edilen bulgulara göre, DM grubunda eritrosit hemolizi (%0.2-0.6 NaCl konsantrasyonlarda) kontrol gruplarına göre önemli artış gösterirken ($P<0.05$); özellikle DM+NO-225 grubunda eritrosit hemolizi önemli oranda azaldı ($P<0.05$). Hematolojik parametreler, bazı gruplarda dalgalanmalar göstermesine rağmen, DM+Gly grubunda eritrosit (RBC), hemoglobin (HGB) ve hematokrit (HCT) düzeyleri diğer gruplara göre önemli artış gösterdi ($P<0.05$). Ayrıca, DM grubu lökosit (WBC), eritrosit dağılım genişliği (RDW) ve ortalama eritrosit hacmi (MCV) değerleri kontrol gruplarına göre önemli artış gösterirken, eritrosit ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) ise önemli oranda azaldı ($P<0.05$). DM grubunda plazma TAS seviyesindeki azalma, ile TOS ve OSI değerindeki artış kontrol ve uygulama gruplarına göre önemli bulundu. *N. oleander* çiçek liyofilize ekstresinin STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda diyabetin sebep olduğu artan hemolizi önleyici/azaltıcı etkilere ve antioksidan özelliklere sahip olabileceği sonucuna varılmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 31.03.2020

Kabul Tarihi : 14.05.2020

Anahtar Kelimeler

Nerium oleander

Frajilite

Hematolojik

Antioksidan

Diyabetik Rat

Investigation of the Erythrocyte Fragility, Hematological and Antioxidant Effects of Oleander (*Nerium oleander* L.) Flower Ethanolic Lyophilized Extract in Diabetic Rats

ABSTRACT

The present study was focused on the erythrocyte fragility, hematological parameters, total antioxidant capacity (TAS), total oxidant capacity (TOS) and oxidative stress index (OSI) of flower ethanolic lyophilized extract obtained from *N. oleander* plant on Streptozotocin (50 mg kg⁻¹)-induced Type 1 diabetes in rats. After toxicity test, 49 rats were divided into 7 groups. Control, *Nerium oleander* (NO) (50 mg kg⁻¹), Diabetes mellitus (DM), DM+Gly-3 (3 mg kg⁻¹), DM+NO-25 (25 mg kg⁻¹), DM+NO-75 (75 mg kg⁻¹) and DM+NO-225 (225 mg kg⁻¹). Based on the results, after 21 days of application, erythrocyte hemolysis of DM group was increased (at 0.2-0.6% NaCl concentrations) compared to Control groups whereas treatment groups significantly decreased ($P<0.05$) erythrocyte hemolysis, especially in DM+NO-225 group. Although, hematological parameters showed some fluctuations in the groups, DM+Gly group showed significant increase ($P<0.05$) in erythrocyte (RBCs), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT) levels compared to all other groups. In addition, leukocyte (WBC), red cell distribution width (RDWs) and mean corpuscular volume (MCV) values of DM group increased with respect to the control groups whereas mean cell corpuscular

Research Article

Article History

Received : 31.03.2020

Accepted : 14.05.2020

Keywords

Nerium oleander

Fragility

Hematologic

Antioxidant

Diabetic Rat

hemoglobin concentration (MCHC) value significantly decreased ($P<0.05$). The decrease in plasma TAS level and increase in TOS and OSI values in the DM group were found significant compared to control and application groups. It was concluded that ethanolic lyophilized extract of *N. oleander* flowers prevented/decreased increased hemolysis in STZ-induced diabetic rats and also it could possess antioxidant properties.

To Cite : Doğan A 2020. Diyabetik Ratlarda Zakkum (*Nerium oleander* L.) Çiçeği Etanolik Liyofilize Ekstresinin Eritrosit Frajlite, Hematolojik ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (6): 1495-1502. DOI: 10.18016/ksutarimdoga.vi.712369.

GİRİŞ

Zakkum (Oleander) bitkileri, sıcak ve subtropikal bölgelerde yayılış gösteren çalılar veya küçük ağaçlardır. *Nerium oleander* ve *Thevetia peruviana* olmak üzere iki ana türden oluşur (Boswell ve ark., 2013). Zakkum (*Nerium oleander* L.) Apocynaceae familyasında yer alan dünyanın pek çok bölgesinde yetişen çok yıllık zehirli bir bitkidir. Bahar ve yaz mevsimlerinde pembemsi çiçekler açan, mızraklı yapraklara ve bakla şeklinde meyvelere sahiptir (Baytop ve ark., 1989). Zakkum bitkisi çok zehirli olmasına rağmen yapılan çeşitli toksikolojik, farmakolojik, biyokimyasal ve etnobotanik çalışmalara göre önemli biyoaktif bileşiklere sahip olduğu rapor edilmiştir (Bavunoğlu ve ark., 2016; Farkhondeh ve ark., 2020; Abdou ve ark., 2019). *N. oleander* bitkisinin yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan infüzyonlar kalp yetmezliği, sıtma, cüzzam, hazımsızlık, saçkıran, zihinsel hastalıklar ve düşük tedavisinde halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bandara ve ark., 2010; Botelho ve ark., 2017). *N.oleander*'in çeşitli kısımlarında ana bileşik olan oleandrinin kardiyolojik ve diüretik etkili olduğu, neriin, oleandrin ve diğer digitoksin benzeri glikozitlerin kardiyak bozuklukların tedavisinde, digitalis ve oubain'in yerine başarıyla kullanılabileceği bildirilmiştir (Ergun, 1992). Ayrıca, *N.oleander* antinösetif, antiinflamatuar, antioksidan, antiastmatik, antikanser, antilösemi, antibakteriyel, antidiyareik, antimikrobiyal, antidiyabetik hepatoprotektif, diüretik, immünomodülatör ve larvisidal etkilere de sahiptir (Hase ve ark., 2016).

