



The Effect of Bitter Almond Oil on The Some Alterations in Liver Tissue of Experimental Diabetic Rats

Ersin DEMİR¹ Ökkeş YILMAZ²

¹ Duzce University Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Department of Agricultural Biotechnology, Duzce, Turkey

² Firat University, Faculty of Science, Department of Biology, Elazığ, Turkey

Received: 07.10.2014

Accepted: 25.11.2014

SUMMARY

The present study was designed to evaluate the impact of bitter almond oil on malondialdehyde, reduced glutathione, total protein, fatty acid composition, A, D, E and K vitamins, cholesterol and some sterols parameters in liver tissue of experimental diabetes in rats. The rats were divided into three groups: control (C) streptozotocin (STZ), streptozotocin+bitter almond oil (STZ+BAO) groups. Diabetes induced in rats by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (45 mg/kg). 1 ml/kg the dose bitter almond oil was intraperitoneally injected twice in a week to the streptozotocin+bitter almond oil (STZ+BAO), and additionally 2 g/500 ml dose of bitter almond seed powder was added to the drinking water of these rats. The experiment continued for 8 weeks. It was observed that MDA and total protein levels were significantly increased ($p<0.001$), GSH level was significantly decreased ($p<0.001$), palmitic, palmitoleic and arachidonic acid ($p<0.05$) levels were significantly decreased ($p<0.001$), stearic and linoleic acid levels were significantly increased ($p<0.001$), α -linolenic and oleic and docosahexaenoic acid levels were not changed, δ -tocopherol and vitamin D₂ levels were significantly decreased ($p<0.001$), vitamins K₂, vitamin D₃ ($p<0.05$), α -tocopherol, retinol, vitamin K₁, cholesterol, stigmasterol and β -sitosterol levels were significantly increased ($p<0.001$) in the liver tissue of STZ group when compared to the control group. It was detected that MDA, GSH and total protein levels were significantly decreased ($p<0.001$), palmitoleic, linoleic, arachidonic ($p<0.05$) and α -linolenic acid levels were significantly decreased ($p<0.001$), stearic, oleic and docosahexaenoic acid levels were significantly increased ($p<0.001$), palmitic level was not changed, Vitamin K₂, δ -tocopherol, vitamin D₂, α -tocopherol, vitamin K₁ ($p<0.01$), β -sitosterol levels were significantly increased ($p<0.001$), vitamin D₃ level was significantly decreased ($p<0.001$), retinol, cholesterol and stigmasterol levels were not changed in the liver tissue of STZ+BAO group when compared to the STZ group. It was determined that the applied of bitter almonds oil was limited against the metabolic disorders of GSH, total protein, some fatty acid composition and A, D, E and K vitamins in the liver tissue of experimental diabetic rats.

Key Words: Vitamin, Cholesterol, Experimental Diabetes, Oxidative Stress, Sterols

ÖZET

Deneyisel Diyabetin Sıçan Karaciğer Dokusunda Oluşturduğu Bazı Değişiklikler Üzerine Acı Badem Yağının Etkisi

Bu çalışma, deneyisel diyabet oluşturulan sıçanlarda acı badem yağının karaciğer dokusunda yağ asidi bileşimi, malondialdehit, indirgenmiş glutatyon, total protein, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve bazı sterol parametreleri üzerinde etkisinin araştırılması için tasarlandı. Sıçanlar kontrol (K), streptozotosin (STZ) ve streptozotosin+acı badem yağı (STZ+ABY) olmak üzere üç gruba ayrıldı. STZ gruplarına intraperitoneal enjeksiyonla streptozotosin (45 mg/kg) verilerek diyabet oluşturuldu. Acı badem yağı grubundaki sıçanlara haftada iki gün 1ml/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla acı badem yağı ve ayrıca deney boyunca toz haline getirilmiş 2 gr acı badem çekirdeği, 500 ml içme suyuna eklenerek verildi. Bu uygulamalar 8 hafta boyunca sürdü. Kontrol grubuna göre, STZ grubunun karaciğer dokusunda MDA ve total protein düzeyinin anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) arttığı, GSH düzeyinin anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) azaldığı, palmitik, palmitoleik, araşidonik asit ($p<0.01$) düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), stearik ve linoleik asit düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$), oleik ve α -linolenik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinde istatistiksel açıdan önemli değişikliklerin olmadığı, δ -tokoferol ve vitamin D₂ düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), vitamin K₂, vitamin D₃ ($p<0.05$), α -tokoferol, retinol, vitamin K₁, kolesterol, stigmasterol ve β -sitosterol düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$) tespit edildi. STZ grubu ile karşılaştırıldığında, STZ+ABY grubunun karaciğer dokusunda MDA, GSH ve total protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) azaldığı, palmitoleik, linoleik, araşidonik ($p<0.05$) ve α -linolenik asit düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), stearik, oleik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$), palmitik asit düzeyinde istatistiksel açıdan önemli değişikliklerin olmadığı, vitamin K₂, δ -tokoferol, vitamin D₂, α -tokoferol, vitamin K₁ ($p<0.01$), β -sitosterol düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.001$), vitamin D₃ düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.001$), retinol, kolesterol ve stigmasterol düzeylerinde istatistiksel açıdan önemli değişikliklerin olmadığı belirlendi. Deneyisel diyabetin sıçanların karaciğer dokusunda GSH, total protein, bazı yağ asidi bileşimi ile A, D, E ve K vitaminleri üzerinde oluşturduğu metabolik düzensizliklere karşı uygulanan acı badem yağının etkisinin sınırlı kaldığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Vitamin, Deneyisel diyabet, Kolesterol, Oksidatif stres, Sterol

GİRİŞ

Pankreasın β -hücrelerinden salgılanan insülin miktarının azalması ile periferik dokularda insülin duyarlılığının bozulması hiperglisemiye yol açmakta, eğer gerekli önlemler alınmazsa bu durum hipergliseminin şiddetlenmesi ile sonuçlanmaktadır. Hiperglisemi ile insülin metabolizması arasında karmaşık bir ilişkinin bulunduğu, bütün bunların da diyabetin patogeneğinde rol oynadığı sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Vücutta farklı metabolik yollarının koordineli regülasyonu ile kan glukoz düzeyi düzenlenmektedir fakat insülin metabolizmasının bozulması karbohidrat kullanan glukoneogenez ve glukoliz gibi metabolik yolların aktivitesinin bozulmasına yol açarak kanın glukoz homeostazının bozulmasına sebep olmaktadır (Ashokkumar ve Pari 2005).

