



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

***SAMBUCUS NİGRA*’ NIN DİYABETLİ RAT DALAĞINDA
MAST HÜCRE VE VASKÜLER ENDOTELİAL BÜYÜME
FAKTÖRÜ (VEGF) ÜZERİNE ETKİLERİNİN
HİSTOKİMYASAL VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Elif Tuğba ERGEL

Danışman
Doç. Dr. Tuğrul ERTUĞRUL

SAMSUN
2022

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



***SAMBUCUS NİGRA*' NIN DİYABETLİ RAT DALAĞINDA
MAST HÜCRE VE VASKÜLER ENDOTELİAL BÜYÜME
FAKTÖRÜ (VEGF) ÜZERİNE ETKİLERİNİN
HİSTOKİMYASAL VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Elif Tuğba Ergel

Danışman

Doç. Dr. Tuğrul ERTUĞRUL

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Elif Tuğba Ergel tarafından, Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul danışmanlığında hazırlanan “*Sambucus Nigra’ nın Diyabetli Rat Dalağında Mast Hücre ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) Üzerine Etkilerinin Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi*” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 21.3.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Şerife Tütüncü		☒
	Ondokuz Mayıs Üniversitesi		Kabul
	Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı		☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul		☒
	Ondokuz Mayıs Üniversitesi		Kabul
	Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı		☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Üyesi Ahmet Ceylan		☒
	Ankara Üniversitesi		Kabul
	Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı		☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü



BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒

Hayır ☐

İmza

... / ... / 2022

Elif Tuğba Ergel

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: *Sambucus nigra*'nın diyabetli rat dalağında mast hücre ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üzerine etkilerinin histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak incelenmesi.

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından ...01.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 14

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

İmza

... / ... / 2022

Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul

ÖZET

SAMBUCUS NİGRA' NİN DİYABETLİ RAT DALAĞINDA MAST HÜCRE VE VASKÜLER ENDOTELİAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF) ÜZERİNE ETKİLERİNİN HİSTOKİMYASAL VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ

Elif Tuğba Ergel

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek lisans, Ocak/2022

Danışman: Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul

Sambucus nigra bitkisi yapısında bulunan bileşikler sayesinde kemopreventif, nöroprotektif, anti-inflamatuar, antiviral ve antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Ayrıca *S. nigra*'nın diyabet, obezite ve metabolik işlev bozukluklarında etkili olduğu bilinmektedir. Diyabet, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı bir metabolizma bozukluğudur. Mast hücrelerinin (MH), patojen temizleme ve otoimmün hastalıklar gibi çeşitli bağışıklık süreçlerinde pro- veya anti-inflamatuar rolleri vardır. Ayrıca bazı çalışmalarda deneysel hayvan modellerinde MH'lerin obezite ve diyabeti önleyebileceği bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı *S. nigra*'nın diyabetli rat dalağında mast hücre ve Vasküler Endotelial Büyüme faktörü (VEGF) üzerine etkilerini histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak araştırmaktır. Çalışmada 32 adet Albino-Wistar ırkı erkek ratlar 4 gruba ayrıldı: kontrol, diyabet, *S. nigra* ve diyabet + *S. nigra* (n=8). Diyabet ve diyabet + *S. nigra* grubunda yer alan ratlara streptozotosin ile diyabet modeli oluşturuldu. *S. nigra* (15 mg/kg) ve diyabet + *S. nigra* grubundaki ratlara ise 14 gün boyunca *S. nigra* ekstratı verildi. Kontrol grubundaki ratlara herhangi bir uygulama yapılmadı. Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde en az sayıda MH kontrol grubunda tespit edilirken, en fazla sayıdaki MH diyabet grubunda gözlemlendi. *S. nigra* ve diyabet + *S. nigra* gruplarındaki MH sayılarının ise birbirine yakın olduğu belirlendi. Araştırmamızda dikkat çeken bir diğer bulgu ise diyabetli ratlara *S. nigra* uygulamasının MH sayısında önemli ölçüde azalmaya neden olduğudur. Çalışmamızda diyabet grubunda artış gösteren VEGF ekspresyonunun *S. nigra* uygulaması ile azaldığı gözlemlendi. Ayrıca *S. nigra*'nın VEGF immun pozitif hücrelerine doğrudan bir etkisi olmadığı belirlendi. Bunun yanı sıra *S. nigra* uygulaması sonucunda, diyabet ile artış gösteren MH ve immun pozitif VEGF hücrelerinin sayısında azalma olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, mast hücrelerinin VEGF'lerin hem kaynağı hem de hedefi olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak *S. nigra*'nın immun sistem mekanizmaları ve hücreler üzerindeki etkiliğinin olabileceği ve ayrıca diyabet gibi metabolik hastalıkların destek tedavisinde dolaylı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Diyabet, *S. nigra*, Dalak, Mast hücre, VEGF.