Diabetes mellitus (DM), insülin eksikliği ya da etkisindeki bozukluklar nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, hiperglisemi ile karakterize sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik metabolizma hastalığıdır (ADA, 2018). Diyabet ve komplikasyonların gelişiminde oksidatif stres ve serbest radikallerin rolü olduğu bilinmektedir. DM antioksidan enzim aktivitelerinin baskılanmasında, lipid peroksidasyonu artışında ve çeşitli hematolojik parametreler üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Dogan ve ark., 2015; Dalar ve ark., 2018). Eritrositler, zarlarındaki çoklu doymamış yağ asidi içeriğinden dolayı oksidatif hasara karşı oldukça

savunmasızdırlar. Çeşitli toksik maddeler eritrosit membranının zarar görmesine ve hemoliz olmasına sebep olmaktadır. Osmotik frajlite/eritrosit frajlitesi eritrositlerin parçalanmaksızın su alabilme yeteneğidir (Doğan, 2018). Eritrosit ve diğer hematolojik parametrelerin olumsuz etkilenmesi anemi, hücre döngüsü anemisi, kan trombosit bozuklukları, bağışıklık sistemi hastalıkları ve inflamasyon gibi çeşitli hastalıkların oluşmasına sebep olabilir.

Bu çalışmada *N.oleander* bitki çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin üç farklı dozunun (25, 75 ve 225 mg kg⁻¹) diyabetik ratlarda eritrosit frajlitesi, hematolojik parametreler ve antioksidan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Deney hayvanı

Çalışmamızda Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 2-5 aylık, 200-350 gr ağırlığındaki 49 adet erkek rat (*Wistar albino*) kullanıldı (Etik Kurul İzin Sayı No:27552122-421).

Kimyasallar

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar Sigma ve Merk'ten temin edildi.

Bitki teşhisi ve etanolik liyofilize ekstraktının hazırlanması

Zakkum bitki çiçekleri Mardin'nin Dargeçit ilçesi yöresinden 2016 Temmuz ayında Doç. Dr. Abdulhad DOĞAN tarafından toplandı. Güneşten korunarak gölgede kurutulmuş örneklerden bir tanesi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalında Yrd. Doç. Dr. Süleyman Mesut PINAR tarafından teşhis edildi. Teşhis edilen bitki örneği (Hebaryum no: 164212) Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Herbaryum (VANF) da saklandı.

Etanolik liyofilize ekstre hazırlanması Dogan ve ark. (2015) metodunda yapılan bazı ufak değişikliklere göre hazırlandı. Özetle, öğütülmüş bitki numunesinden 100 gr tartılarak, bir cam behere konuldu üzerine %80 etanol + %20 saf su ile hazırlanan 1 L çözücüde ekstre edilerek, beherin üzeri alüminyum folyo ile kapatıldı.

+4 °C'de, 2 saat süreyle çalkalayıcıda homojenize edilen karışım, daha sonra santrifüj cihazına yerleştirildi. Homojenize karışım 20 dk. boyunca, 10 000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen supernatant enjektör yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirilecek evaporatör yardımıyla +37 °C'de çözücünden arındırıldı. Supernatanttan arta kalan çökelti etanol kullanılarak aynı ekstraksiyon işlemlerine tekrar tabi tutuldu. Elde edilen yoğunlaştırılmış fraksiyonlar, -85 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liyofilizatör cihazında kuruyana kadar bekletildi. Toplanan *N. oleander* liyofilize ekstresi analiz işlemlerine başlanana kadar, -20 °C'de saklandı.

Toksisite testi ve deney grupların oluşturulması

Deneye başlamadan önce saf su içinde çözdürülen ekstraktın olası toksik etkilerinin belirlenmesi için 18 adet rat toksisite testinde kullanılmıştır. 18 adet hayvan 6 grup (n=3) halinde (OECD guidelines, test 423: akut oral toksisite method; 2002) düşük dozdan 20, 100, 250, 500, 1000 ve 2000 mg kg⁻¹e kadar gavaj ile verilerek 0.5, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonraki klinik ve toksikolojik semptomları gözlemlendi. 250 mg kg⁻¹ üstü dozlar toksik etkiye neden oldu ve ölümler gerçekleşti.

Toksisite testi sonrası çalışmada 25, 75 ve 225 mg kg⁻¹ dozlar ratlar üzerinde denendi. 49 adet rat her grupta 7 rat olacak şekilde gruplandırıldı.

Kontrol grubu: Ratlar *ad libitum* beslendi ek bir uygulama yapılmadı

***N. oleander* (NO) (50 mg kg⁻¹, ekstre) grubu:** Ratların *ad libitum* beslenmelerine ek olarak günde tek doz NO (50 mg kg⁻¹) ekstre gavaj ile verildi.