Diyabet, dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. 2025 yılına kadar, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 300 milyon insanın diyabet hastası olacağını öngörmektedir (Dünya Sağlık Örgütü/Uluslararası Diyabet Federasyonu, 1999). Diyabet, Tip-1 (insüline bağımlı diyabet veya IDDM) ve Tip-2 (insüline bağımlı olmayan diyabet veya NIDDM) olmak üzere iki kategoriye ayrılan kronik metabolik bir hastalıktır. Diyabetin görülme sıklığı sanayileşmiş ülkelerde hızla artmakta ve vakaların %90'ını Tip-2 diyabet oluşturmaktadır. İnsüline direnç, Tip-2 diyabetin karakteristik bir özelliğidir ve insülin duyarlılığını artırmak için çeşitli ilaçlar klinik olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, Tip-2 diyabet için halen mevcut olan ilaçların arzu edilmeyen etkilerinden dolayı yeni ilaçların keşfedilmesi için yapılan çalışmalara büyük önem verilmiştir. Yeni ilaçların geliştirilmesinde bitkiler önemli kaynak durumundadırlar (Oh ve ark. 2005).

Son zamanlarda diyabet ve diyabet komplikasyonlarının tedavisinde bitkiler ile bitkilerin sahip olduğu çeşitli aktif bileşiklerin kullanımına odaklanılmıştır. Bitkiler, eski zamanlardan beri insanoğlunun karşılaştığı çeşitli sağlık problemlerinin tedavisinde başvurdukları ilk kaynaklardır. Bitkisel ürünlere tüm dünyada artan bir talebin olması büyük ilaç firmalarını tıbbi değeri olan bitkiler üzerinde kapsamlı araştırmalar yapmaya itmiştir. Bitkiler ile bitkilerden elde edilen aktif bileşiklerin gerek klinik gerekse de deneysel çalışmalarda bazı hastalıklar üzerindeki etkilerine yönelik yapılan çalışmalarda umut verici sonuçlara ulaşılmış ve bu sonuçlar ciddi birçok bilimsel dergide kendine yer bulmuştur (Oh ve ark. 2005; Vasi ve Austin 2009; Kumar ve ark. 2012; Liu ve ark. 2013).

Kabuklu yemişler, doymamış yağ asitleri ile diğer biyolojik aktif bileşiklerin yoğun bir şekilde bulunduğu besin maddeleridir: sahip oldukları yüksek kaliteli bitkisel protein, lif, mineral, tokoferol, fitosterol ve fenolik bileşiklerin eşsiz bileşiminden dolayı insan sağlığına yararlı etkileri bulunmaktadır (Ros 2010; Keser ve ark. 2014a). Kabuklu yemiş tüketiminin ve özellikle de bademin, Tip-2 diyabet ve prediyabet olan kişilerde kan glukoz düzeyi üzerindeki yararlı etkilere sahip olmasının yanı sıra açlık kan glukoz, insülin, insülin duyarlılığı ve LDL-kolesterol seviyesi üzerinde de yararlı etkileri bulunduğu ifade edilmiştir (Cohen ve Johnston 2011; Li ve ark. 2011). Yapılan çalışmalarda bademin oksidatif stres ve DNA hasarına karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Jia ve ark. 2006). Acı bademin hipoglisemik özelliğe sahip olduğu ve oksidatif stres karşı koruyucu

özellik gösterdiği bildirilmiştir (Teotia ve Singh 1997; Demir ve Yılmaz 2014).

Bu çalışmada acı badem çekirdeklerinden elde edilen yağın deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara uygulanması sonucunda karaciğer dokusunda oksidatif stres, lipid peroksidasyon, kolesterol, yağ asidi bileşimi, A, D, E ve K vitaminleri ve sterol düzeyinde oluşan değişiklikler üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Deney hayvanları

Deneysel uygulamalar, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alınarak gerçekleştirildi (Etik karar no: 2011/81). Bu çalışmada 30 adet 8-10 haftalık Wistar albino ırkı erkek sıçanlar kullanıldı.

Deneysel diyabetin oluşturulması

Sıçanlar kontrol (K), streptozotosin (STZ) ve streptozotosin+acı badem yağı (STZ+ABY) olmak üzere rastgele üç gruba ayrıldı. Deneysel diyabet oluşturmak için STZ ve STZ+ABY grubunu oluşturan sıçanlara 45 mg/kg dozunda streptozotosin (STZ) fosfat-sitrat tamponunda (0.1 M, pH 4.5) çözülerek intraperitoneal enjeksiyonla verildi (Biswas ve ark. 2012). STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra, gece açlığını takiben sıçanların kuyruk veninden kan örneği alınarak glukometre (Smart Chek) cihazında glukoz ölçümleri yapıldı. Bu ölçüm sonucunda, açlık kan glukoz düzeyi 140-200 mg/dl olan sıçanlar diyabet olarak kabul edildi (Dewanjee ve ark. 2009). Bu çalışma 8 hafta sürdü ve çalışma sonunda tüm sıçanlar servikal dekapitasyon yolu ile dekapite edilerek karaciğer dokuları hızlı bir şekilde alındı ve soğuk serum fizyolojikte yıkandıktan sonra analiz yapılmaya kadar -86°C de saklandı.