Diabetes mellitus (DM) grubu: Ratların *ad libitum* beslenmelerine ek olarak streptozotosin (STZ) [Belirlenen STZ miktarı 0.1 M soğuk sitrat tamponu (pH:4.5) içinde çözdürüldü] ile canlı ağırlıklarına göre tek doz (50 mg kg⁻¹, intraperitoneal) yapıldı (Dogan ve ark., 2015). STZ verilen ratların açlık kan glukoz değerleri 72 saat sonra Accu-Chek Go (Roche) strip ile ölçüldü ve 200 mg/dL üzerindeki açlık kan glukoz değerleri diyabet olarak kabul edildi.

DM + Glibenklamid (Gly) (3 mg kg⁻¹) grubu: Ratların *ad libitum* beslenmelerine ek olarak günde tek doz Gly (3 mg/kg) gavaj ile verildi (Rabbani ve ark., 2010)

DM + NO-25 (25 mg kg⁻¹, ekstre) grubu: Ratların *ad libitum* beslenmelerine ek olarak günde tek doz NO-25 (25 mg/kg, ekstre) gavaj ile verildi.

DM + NO-75 (75 mg kg⁻¹, ekstre) grubu: Ratların *ad libitum* beslenmelerine ek olarak günde tek doz NO-75 (75 mg/kg, ekstre) gavaj ile verildi.

DM + NO-225 (225 mg kg⁻¹, ekstre) grubu: Ratların *ad libitum* beslenmelerine ek olarak günde tek doz NO-225 (225 mg/kg, ekstre) gavaj ile verildi.

21 gün boyunca devam ettirilen çalışmada, tüm gruplarda yem ve su kısıtlamasına gidilmeden *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı.

Kan ve doku örneklerinin alınması

21 günlük deneme sonunda ratlar %10'luk ketamin ile anestezide tutularak enjektörler yardımıyla kalplerinden kan alındı. Kanlar EDTA'lı ve biyokimya cam tüplere alındı. EDTA'lı kan hematolojik parametreler ve eritrosit fragilite testi için kullanılırken, biyokimya tüplerine alınan kan ise serumda bakılması gereken antioksidan testler için kullanıldı.

Eritrosit fragilite testi

EDTA'lı kan örnekleri oda sıcaklığında 24 saat inkübe edildi. pH 7.4 fosfat tamponu ile %0.9 NaCl stok solüsyonu hazırlandı. Daha sonra stok solüsyondan %0.9 NaCl'dan %0.1'den %0.9'e değişen farklı konsantrasyondan 5 mL alınarak ayrı tüplere konuldu devamında inkübasyona bırakılan kandan 30 uL alınarak bu tüplere boşaltıldı. Tüpler oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra, 3000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Tüplerdeki supernatantlar 540 nm'de spektrofotometrik olarak okundu (Doğan, 2018).

Hematolojik parametreler

EDTA'lı tüplerdeki kan örneklerinden hematolojik otoanalizör cihazında (Coulter LH 780 Analyzer, ABD) eritrosit (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrositteki ortalama hemoglobin miktarı (MCH), eritrosit ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), eritrosit dağılım genişliği (RDW) ve lökosit (WBC) değerleri okundu.

Total oksidan/antioksidan kapasite

Serumdaki Total Oksidan Kapasite (TOS) Erel (2005) tarafından geliştirilen kitler kullanılarak 530 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Total Antioksidan Kapasite (TAS) Erel (2004) tarafından geliştirilen kitler kullanılarak 660 nm'de spektrofotometrik (AE-S90-MD UV / VIS) olarak okundu. Oksidatif Stres İndeksi (OSI) ise TOS/TAS'ın oranlamasıyla belirlendi.

İstatistiksel analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizinde Minitab 14 paket programı kullanılmıştır. Gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) Tukey testi kullanıldı. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda $P < 0.05$ değerleri istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Diyabetik ratlarda zakkum (*Nerium oleander* L.) çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin osmotik frajilite üzerine etkisi

Eritrosit frajilitesi, eritrositlerin su alarak şişmesi ve bu şişmeye karşı membran dayanıklılığını ölçmeye yarayan standart testlerden biridir (Doğan, 2018). Artmış frajilite membran proteinlerinden ankyrin, alfa spectrin, band 3, beta spectrin ve protein 4.2 veya 4.1'den birinin kantitatif ya da kalitatif hasarına bağlı gelişmektedir. Oksidatif stres eritrosit frajilite artışında önemli rol oynar. Diyabet kaynaklı oksidatif stres membran hasarının artışında önemli rol oynadığı rapor edilmiştir (Kung ve ark., 2009).

Çizelge 1'de %0.6'dan %0.1 NaCl konsantrasyonuna doğru hemoliz olayının arttığı görülmektedir. %0.6'da DM grubu; Kontrol, NO, DM + NO-75 ve DM + NO-225 gruplarına göre önemli artış gösterdi ($P<0.05$). Benzer şekilde genel olarak %0.5, 0.4, 0.3 ve 0.2 konsantrasyonlarda Kontrol ve NO grupları DM ve DM uygulama gruplarına göre hemolizde önemli azalma gözlenirken; DM grubunun %0.5 ve %0.4 konsantrasyonlarda DM + NO-225 grubuna ve %0.3 ve %0.2 konsantrasyonlarda ise tüm DM + uygulama gruplarına göre önemli oranda arttığı gözlemlendi ($P<0.05$).

Çizelge 1'den elde edilen verilere göre %0.6-0.1 NaCl konsantrasyonlarda eritrosit hemolizinin artış gösterdiği ancak *N. oleander* dozlarının hemolizi önemli oranda düşürdüğü görülmüştür. *N. oleander* gruplarında hemoliz derecesinin düşmesi kesin olmamakla beraber bitki içinde bulunan fitokimyasal içeriklerin antioksidan ve membran koruyucu etkilerinin bir sonucu olabilir. Yapılan bir çalışmada *N. oleander* bitkisinin terpenoidler, kardiyak glikozitler, saponin glikozitler, steroller, fenoller, flavonoidler, tanenler, alkaloidler ve antrakinin bileşiklere sahip olduğu rapor edilmiştir (Kgosana, 2019). Kalp uyarıcı ve idrar söktürücü özelliği olan *N. oleander* bitkisinin C ve E vitaminleri ve mineral içeriği bakımından zengin olup, tohumları (oleandrin, odorosid, adigosid), kabukları çeşitli glikozitleri (rosaginosid, neriosid, kortenerosid) ve kökleri ise steroid içerir (Kumar ve ark., 2013). Zengin fenolik bileşiklere ve vitamin içeriğine sahip *N.oleander*'in yaprak ve çiçekleri serbest radikalleri süpürücü ve antioksidan rolü bulunmaktadır (Mohadjerani, 2012). Bitkinin E vitamini ve fenolik içeriği bakımından zengin oluşu hücre membranını lipid peroksidasyonu engellemesinde önemli rol oynamış olabilir. Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda fenolik içerik ve E vitamini bakımından zengin ekstrelerin diyabetik ratlarda osmotik frajilite üzerinde rol oynadığı ve hemolizi önemli oranda düşürdüğü rapor edilmiştir (Sureka ve ark., 2013; Pradeep ve Srinivasan, 2018).

Diyabetik ratlarda zakkum (*Nerium oleander* L.) çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin hematolojik parametrelere etkisi

Çizelge 2'de görüldüğü gibi RBC, HGB ve HCT düzeyleri DM + Gly grubunda diğer tüm gruplara göre önemli oranda arttığı ($P<0.05$) gözlemlendi. DM grubu MCV düzeyi Kontrol, NO ve DM + Gly gruplarına göre önemli artış gösterdi ($P<0.05$). DM grubu MCHC düzeyi Kontrol, NO, DM + Gly ve DM + NO-75 gruplarına göre önemli artış gösterdi ($P<0.05$). DM, DM + Gly, DM + NO-75 ve DM + NO-225 grupları RDW değerleri Kontrol ve NO gruplarına göre önemli artış ($P<0.05$) gösterirken, DM + Gly ve DM + NO-75 grupları RDW düzeylerinde ise DM grubuna göre önemli azalma gözlemlendi ($P<0.05$). DM grubu WBC düzeyi Kontrol, NO, DM + Gly ve DM + NO-75 gruplarına göre önemli artma gözlemlendi ($P<0.05$).

Diyabetik hastalarda kan glikoz düzeyinin sürekli yüksek kalması hematolojik değişiklikler yoluyla kalp hasarını ilerleterek eritrosit hemolizini artırdığı ve bunun sonucu olarak RBC ve HB düzeyinde azalmaya bağlı anemiye sebep olduğu ve kardiyovasküler komplikasyonların gelişmesine yol açtığı rapor edilmiştir (Thomas ve ark., 2003). Kardiyovasküler komplikasyonu olan diyabetik hastalarda eritrosit fonksiyonunda rolü olan hematolojik parametrelerden HGB, MCH ve MCHC konsantrasyonlarında azalma gözlenir (Miikue-Yobe, 2015). Elde ettiğimiz sonuçlara göre, DM grubunda RBC, HGB ve HCT düzeyleri diyabet tedavisinde kullanılan glibenklamid grubuna göre önemli azalma göstermesine rağmen bitki ekstrelerine göre önemli fark bulunmadı. Ancak, DM grubunda MCV, RDW ve WBC düzeyleri kontrol gruplarına göre önemli artış gösterirken, MCHC değeri ise önemli oranda azalma gösterdi. Bu bulgulardan kullanılan *N. oleander* bitki ekstresinin MCHC, RDW ve WBC parametreleri üzerinde önemli etkiye sahip olabileceği sonucuna varıldı. Diğer yandan, %10'luk *N.oleander* bitki yaprağının ilave edildiği yem ile beslenen ratların kontrol grubuna göre üç hafta sonunda HGB, RBC, MCV ve MCHC düzeylerinde önemli bir fark bulunmazken 6. haftanın sonunda ise HGB ve WBC düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli bir azalma görüldüğü rapor edilmiştir (Al-Yahya ve ark., 2000).