Bitki ekstraktının hazırlanması ve uygulanması: Acı badem çekirdekleri etüvde kurutulduktan sonra havanda dövülerek toz haline getirildi ve hekzan/izopropil alkol (3/2 v/v) karışımı ile blenderde parçalandı ve sonra bu homojenat santrifüj edildi (9050xg'de +4 °C). Santrifüj sonunda elde edilen supernatant rotavapor kullanılarak çözücülerden arındırıldı ve DMSO'da (dimetil sülfosoksit) çözülerek kullanıma hazır hale getirildi. Elde edilen yağ ekstraktı, STZ+ABY grubuna haftada iki gün 1ml/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla verildi ve ayrıca deney boyunca toz haline getirilmiş acı badem çekirdekleri (2gr/500ml) içme suyuna eklenerek, sıçanlara bu su verildi. Bu süre zarfında Kontrol ve STZ gruplarına haftada iki gün 1ml/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonla DMSO uygulandı (Demir ve Yılmaz 2014).

Doku homojenatının hazırlanması: Grupların karaciğer doku örnekleri (1g), Tris-HCl, Trisbase ve EDTA (pH:7,4) tamponu ile homojenize edildikten sonra +4°C'de 9050x g'de 20 dakika (dk) santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Elde edilen supernatant kısımdan malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), total protein analizleri yapıldı. Pellet kısmından ise yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol analizi yapıldı (Demir ve Yılmaz 2014).

Deneysel Prosedürler

MDA tayini: Lipid peroksidasyonunun bir ölçüsü olan MDA düzeyi Okhawa ve arkadaşlarının tanımladığı metotta bazı değişiklikler yapılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü (Demir ve Yılmaz 2014). Alınan karaciğer doku örneklerinin (1.0 ml) üzerlerine 0.5 ml %8.1'lik sodyum

dodesil sülfat (SDS), 0.5 ml %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA), 1.0 ml %10'luk trikloroasetik asit (TCA), 1.0 ml %20'lik glasiyel asetik asit/sodyum hidroksit (NaOH) pH 3,5) ve 50 µl %2'lik butile hidroksitolüen (BHT) eklendi ve bu karışım votrekslendi ve sonra 60 dk kaynar su banyosunda (95°C) bekletildi. Tüpler soğuduktan sonra 4.0 ml butanol/piridin karışımı (1:15 oranında) ilave edildi ve sonra tüpler 1780×g+4°C' de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üsteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda tüm örneklerin absorbansları okundu. Standart olarak 1.1',3.3'-tetraetoksipropen çözeltisi kullanıldı. Sonuçlar nmol/g doku olarak hesaplandı.

GSH tayini: GSH düzeyi Ellman tarafından tanımlanan metoda göre ölçüldü (Demir ve Yılmaz 2014). 0.5 ml karaciğer doku örneklerinin üzerine 1.0 ml %10'luk TCA reaktifi ilave edildi ve sonra 10 dk 2790×g'de santrifüj edilerek pellet çöktürüldü. Supernatant kısım başka bir tüpe alındı. Supernatant kısım üzerine 1.0 ml 5,5' ditiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) çözeltisi (%1'lik sodyum sitrat içinde 30 mg DTNB çözülerek hazırlandı) ve 0.3 M sodyum fosfat dibazik (Na₂HPO₄) çözeltisinden 2.0 ml ilave edildi ve sarı renk oluştuğunda örneklerin absorbansları 412 nm dalga boyunda okundu. Saf GSH kalibrasyon eğrisi oluşturmak için standart olarak kullanıldı (Akerboom ve Sies 1981).

Protein Tayini: Total protein miktarı Lowry ve arkadaşları tarafından tanımlanan metoda göre spektrofotometrik olarak ölçüldü (Demir ve Yılmaz 2014). Alınan 10 µl karaciğer doku örneklerine lowry çözeltisi eklendi ve 10 dk beklendi, süre sonunda su ile seyreltilmiş folin reaktifi ilave edildi. Otuz dakika sonra 760 nm dalga boyunda örneklerin absorbansı okundu. Bovin serum albümin kalibrasyon eğrisi oluşturmak için standart olarak kullanıldı.

Dokuda yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol tayini: Karaciğer doku örneklerinde yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol ekstraksiyonu Hara ve Radin tarafından tanımlanan metoda göre yapıldı (Demir ve Yılmaz 2014). Bunun için, karaciğer doku örnekleri 3:2 (v/v) oranında hekzan-isopropanol karışımı ile homojenize edildi. Daha sonra bu homojenat +4°C'de 9050×g'de 10 dk santrifüj edilerek elde edilen supernatant kısımdan yağ asidi, A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol analizi yapıldı.

Yağ asidi bileşimini belirlemek için ayrılan örneklerin üzerine %2'lik metanolik sülfirik asit ilave edildi ve örneklerin iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 55 °C'de 15 saat metilleşmeye bırakıldı (Demir ve Yılmaz 2014). Süre sonunda, tüpler etüvden çıkarıldı, oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve %5'lik sodyum klorür (NaCl) ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri hekzan ile ekstre edildi ve hekzan fazı üstten pipetle alınarak %2'lik potasyum bikarbonat (KHCO₃) ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 saat beklendi. Daha sonra metil esterlerini içeren karışımlar, 45 °C'de ve azot gaz akımı altında çözücüleri uçuruldu, 1 ml n-heptan ile çözüldü ve yağ asidi metil esterleri gaz kromatografisinde 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.

A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol için alınan örneklerin üzerine %5'lik metanolik potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi ilave edildi ve karıştırıldıktan sonra 85 °C'de 15 dk bekletildi. Tüpler çıkartılarak oda sıcaklığına

kadar soğutuldu ve üzerine saf su ilave edildi ve karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2x5 ml hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı azot akımı ile uçuruldu. Bir ml (%60+%40,v/v) asetonitril/metanol karışımında çözülerek otosampler viallerine alındı ve HPLC-UV'de analiz edildi. Mobil faz olarak asetonitril/metanol (%60+%40, v/v) karışımı kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 1 ml/dk olarak belirlendi. Analiz için UV dedektör ve kolon olarak da Süpelcosil LC™ 18 (15×4.6 mm, 5 µm; Sigma, USA) kullanıldı (Sánchez-Machado ve ark. 2002; López-Cervantes ve ark. 2006).