Diyabetik ratlarda zakkum (*Nerium oleander* L.) çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin TOS, TAS ve TOS/TAS üzerine etkisi

Oksidatif stres olarak bilinen yetersiz antioksidan koruma veya aşırı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, çeşitli kanser türlerinde, yaşlanmada ve DM gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Oluşan oksidan dengeyi antioksidan duruma getirmek için çeşitli vitamin ve bitkisel ekstrelerden yararlanılmaktadır. *N.oleander*'in yaprak ve çiçeğinden farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktları güçlü *in vitro*

Çizelge. Diyabetik ratlarda zakkum (*Nerium oleander* L.) çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin osmotik fragilite üzerine etkisi

Table 1. Effect of oleander (*Nerium oleander* L.) flower ethanolic lyophilized extract on osmotic fragility in diabetic rats

| Gruplar (Groups) | % NaCl konsantrasyonları (% NaCl Concentrations) | | | | | | | | |
|------------------------|--|----------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 |
| Kontrol | 100.00±0.00 | 47.05±7.80 | 24.10±4.53 | 9.57±2.11 | 3.66±0.97 | 2.06±0.04 | 2.18±0.21 | 2.96±0.11 | 2.77±0.21 |
| NO ¹ | 100.00±0.00 | 45.74±9.12 | 20.93±5.67 | 10.70±3.42 | 4.18±0.89 | 3.23±0.12 | 3.39±0.75 | 3.14±0.43 | 2.81±0.32 |
| DM ² | 100.00±0.00 | 96.51±11.7 ^{ab} | 41.28±6.82 ^{ab} | 23.95±4.54 ^{ab} | 12.66±1.78 ^{ab} | 7.79±1.23 ^{ab} | 2.89±0.43 | 3.92±0.24 | 2.69±0.49 |
| DM+Gly ³ | 100.00±0.00 | 51.16±10.30 ^c | 33.15±9.73 ^{abc} | 22.16±4.23 ^{ab} | 7.04±1.64 ^{abc} | 4.74±1.03 | 3.41±0.23 | 2.72±0.32 | 2.07±0.25 |
| DM+NO-25 ⁴ | 100.00±0.00 | 82.64±6.92 ^{abc} | 52.10±7.43 ^{abc} | 25.32±3.32 ^{ab} | 13.23±2.67 ^{ab} | 4.54±0.99 | 2.71±0.52 | 2.36±0.24 | 2.03±0.18 |
| DM+NO-75 ⁵ | 100.00±0.00 | 72.44±11.40 ^{abc} | 32.09±6.12 ^{abc} | 18.66±2.89 ^{ab} | 8.10±1.64 ^{ab} | 3.34±0.75 ^c | 3.61±0.19 | 2.86±0.13 | 2.08±0.31 |
| DM+NO-225 ⁶ | 100.00±0.00 | 54.16±8.43 ^c | 23.44±4.89 ^{abc} | 11.06±2.02 ^c | 4.33±1.02 ^c | 2.65±0.23 ^c | 3.01±0.84 | 2.75±0.27 | 2.09±0.13 |

İstatistiki analizler Minitab 14 One-Way ANOVA Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda $P<0.05$ değerleri istatistiki olarak anlamlı değişiklikler olarak değerlendirilmiştir.

^aKontrol grubuna göre farklı ($P<0.05$).

^bNO grubuna göre farklı ($P<0.05$).

^cDM grubuna göre farklı ($P<0.05$).

NO¹:*Nerium oleander*; DM²: Diabetes mellitus; DM+Gly³: Diabetes mellitus + glibenklamid 3 mg kg⁻¹; DM+NO-25⁴: Diabetes mellitus + *N.oleander* 25 mg kg⁻¹ ekstre; DM+NO-75⁵: Diabetes mellitus + *N.oleander* 75 mg kg⁻¹ ekstre; DM+NO-225⁶: Diabetes mellitus + *N.oleander* 225 mg kg⁻¹ ekstre.

Çizelge 2. Diyabetik ratlarda zakkum (*Nerium oleander* L.) çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin hematolojik parametrelere etkisi

Table 1. Effect of oleander (*Nerium oleander* L.) flower ethanolic lyophilized extract on hematological parameters in diabetic rats

| Gruplar (Groups) | Hematolojik parametreler (Hematologic parameters) | | | | | | | |
|------------------------|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|---|
| | RBC (10 ⁶ /uL) ⁷ | HGB (g/dL) ⁸ | HCT (%) ⁹ | MCV (fL) ¹⁰ | MCH (pg) ¹¹ | MCHC (g/dL) ¹² | RDW (%) ¹³ | WBC (10 ³ /uL) ¹⁴ |
| Kontrol | 7.95±0.65 | 14.57±1.09 | 45.60±3.52 | 57.46±0.47 | 18.32±0.24 | 32.13±0.62 | 13.77±0.53 | 3.17±0.76 |
| NO ¹ | 8.20±0.57 | 15.05±1.14 | 46.38±3.65 | 56.53±1.40 | 18.37±0.38 | 32.47±0.28 | 13.53±.52 | 3.70±0.78 |
| DM ² | 7.57±0.77 | 13.82±1.34 | 49.77±6.08 | 65.87±7.00 ^{ab} | 18.23±0.29 | 27.92±3.48 ^{ab} | 22.58±5.16 ^{ab} | 6.07±1.65 ^{ab} |
| DM+Gly ³ | 10.11±0.45 ^{abc} | 18.53±1.02 ^{abc} | 57.33±3.81 ^{abc} | 56.68±1.97 ^c | 18.33±0.49 | 32.35±0.48 ^c | 16.35±.73 ^{abc} | 4.18±0.78 ^c |
| DM+NO-25 ⁴ | 8.17±0.64 | 14.82±1.49 | 47.18±3.28 | 58.33±7.50 | 18.15±0.56 | 31.55±3.99 | 16.92±5.14 | 3.80±2.25 |
| DM+NO-75 ⁵ | 7.82±1.00 | 14.78±2.09 | 44.33±6.40 | 58.23±5.54 | 18.98±0.76 | 32.82±0.89 ^c | 15.98±2.20 ^{abc} | 3.58±1.66 ^c |
| DM+NO-225 ⁶ | 7.44±0.40 | 13.88±0.35 | 44.20±4.10 | 59.92±6.46 | 18.85±0.60 | 31.65±2.57 | 18.63±5.59 ^{ab} | 4.62±1.00 |