İstatistik Analizi

İstatistiksel analiz için, SPSS 15.0 paket programı kullanıldı. Grupları arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi (DMRT) kullanılarak yapıldı (Duncan 1957). Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi için P değeri p<0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Diyabet oluşturulmuş sıçanlarda acı badem yağının karaciğer dokusunda MDA, GSH ve total protein düzeyine etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre, STZ grubunda MDA ve total protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde (p<0.001) arttığı, GSH düzeyinin anlamlı bir şekilde (p<0.001) azaldığı saptandı. STZ grubu ile karşılaştırıldığında, uygulanan acı badem yağı sonucunda STZ+ABY grubunda MDA, GSH ve total protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde (p<0.001) azaldığı tespit edildi.

Tablo 1. Diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda acı badem yağının MDA, GSH ve total protein düzeylerine etkisi

Table 1. Effect of bitter almond oil on the MDA, GSH and total protein levels in the liver tissue of diabetic rats

	Kontrol	STZ	STZ+ABY
MDA (nmol/g)	19.30±0.50 ^c	28.52±0.24 ^a	27.23±0.25 ^b
GSH (µmol/g)	15.38±0.43 ^a	6.02±0.16 ^b	0.88±0.02 ^c
Total Protein (µg/g)	156.31±0.81 ^b	162.64±1.25 ^a	140.03±0.85 ^c

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

Diyabet oluşturulmuş sıçanların karaciğer dokusunda acı badem yağının yağ asidi bileşimine etkisi Tablo 2 'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, STZ grubunda 16:0, 16:1 (p<0.001) ve 20:4 (p<0.01) düzeylerinin önemli düzeyde azaldığı, buna karşılık 18:0 ve 18:2 düzeylerinin önemli düzeyde (p<0.001) arttığı, 18:1, 18:3 ve 22:6 düzeylerindeki görülen değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. STZ grubu ile mukayese edildiğinde, STZ+ABY grubunun karaciğer dokusunda 16:1, 18:2, 18:3 (p<0.001) ve 20:4 (p<0.05) düzeylerinin belirgin bir şekilde azaldığı, buna karşılık 18:0, 18:1 ve 22:6 düzeylerinin ise belirgin bir şekilde arttığı (p<0.001) belirlendi. Ayrıca 16:0 düzeyinde görülen değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.

Tablo 2. Diyabetik sıçanların karaciğer dokusundaki yağ asidi profiline acı badem yağının etkisi (%)**Table 2.** Effect of bitter almond oil on the fatty acid profiles in the liver tissue of diabetic rats (%)

	Kontrol	STZ	STZ+ABY
Palmitik asit (16:0)	20.88±0.38 ^a	19.36±0.29 ^b	18.80±0.14 ^b
Stearik asit (18:0)	18.30±0.11 ^c	19.15±0.09 ^b	20.65±0.12 ^a
ΣSFA	39.18±0.43	38.50±0.25	39.45±0.20
Palmitoleik asit (16:1)	2.16±0.02 ^a	1.55±0.01 ^b	1.08±0.02 ^c
Oleik asit (18:1)	6.06±0.33 ^b	6.32±0.15 ^b	7.00±0.12 ^a
ΣMUFA	8.22±0.34	7.87±0.15	8.08±0.11
Linoleik asit (18:2)	16.22±0.15 ^b	17.18±0.10 ^a	16.51±0.09 ^b
α-Linolenik asit (18:3)	0.24±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.20±0.01 ^b
Araşidonik asit (20:4)	27.62±0.17 ^a	26.98±0.14 ^b	26.51±0.15 ^c
Dokosaheksaenoik asit (22:6)	4.07±0.07 ^b	4.20±0.02 ^b	4.95±0.10 ^a
ΣPUFA	48.02±0.21	48.58±0.16	48.17±0.22
ΣUSFA	56.24±0.39	56.45±0.20	56.25±0.28

SFA: Doymuş Yağ Asitleri, MUFA: Tekli Doymamış Yağ Asitleri, PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri, USFA: Doymamış Yağ Asitleri

Tablo 3. Diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda A, D, E ve K vitaminleri, kolesterol ve sterol seviyelerine acı badem yağının etkisi (µg/g)**Table 3.** Effect of bitter almond oil on the A, D, E and K vitamins, cholesterol and sterol levels in the liver tissue of diabetic rats (µg/g)

	K	STZ	STZ+ABY
Vitamin K ₂	1.98±0.02 ^c	6.36±0.13 ^b	8.01±0.24 ^a
δ-Tokoferol	0.94±0.02 ^a	0.38±0.01 ^c	0.82±0.01 ^b
Vitamin D ₂	0.96±0.02 ^a	0.68±0.02 ^c	0.76±0.02 ^b
Vitamin D ₃	0.38±0.02 ^b	0.44±0.01 ^a	0.27±0.02 ^c
α-Tokoferol	9.67±0.11 ^c	22.75±0.19 ^b	32.13±0.24 ^a
Retinol µmol/g	1.86±0.02 ^b	2.34±0.02 ^a	2.35±0.03 ^a
Vitamin K ₁	3.99±0.06 ^c	8.66±0.13 ^b	9.27±0.18 ^a
Kolesterol µmol/g	1.82±0.01 ^b	3.28±0.03 ^a	3.27±0.06 ^a
Stigmasterol	90.29±0.56 ^b	207.00±1.01 ^a	210.15±2.54 ^a
β-sitosterol	10.73±0.18 ^c	21.32±0.23 ^b	26.27±0.32 ^a

TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabetli hasta sayısında görülen artış, araştırmacıları yeni tedavi yöntemleri aramaya itmiştir. Medikal tedavide kullanılan çeşitli antidiyabetik ilaçların yanında, medikal bitkilerden elde edilen çeşitli ürünlerin bu hastalığın tedavisinde başarı ile kullanılacağı ifade edilmiştir. Bu bitkilerin antihiperglisemik etkileri; aktivitesi bozulan pankreas dokusunun işlevini tekrar geri kazandırarak insülin salınımında artışa neden olmaları ya da bağırsakta glukoz emilimi ile insüline bağımlı metabolik yollarda metabolitlerin alınımını engelleme özelliklerine bağlı olarak ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Bundan dolayı, tıbbi bitkilerden elde edilen bileşiklerin pankreasta bulunan beta hücrelerini koruduğu ve kan glukoz düzeyinde oluşan dalgalanmaları azaltıcı etkilere sahip olduğu öne sürülmüştür (Fatima ve ark. 2010). Oksidatif stresin azaltılması ve oksidatif stres ile ilişkili hastalıklara ait komplikasyonların gelişimini yavaşlatma ya da engellemede antioksidan maddelerin kullanımını destekleyen çok sayıda yayın bulunmaktadır. Bitkilerde bulunan çeşitli aktif bileşiklerin hem serbest radikal

temizleyici hem de antioksidan olarak aktivite gösterdikleri ortaya çıkmıştır (Sunil ve ark. 2012).