İstatistiki analizler Minitab 14 One-Way ANOVA Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda $P<0.05$ değerleri istatistiki olarak anlamlı değişiklikler olarak değerlendirilmiştir.

^aKontrol grubuna göre farklı ($P<0.05$).

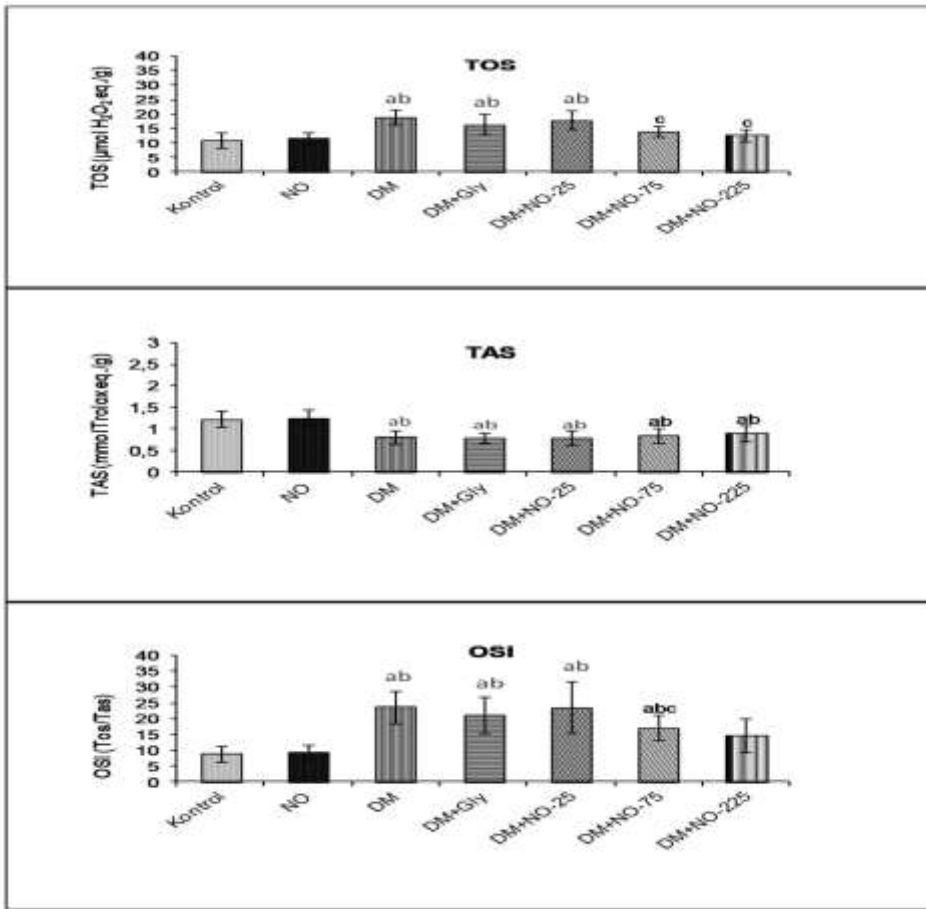
^bNO grubuna göre farklı ($P<0.05$).

^cDM grubuna göre farklı ($P<0.05$).

NO¹:*Nerium oleander*; DM²: Diabetes mellitus; DM+Gly³: Diabetes mellitus + glibenklamid 3 mg kg⁻¹; DM+NO-25⁴: Diabetes mellitus + *N.oleander* 25 mg kg⁻¹ ekstre; DM+NO-75⁵: Diabetes mellitus + *N.oleander* 75 mg kg⁻¹ ekstre; DM+NO-225⁶: Diabetes mellitus + *N.oleander* 225 mg kg⁻¹ ekstre; RBC⁷: eritrosit; HGB⁸: hemoglobin; HCT⁹: hematokrit; MCV¹⁰: ortalama eritrosit hacmi; MCH¹¹: eritrositteki ortalama hemoglobin miktarı; MCHC¹²: eritrosit ortalama hemoglobin konsantrasyonu; RDW¹³: eritrosit dağılım genişliği; WBC¹⁴: lökosit.

antioksidan aktiviteye ve serbest radikal süpürücü etkiye sahiptir (Mohadjerani, 2012). *N. oleander* bitkisi üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda bitkinin sahip olduğu farklı biyoaktif bileşiklerin antioksidan etki göstererek lipidperoksidasyonunu, karaciğer/böbrek hasar biyomarkır düzeylerini azalttığı ve β -hücrelerinden insülin salınımını artırarak güçlü antidiyabetik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Dey ve ark., 2015; Kumar ve ark., 2017). Diyabetik nefropatide kontrol grubuna göre TOS'da önemli artış görülürken; TAS'da ise önemli azalma olduğu tespit edilmiştir (Inci ve ark., 2016).