Acı badem çekirdeklerinin diyabet, yara tedavisi, böbrek, kardiyovasküler, üriner sistem ve cilt hastalıklarında kullanıldığı ifade edilmiştir (Tuzlacı 2005; Gürdal ve Kültür 2013; Demir ve Yılmaz 2014). Kontrol grubuna göre, deneysel diyabet oluşturulan sıçanlara uygulanan acı badem yağının karaciğer dokusunda MDA, GSH ve total protein düzeylerini azalttığı tespit edildi (Tablo 1). Badem, fenolik bileşikler, tokoferol ve doymamış yağ asitleri bakımından önemli besin maddesidir (Jia ve ark. 2011; Keser ve ark. 2014b) ve bu bileşiklerin sahip olduğu antioksidan potansiyelinden dolayı karaciğer dokusunda MDA düzeyini azalttığı söylenebilir. Hücrel oksidatif stres biyobelirteçlerinin sadece karsinogenezde değil, aynı zamanda dejeneratif hastalıklarla ilişkili ateroskleroz, diyabet ve yaşlanmada önemli bir faktör olduğu ifade edilmiştir (López-Uriarte ve ark. 2010). Tersiyer-bütül hidroperoksit uygulanarak hepatositlerde oluşturulan oksidatif stres neticesinde, stres belirteçlerinde oluşan artışları ceviz ve fındık ekstraktının azalttığı bildirilmiştir (Banach ve ark. 2009). Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların beyin, serum ve eritrosit gibi biyolojik

numunelerinde MDA düzeyinin arttığı, GSH düzeyinin azaldığı, uygulanan acı badem yağının MDA düzeyini azalttığı, GSH düzeyinde artış sağladığı tespit edilmiştir (Demir ve Yılmaz 2014; Demir ve ark. 2013). Karbon tetraklorürün (CCl₄) karaciğerde neden olduğu hasar sonucunda antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azaldığı, MDA düzeyinin arttığı doza bağlı olarak uygulanan badem yağının bozulan enzim aktivitelerini düzelttiği, MDA düzeyini azalttığı belirlenmiştir (Jia ve ark. 2011). Bademin oksidatif stres üzerinde yararlı etkileri olduğu çalışmalarda ortaya çıkmıştır (Mandalari ve ark. 2011a; Mandalari ve ark. 2011b; Liu ve ark. 2013).

Diyabette yağ asidi kompozisyonunun değiştiği bildirilmiştir (Demir ve Yılmaz 2014; Demir ve ark. 2013; Naresh Kumar ve ark. 2013). Bu çalışmada da diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda yağ asidi bileşiminde önemli değişikliklerin olduğu tespit edildi (Tablo 2). Palmitik ve stearik asit (SFA) organizmada en çok bulunan doymuş yağ asitleridir. Kontrol grubuna göre, STZ grubunda SFA düzeyinin azaldığı, uygulanan acı badem yağının SFA düzeyini artırarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı saptandı (Tablo 2). Ramkumar ve ark. (2008), alloksan monohidrat vererek diyabet oluşturdukları sıçanların karaciğer dokusunda SFA düzeyinin arttığını, uyguladıkları tedavi edici bitkisel ekstraktın SFA düzeyini azalttığını bildirmişler. Douillet ve ark. (1993), STZ verilmiş sıçanların karaciğer dokusunda palmitik asit düzeyinin azaldığını, stearik asit düzeyinin arttığını rapor etmişler. Bu çalışmada da her iki yağ asidi düzeyinde elde edilen bulguların önceki çalışma bulguları ile paralellik gösterdiği görülmektedir.

Palmitoleik ve oleik asit tekli doymamış yağ asitlerindendir (MUFA), sterol CoA desaturaz (SCD), palmitik (16:0) ve stearik asiti (18:0) substrat olarak kullanır. Bu yağ asitlerden palmitoleik (16:1) ve oleik asit (18:1) gibi yağ asitleri sentezlenir. Palmitoleik ve oleik asit hücredeki fosfolipit ve depo lipitlerinde bulunan yağ asitlerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu durum membran akışkanlık için oldukça önemlidir. Doymuş ve tek çift bağ taşıyan doymamış yağ asitleri arasındaki oran doğrudan membran akışkanlığı ile membranın fiziksel özelliğini etkilemekte ve bu yağ asitleri arasındaki oranda oluşan değişikliklerin diyabet, obezite, hipertansiyon, kanser, nörolojik ve kalp hastalıklarının ortaya çıkışında etkisinin olduğu öne sürülmüştür. SCD aktivitesi üzerinde hormonal, diyetel ve çevresel faktörlerin etkili olduğu ifade edilmiştir (Douillet ve ark. 1993; Kim ve Ntambi 1999; Ntambi ve Miyazaki 2004). Bu çalışmada kontrol grubuna göre, STZ grubunda palmitoleik asit düzeyinin azaldığı, oleik asit düzeyinin arttığı ve ayrıca MUFA düzeyinin azaldığı, uygulanan acı badem yağı sonucunda MUFA düzeyinin artarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı saptandı (Tablo 2). Ramkumar ve ark. (2008), diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda MUFA düzeyinin arttığını, uyguladıkları bitkisel ekstraktın MUFA düzeyini azalttığını belirlemişler, yine bu çalışmada oleik asit düzeyinin arttığı ortaya çıkmıştır. Douillet ve ark. (1993), oleik asit düzeyinin azaldığını belirlemişler. Yapılan benzer çalışmalarda oleik asit düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Krachler ve ark. 2008). Shin ve ark. (1995), diyabetik sıçanların karaciğer mikrozomlarında palmitoleik ve oleik asit düzeylerinin azaldığını tespit etmişler.

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif hasara karşı en açık moleküllerdir. Linoleik (n-6) ve α -linolenik asit (n-3) diğer çoklu doymamış yağ asitlerinin üretilmesi için bir dizi desaturasyon ve uzama reaksiyonları ile metabolize edilerek araşidonik ve dokosaheksaenoik gibi yağ asitlerine

dönüşmektedirler (Cameron ve Cotter 1999). Bu çalışmada kontrol grubuna göre, STZ grubunda linoleik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığı, α -linolenik ve araşidonik asit düzeylerinin azaldığı, PUFA düzeyinin arttığı fakat bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı, uygulanan acı badem yağı neticesinde PUFA düzeyinin azaldığı ve ayrıca linoleik, α -linolenik ve araşidonik asit düzeylerinin azaldığı, dokosaheksaenoik asit düzeyinin arttığı belirlendi (Tablo 2). Ramkumar ve ark. (2008), diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda PUFA düzeyinin azaldığını diğer bir deyişle linoleik, α -linolenik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin azaldığını, uyguladıkları *Gymnema montanum* ekstraktının PUFA düzeyini arttırdığını diğer bir ifade ile α -linolenik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerini arttırdığını linoleik asit düzeyini azalttığını saptamışlar. Douillet ve ark. (1993), diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda linoleik ve α -linolenik asit düzeylerinin azaldığını, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığını bildirmişler. Naresh Kumar ve ark. (2013), diyabetik sıçanlarda α -linolenik asit düzeyinin azaldığını, araşidonik asit düzeyinin arttığını tespit etmişler. Shin ve ark. (1995), diyabetik sıçanların karaciğer mikrozomlarında linoleik, α -linolenik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin arttığını, araşidonik asit düzeyinin azaldığını ifade etmişler. Levant ve ark. (2013), kontrol grubuna göre, STZ grubunda linoleik, araşidonik ve dokosaheksaenoik asit düzeylerinin azaldığını bildirmişler.

Diyabette doku yağ asidi bileşiminde ortaya çıkan değişikliklerden delta 5 desaturaz, delta 6 desaturaz ve delta 9 desaturaz aktivitelerinde ortaya çıkan değişikliklerin sorumlu olduğu ifade edilmiştir (Shin ve ark. 1995; Nishida ve ark. 1998; Brenner 2003; Krachler ve ark. 2008). Bu çalışmada da karaciğer dokusunda yağ asidi bileşiminde ortaya çıkan değişiklikler, olasılıkla bu enzimlerin aktivitelerinin diyabet koşullarından etkilenmesi neticesinde ortaya çıkmış olabilir. Bademin kan glukoz metabolizması üzerindeki olumlu etkilerine bağlı olarak bazı yağ asidi parametrelerinde oluşan anormallikleri önlediği söylenebilir. Çünkü badem gibi bitkisel ürünlerin glukoz metabolizması üzerinde faydalı etkileri olduğu ve diyabette oluşan metabolik anormalliklerin azaltılmasında yararlı aktiviteler gösterdikleri çeşitli çalışmalara konu olmuştur (Ramkumar ve ark. 2008; Li ve ark. 2011; Liu ve ark. 2013; Anwar ve ark. 2013; Demir ve Yılmaz 2014).

α -tokoferol, E vitamininin doğada en çok bulunan formudur. E vitamini yağda çözünebilir ve antioksidan özelliği olan bir vitamindir. E vitamini, kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile diyabet gibi patolojik durumların dokularda oluşturduğu lipid peroksidasyona karşı hücre membranını koruyucu etkileri bulunmaktadır. Tip-2 diyabetik Goto-Kakizaki sıçanlarının kullanıldığı bir çalışmada bu sıçanların plazma ve karaciğer dokularında α -tokoferol düzeyinin arttığı, ortaya çıkan bu durumun α -tokoferol transfer protein düzeyinin artmasından dolayı ortaya çıktığı ifade edilmiştir (Miyazaki ve ark. 2013). Bu çalışmada da kontrol grubuna göre, STZ ve STZ+ABY grubunda α -tokoferol düzeyinin arttığı saptandı (Tablo 3). Diyabet koşullarından ya da bademde bol miktarda bulunan α -tokoferolden dolayı karaciğer dokusunda α -tokoferol düzeyinin arttığı söylenebilir. Diyabetik sıçanlara (*od/od*) uygulanan α -tokoferolün, bu sıçanların serum ve karaciğer gibi biyolojik numunelerinde α -tokoferol düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir (Nakano ve ark. 2008).

Memelilerde SREBPs-1 ve SREBPs-2 adı verilen iki ayrı SREBP transkripsiyon faktörü bulunmaktadır. SREBPs-2 (Sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler) kolesterol metabolizmasından sorumlu genlerin aktivitesini kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür. Aktivitesi insüline bağlıdır. Dolaşımda insülin düzeyi azaldığında aktivitesi baskılanan bu transkripsiyon faktörü, HMG CoA sentaz, HMG CoA redüktaz, farnesil difosfat sentaz ve squalen sentaz enzimlerinin gen ekspresyonları ile LDL reseptör sayısının düzenlenmesinde aktivite gösterdiği öne sürülmüştür (Xiao ve Song 2013). STZ'nin neden olduğu diyabette insülin sekresyonunun azaldığı bu durumda büyük olasılıkla yukarıda bahsedilen enzimlerin aktivitesinin değişmesine neden olduğu, sonuçta bu değişiklikler karaciğer dokusunda kolesterol biyosentezinin artmasına yol açmış olabilir (Tablo 3).