Şekil 1'de görüldüğü gibi TOS düzeyi DM, DM + Gly ve DM + NO-25 gruplarda kontrol ve NO gruplarına göre önemli artış ($P<0.05$) gösterirken DM + NO-75 ve DM + NO-225 gruplarda ise kontrol gruplarına yakın değerlerde bulundu. TAS düzeyi ise tüm DM ve DM uygulama gruplarında kontrol ve NO gruplarına göre istatistiksel açıdan önemli azalma gösterdi ($P<0.05$). OSI düzeyi ise DM, DM + Gly, DM + NO-25 ve DM + NO-75 gruplarda kontrol ve NO gruplarına göre önemli artış ($P<0.05$) gösterirken DM + NO-225 grubu ise kontrol gruplarına yakın değerlerde bulundu..



Şekil 1. Diyabetik ratlarda zakkum (*Nerium oleander* L.) çiçeği etanolik liyofilize ekstresinin TOS/TAS parametrelere etkisi

Figure 1. Effect of oleander (*Nerium oleander* L.) flower ethanolic lyophilized extract on TOS / TAS parameters in diabetic rats

İstatistiksel analizler Minitab 14 One-Way ANOVA Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda $P<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler olarak değerlendirilmiştir.

^aKontrol grubuna göre farklı ($P<0.05$).

^bNO grubuna göre farklı ($P<0.05$).

^cDM grubuna göre farklı ($P<0.05$).

NO: *Nerium oleander*; DM: Diabetes mellitus; DM+Gly: Diabetes mellitus + glibenklamid 3 mg/kg; DM+NO-25: Diabetes mellitus + *N.oleander* 25 mg kg⁻¹ ekstre; DM+NO-75: Diabetes mellitus + *N.oleander* 75 mg kg⁻¹ ekstre; DM+NO-225: Diabetes mellitus + *N.oleander* 225 mg kg⁻¹ ekstre. TOS: Total oksidan kapasite; TAS: Total antioksidan kapasite; OSI: Oksidatif stres indeksi.

Bu verilere göre diyabet sonucu oluşan oksidatif stresin DM gruplarında total oksidan artışına ve antioksidan düşüşüne sebep olduğu; fakat kullanılan

bitki ekstresi dozlarından DM + NO-225'in muhtemelen antioksidan ve antidiyabetik etkisi sonucu koruyucu etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

SONUÇ

Çalışmadan elde edilen veriler bir bütün olarak değerlendirildiğinde *N.oleander* çiçek etanolik liyofilize ekstresinin (özellikle 75 ve 225 mg kg⁻¹ ekstre) %0.6-0.2 NaCl konsantrasyon aralığında diyabetin sebep olduğu eritrosit hemolizini önemli oranda azaltarak değerleri kontrol değerlerine yaklaştırdığı görüldü. *N.oleander* ekstreleri hematolojik parametreler üzerine değişken etkiler gösterirken; yüksek dozunun DM grubuna göre (özellikle 225 mg kg⁻¹ ekstre) TOS düzeyini azalttığı ve TAS düzeyini artırarak antioksidan etkiye sahip olabileceği sonucuna varılmıştır. Bitkinin diyabetin sebep olduğu artan hemolizi önleyici/azaltıcı özelliği ve antioksidan etkinliği kesin olmamakla birlikte içermiş olduğu fenolik bileşikler, vitamin E ve glikozidlerin bir sonucu olabilir. Oldukça zehirli bir bitki olan *N.oleander*'in olumlu/olumsuz etkileri deney hayvanlarında ve *in vitro* çalışmalarda nispeten daha ayrıntılı çalışılmış olmasına rağmen insan çalışmalarının yetersiz olması sebebiyle tüketiminden kaçınılması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TAP-2018-7098 numaralı proje olarak desteklenmiştir. Ayrıca bitkiyi teşhis eden sayın Doç. Dr. Süleyman Mesut PINAR hocamıza teşekkürü bir borç bilirim.

Çıkar Çatışması

Çalışmada herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKLAR

Abdou RH, Basha WA, Khalil WF 2019. Subacute Toxicity of *Nerium oleander* Ethanolic Extract in Mice. *Toxicological research* 35 (3): 233.

Al-Yahya MA, Al-Farhan AH, Adam SEI 2000. Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *Citrullus colocynthis* and *Nerium oleander* in rats. *Fitoterapia* 71(4): 385-391.

American Diabetes Association. 2018. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2018. *Diabetes care* 41 (Supplement 1): S13-S27.