Diyabetik sıçanların dokularında kolesterol ve sterol birikiminin olduğu ifade edilmiştir (Scoggan ve ark. 2009; Jansen ve ark. 2006). Bu çalışmada da karaciğer dokusunda sterol düzeyinin arttığı görülmektedir (Tablo 3). Diyabetik sıçanların, karaciğer ve bağırsak dokusunda kolesterol ve bitkisel sterol düzeyinde oluşan artışın *abcg5* (ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı G5) ve *abcg8* (ATP-bağlanma kaset taşıyıcısı G8) taşıyıcı protein ekspresyonlarında oluşan belirgin azalma ile sterol düzenlemesinde rol oynayan birçok genin mRNA düzeylerinin azalması ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmada karaciğer dokusunda oluşan sterol artışından yukarıda ifade edilen metabolik yolların sorumlu olduğu ifade edilebilir. Sterolce zengin beslenme neticesinde sterol düzeyinin arttığı rapor edilmiştir (Scoggan ve ark. 2009). Scoggan ve ark. (2009), diyetle alınan bitkisel sterollerin diyabetik sıçanlarda kolesterol düzeyinde azalmaya sebep olduğunu ifade etmişler fakat bu çalışmada bu durum gözlemlenmedi. Yapılan çalışmalarda özellikle zayıf kontrol edilen diyabet durumunda, dokularda ve dolaşımda retinol taşıyıcı protein aktivitesinin etkilendiği gösterilmiştir. STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların plazmalarında retinol düzeyinde oluşan azalışa bağlı olarak karaciğer dokusunda retinol düzeyinin kontrol grubu sıçanlarına göre arttığı saptanmıştır (Tuitoek ve ark. 1996). Bu çalışmada da STZ gruplarında retinol düzeyinin arttığı belirlenmiştir (Tablo 3). Bu durum olasılıkla diyabet koşullarından kaynaklanmış olabilir.

Elde edilen bulgulara göre, acı badem yağının, karaciğer dokusunda MDA düzeyi üzerinde olumlu etki gösterdiği, fakat daha moleküler düzeye inildiğinde acı badem yağının metabolik yollarda görev yapan enzim aktiviteleri üzerinde sınırlı etkiye sahip olmasından dolayı, yağ asidi ve ADEK vitaminleri üzerinde oluşan anormallikler üzerinde etkisinin sınırlı kaldığı söylenebilir. Bu çalışmada ortaya çıkan verilerin daha kapsamlı metotlar içeren çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Fırat Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FÜBAP- FF. 11.39 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akerboom TP, Sies H. (1981). Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol*, 77, 373-82.
- Anwar, M, Shousha WG, El-mezayen HA, et al. (2013). Antiatherogenic effect of almond oil in streptozotocin induced diabetic rats. *J App Pharm Sci*, 3 (10), 59-65.

- Ashokkumar N, Pari L. (2005). Effect of N-benzoyl-D-phenylalanine and metformin on carbohydrate metabolic enzymes in neonatal streptozotocin diabetic rats. *Clin Chim Acta*, 351 (1-2), 105-13.
- Banach MS, Dong Q, O'Brien PJ. (2009). Hepatocyte cytotoxicity induced by hydroperoxide (oxidative stress model) or glyoxal (carbonylation model): prevention by bioactive nut extracts or catechins. *Chem Biol Interact*, 178 (1-3), 324-31.
- Biswas A, Chatterjee S, Chowdhury R, et al. (2012). Antidiabetic effect of seeds of *Strychnos potatorum* Linn. in a streptozotocin-induced model of diabetes. *Acta Pol Pharm*, 69 (5), 939-943.
- Brenner RR. (2003). Hormonal modulation of D6 and D5 desaturases: case of diabetes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 68 (2), 151-62.
- Cameron NE, Cotter MA. (1999). Effects of antioxidants on nerve and vascular dysfunction in experimental diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 45 (2-3), 137-46.
- Cohen AE, Johnston CS. (2011). Almond ingestion at mealtime reduces postprandial glycemia and chronic ingestion reduces hemoglobin A(1c) in individuals with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 60 (9), 1312-7.
- Demir E, Keser S, Yılmaz Ö. (2013). Protective effects of bitter almond kernel oil on some biochemical parameters in brain tissue of diabetic rats. *Journal of Interpersonal Ethnopharmacology*, 2 (3), 127-134.
- Demir E, Yılmaz Ö. (2014). Streptozotocin ile Tip-1 diyabet oluşturulan sıçanlarda acı badem yağının serum ve eritrositlerdeki bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18, 13-21.
- Dewanjee S, Das AK, Sahu R, Gangopadhyay M. (2009). Antidiabetic activity of *Diospyros peregrina* fruit: effect on hyperglycemia, hyperlipidemia and augmented oxidative stress in experimental type 2 diabetes. *Food Chem Toxicol*, 47 (10), 2679-85.
- Douillet C, Chancerelle Y, Cruz C, et al. (1993). High dosage vitamin E effect on oxidative status and serum lipids distribution in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Med Metab Biol*, 50 (3), 265-76.
- Duncan BD. (1957). Multiple range test for correlated and heteroscedastic means. *Biometrics*, 13, 359-364.
- Fatima SS, Rajasekhar MD, Kumar KV, Kumar MT, Babu KR, Rao CA. (2010). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of ethyl acetate: isopropanol (1:1) fraction of *Vernonia anthelmintica* seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol*, 48 (2), 495-501.
- Gürdal B, Kültür S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). *J Ethnopharmacol*, 146 (1), 113-26.
- Jansen PJ, Lütjohann D, Abildayeve K, et al. (2006). Dietary plant sterols accumulate in the brain. *Biochim Biophys Acta*, 1761 (4), 445-53.
- Jia X, Li N, Zhang W, et al. (2006). A pilot study on the effects of almond consumption on DNA damage and oxidative stress in smokers. *Nutr Cancer*, 54 (2), 179-83.
- Jia XY, Zhang QA, Zhang ZQ, et al. (2011). Hepatoprotective effects of almond oil against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food Chemistry*, 125, 673-678.
- Keser S, Demir E, Yılmaz Ö. (2014a). Phytochemicals and antioxidant activity of the almond kernel (*Prunus dulcis* mill.) from Turkey. *J Chem Soc Pak*, 36 (3), 534-541.
- Keser S, Demir E, Yılmaz Ö. (2014b). Some bioactive compounds and antioxidant activities of the bitter almond kernel (*Prunus dulcis* var. *amara*). *J Chem Soc Pak*, 36 (5), 922-930.
- Kim YC, Ntambi JM. (1999). Regulation of stearoyl-CoA desaturase genes: role in cellular metabolism and preadipocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*, 266 (1), 1-4.
- Krachler B, Norberg M, Eriksson JW, et al. (2008). Fatty acid profile of the erythrocyte membrane preceding development of Type 2 diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 18 (7), 503-10.
- Kumar S, Narwal S, Kumar D, Singh G, Narwal S, Arya R. (2012). Evaluation of antihyperglycemic and antioxidant activities of *Saraca asoca* (Roxb.) De Wild leaves in streptozotocin induced diabetic mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2 (3), 170-176.
- Levant B, Ozias MK, Guilford BL, Wright DE. (2013). Streptozotocin-induced diabetes partially attenuates the effects of a high-fat diet on liver and brain fatty acid composition in mice. *Lipids*, 48 (9), 939-48.
- Li SC, Liu YH, Liu JF, Chang WH, Chen CM, Chen CY. (2011). Almond consumption improved glycemic control and lipid profiles in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 60 (4), 474-9.
- Liu JF, Liu YH, Chen CM, Chang WH, Chen CY. (2013). The effect of almonds on inflammation and oxidative stress in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized crossover controlled feeding trial. *Eur J Nutr*, 52 (3), 927-35.
- López-Cervantes J, Sánchez-Machado DI, Ríos-Vázquez NJ. (2006). High-performance liquid chromatography method for the