Bandara V, Weinstein SA, White J, Eddleston M 2010. A review of the natural history, toxinology, diagnosis and clinical management of *Nerium oleander* (common oleander) and *Thevetia peruviana* (yellow oleander) poisoning. *Toxicon* 56: 273-281.

Bavunoğlu I, Balta M, Türkmen Z 2016. Oleander poisoning as an example of self-medication attempt. *Balkan medical journal* 33 (5): 559.

Baytop T, Baytop A, Mat A, Sun S 1989. Türkiyede zehirli bitkiler, bitki zehirlenmeleri ve tedavi yöntemleri. İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3560,

975- 404-111-3.

Boswell BR, Dorweiler MA, Erbs NC, Chm B, Caplan JP 2013. A case of *Nerium oleander* toxicity: a thorny predicament. *Psychosomatics* (Washington, DC) 54 (4): 379-381.

Botelho AFM, Santos-Miranda A, Joca HC, Mattoso CRS, de Oliveira MS, Pierezan F, Cruz JS, Soto-Blanco B, Melo MM 2017. Hydroalcoholic extract from *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) elicits arrhythmogenic activity. *Journal of ethnopharmacology* 206: 170-177.

Dalar A, Dogan A, Bengu AS, Mukemre M, Celik I 2018. Screening in vivo antioxidant and haematological properties of sumac and acorn bioactive rich extracts. *Industrial Crops and Products* 124: 20-27.

Dey P, Saha MR, Chowdhuri SR, Sen A, Sarkar MP, Haldar B, Chaudhuri TK 2015. Assessment of anti-diabetic activity of an ethnopharmacological plant *Nerium oleander* through alloxan induced diabetes in mice. *Journal of ethnopharmacology* 161: 128-137.

Dogan A, Celik I, Kaya MS 2015. Antidiabetic properties of lyophilized extract of acorn (*Quercus brantii* Lindl.) on experimentally STZ-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology* 176: 243-251.

Doğan A 2018. CCl4 İle oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda *Pholiota aurivella* liyofilize ekstrenin bazı biyokimyasal ve hematolojik parametrelere etkisi. *Mantar Dergisi* 9 (1): 58-66.

Erel O 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 37(4): 277-285.

Erel O 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 38(12): 1103-1111.

Ergun B 1992. *Nerium oleander*'in bazı suda çözünen bileşiklerinin *in vitro* biyolojik etkileri. Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 56 sy.

Farkhondeh T, Kianmehr M, Kazemi T, Samarghandian S, Khazdair MR 2020. Toxicity effects of *Nerium oleander*, basic and clinical evidence: A comprehensive review. *Human & Experimental Toxicology* 0960327120901571.

Hase GJ, Deshmukh KK, Murade VD, Pokharkar RD, Phatanagre ND, Hase DP, Dichayal S, Gosavi AB 2016. Phytopharmacology of *Nerium oleander* L. A review. *International Journal of Phytopharmacology* 7 (2): 0975-9328.

Inci A, Olmaz R, Sarı F, Coban M, Ellidag HY, Sarıkaya M 2016. Increased oxidative stress in diabetic nephropathy and its relationship with soluble Klotho levels. *Hippokratia* 20 (3): 198.

Kgosana KG 2019. The effects of extraction techniques and quantitative determination of oxalates in

- Nerium oleander* and feeds. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 86 (1): 1-9.
- Kumar A, De T, Mishra A, Mishra AK 2013. Oleandrin: A cardiac glycosides with potent cytotoxicity. Pharmacognosy reviews 7 (14): 131.
- Kumar D, Al Hassan M, Naranjo MA, Agrawal V, Boscaiu M, Vicente O 2017. Effects of salinity and drought on growth, ionic relations, compatible solutes and activation of antioxidant systems in oleander (*Nerium oleander* L.). Plos one 12 (9).
- Kung CM, Tseng ZL, Wang HL 2009. Erythrocyte fragility increases with level of glycosylated hemoglobin in type 2 diabetic patients. Clinical hemorheology and microcirculation 43 (4): 345-351.
- Miikue-Yobe TFB 2015. Effect of aqueous leaf extract of *Heinsia crinata* on haematological and some biochemical indices of toxicity in streptozotocin induced diabetic rats. International Journal for Innovative Research in Science & Technology 2: 116-126.
- Mohadjerani M 2012. Antioxidant activity and total phenolic content of *Nerium oleander* L. grown in North of Iran. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR 11(4): 1121.
- Pradeep SR, Srinivasan K 2018. Haemato-protective influence of dietary fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds is potentiated by onion (*Allium cepa* L.) in streptozotocin-induced diabetic rats. Biomedicine & Pharmacotherapy 98: 372-381.
- Rabbani SI, Devi K, Khanam S 2010. Protective role of glibenclamide against nicotinamide-streptozotocin induced nuclear damage in diabetic Wistar rats. Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics 1(1): 18-23.
- Sureka C, Ramesh T, Begum VH 2015. Attenuation of erythrocyte membrane oxidative stress by *Sesbania grandiflora* in streptozotocin-induced diabetic rats. Biochemistry and Cell Biology 93 (4): 385-395.
- Thomas MC, MacIsaac RJ, Tsalamandris C, Power D, Jerums G 2003. Unrecognized anemia in patients with diabetes: a cross-sectional survey. Diabetes care 26 (4): 1164-1169.