- simultaneous quantification of retinol, alpha-tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. *J Chromatogr A*, 1105 (1-2), 135-9.
- López-Uriarte P, Nogués R, Saez G, et al. (2010).** Effect of nut consumption on oxidative stress and the endothelial function in metabolic syndrome. *Clin Nutr*, 29 (3), 373-80.
- Mandalari G, Bisignano C, Genovese T, et al. (2011a).** Natural almond skin reduced oxidative stress and inflammation in an experimental model of inflammatory bowel disease. *Int Immunopharmacol*, 11 (8), 915-24.
- Mandalari G, Genovese T, Bisignano C, et al. (2011b).** Neuroprotective effects of almond skins in experimental spinal cord injury. *Clin Nutr*, 30 (2), 221-33.
- 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), 64-8.
- Nakano M, Onodera A, Saito E, et al. (2008).** Effect of astaxanthin in combination with alpha-tocopherol or ascorbic acid against oxidative damage in diabetic ODS rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 54 (4), 329-34.
- Naresh Kumar R, Sundaram R, Shanthi P, Sachdanandam P. (2013).** Protective role of 20-OH ecdysone on lipid profile and tissue fatty acid changes in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol*, 698 (1-3), 489-98.
- Nishida S, Kanno T, Nakagawa S. (1998).** Diabetes-induced and age-related changes in fatty acid proportions of plasma lipids in rats. *Lipids*, 33 (3), 251-9.
- Ntambi JM, Miyazaki M. (2004).** Regulation of stearyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog Lipid Res*, 43 (2), 91-104.
- Oh WK, Lee CH, Lee MS et al. (2005).** Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava*. *J Ethnopharmacol*, 96 (3), 411-5.
- Ramkumar KM, Vijayakumar RS, Ponmanickam P, Velayuthaprabhu S, Archunan G, Rajaguru P. (2008).** Antihyperlipidaemic effect of *Gymnema montanum*: a study on lipid profile and fatty acid composition in experimental diabetes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 103 (6), 538-45.
- Ros E. (2010).** Health benefits of nut consumption. *Nutrients*, 2 (7), 652-82.
- Sánchez-Machado DI, López-Hernández J, Paseiro-Losada P. (2002).** High-performance liquid chromatographic determination of alpha-tocopherol in macroalgae. *J Chromatogr A*, 976 (1-2), 277-84.
- Scoggan KA, Gruber H, Chen Q, et al. (2009).** Increased incorporation of dietary plant sterols and cholesterol correlates with decreased expression of hepatic and intestinal *Abcg5* and *Abcg8* in diabetic BB rats. *J Nutr Biochem*, 20 (3), 177-86.
- Shin CS, Lee MK, Park KS, et al. (1995).** Insulin restores fatty acid composition earlier in liver microsomes than erythrocyte membranes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*, 29 (2), 93-8.
- Sunil C, Ignacimuthu S, Kumarappan C. (2012).** Hypolipidemic activity of *Symplocos cochinchinensis* S. Moore leaves in hyperlipidemic rats. *J Nat Med*, 66 (1), 32-8.
- Teotia S, Singh M. (1997).** Hypoglycemic effect of *Prunus amygdalus* seeds in albino rabbits. *Indian J Exp Biol*, 35 (3), 295-6.
- Tuitok PJ, Ritter SJ, Smith JE, Basu TK. (1996).** Streptozotocin-induced diabetes lowers retinol-binding protein and transthyretin concentrations in rats. *Br J Nutr*, 76 (6), 891-7.
- Tuzlacı E. (2005).** Bodrum'da Bitkiler ve Yaşam. Güzel Sanatlar Matbaası, İstanbul.
- Vasi S, Austin A. (2009).** Effect of herbal hypoglycemics on oxidative stress and antioxidant status in diabetic rats. *The Open Diabetes Journal*, 2, 48-52.
- World Health Organization/International Diabetes Federation. 1999.** The Economics of Diabetes and Diabetes Care. A Report of the Diabetes Health Economics Study Group. WHO: Geneva.
- Xiao X, Song BL. (2013).** SREBP: a novel therapeutic target. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 45 (1), 2-10.