ABSTRACT

HISTOCHEMICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF *SAMBUCUS NIGRA* ON MAST CELLS AND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) IN DIABETIC RAT SPLEEN

Elif Tuğba Ergel

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Veterinary Histology and Embriology

Master, January/2022

Supervisor: Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul

Sambucus nigra has chemopreventive, neuroprotective, anti-inflammatory, anti-viral, and anti-microbial activities depending on the compounds in its structure. In addition, it is known that *S. nigra* is effective in diabetes, obesity, and metabolic dysfunctions. Diabetes is a metabolic disease in which organism cannot adequately benefit from carbohydrates, fats, and proteins due to insulin deficiency or defects in the effect of insulin. Mast cells (MH) have pro-or anti-inflammatory functions in numerous immune processes, such as pathogen clearance and autoimmune diseases. Moreover, several studies have reported that MH can prevent obesity and diabetes in experimental animal models. The aim of this thesis study was histochemically and immunohistochemically investigate the effects of *S. nigra* on mast cells and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the spleen of diabetic rats. In the study, 32 male Albino-Wistar rats were divided into four groups: control, diabetic, *S. nigra*, and diabetic + *S. nigra* (n=8). While the diabetic model was induced in all rats in the diabetic and diabetic + *S. nigra* groups by streptozotocin, *S. nigra* extract (15 mg/kg) was given to all rats in the *S. nigra* and diabetic + *S. nigra* groups for 14 days. The rats in the control group had received no application. When the groups were compared, the least number of MH was found in the control group, while the highest number of MH was observed in the diabetic group. On the other hand, it was determined that the number of MH in the *S. nigra* and diabetic + *S. nigra* groups was close. Another remarkable finding in our study is that *S. nigra* treatment caused a significant decrease in the number of MH in diabetic rats. In our study, it was observed that increased VEGF expression in the diabetic group decreased with *S. nigra* treatment. In addition, it was determined that *S. nigra* did not have a direct effect on VEGF immune positive cells. Moreover, it was found that the number of MH and immune positive VEGF cells, which increased with diabetes, decreased due to the *S. nigra* treatment. These findings suggest that mast cells can be both source and target of VEGF. In conclusion, it is thought that *S. nigra* may have an effect on immune system mechanisms and cells, and may also be indirectly used in the supportive treatment of metabolic diseases such as diabetes.

Keywords: Diabetes, *S. nigra*, Spleen, Mast cell, VEGF

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	10
2. GENEL BİLGİLER.....	12
2.1. Sambucus nigra	12
2.1.1. Botanik Özellikleri.....	12
2.1.2. <i>Sambucus nigra</i> 'nın Etnofarmakognozik Kullanımı	13
2.1.3. Biyolojik Aktiviteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar	14
2.2. Diyabet	16
2.2.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı	16
2.2.2. DiabetesMellitus' un Sınıflandırılması.....	17
2.2.3. İnsülin.....	19
2.3. Dalağın Yapısı, Fonksiyonu ve Histolojisi	21
2.4. Mast Hücreleri.....	22
2.4.2. Mast Hücrelerinin Morfolojik Özellikleri	23
2.4.3. Mast Hücrelerinin Çeşitleri ve Heterojenitesi	24
2.4.4. Mast Hücrelerinin Medyatorları	24
2.4.5. Mast Hücresi Uyarıcıları	26
2.5. VEGF	26
2.5.1. VEGF Üyeleri.....	27
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1. Deney Hayvanları.....	30
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	30
3.3. Diyabetin Oluşturulması	30
3.4. Sambucus nigra Uygulaması.....	31
3.5. Deneyin Sonlandırılması.....	31
3.6. Mast Hücre Histokimyası.....	31

3.7. İmmünohistokimyasal Boyama.....	32
3.8. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	33
3.9. İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	33
4.1. Histokimyasal bulgular	34
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	38
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ	47
KAYNAKÇA	48
ETİK KURUL KARARI.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	54

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	: Adenozin 3 trifosfat
CRP	: C-reaktif protein
CTMC	: Bağ Dokusu Mast Hücresi
DAB	: Diaminobenzidin
DC	: Dentric Cell
DKA	: Diyabetik Ketoasidoz
DM	: Diabetes Mellitus
GLUT	: Glukoz taşıyıcı tip
Ig	: İmmunoglobulin
IL	: İnterlökın
ILP	: İnsülin benzeri peptid
KH	: Karbonhidrat
LDL	: Low Density Lipoprotein
MH	: Mast hücreleri
MCP-1	: Monocyte chemoattractant protein 1
MIP	: Makrofaj İnflamatuvar Protein
MHC	: Mukozal mast hücresi
PAT	: Platelet Aktivasyon Faktör
PI3-K	: Fosfatidilinositol 3-kinaz
PgE-2	: Prostaglandin 2
S. nigra	: <i>Sambucus nigra</i>
SCF	: Stem Cell Faktör
STZ	: Streptozosin
TLA-3	: T hücresi aktivasyon antijeni-3
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
VEGF	: Vascular endothelial growth factor

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Sambucus nigra</i> 'nın çiçekleri	11
Şekil 2.1. <i>Sambucus nigra</i> 'nın yaprak ve meyve çizimleri	13
Şekil 2.2. <i>Sambucus nigra</i> 'nın meyveleri	14
Şekil 2.3. Beyaz pulpa ve kırmızı pulpanın şematik olarak görünümü	21
Şekil 4.1. Kontrol grubu dalak, toluidin blue 10'luk objektif.....	32
Şekil 4.2. Kontrol grubu dalak, toluidin blue 20'lik objektif.	33
Şekil 4.3. <i>S. nigra</i> grubu dalak, toluidin blue 10'luk objektif.	33
Şekil 4.4. <i>S. nigra</i> grubu dalak, toluidin blue 20'lik objektif.	34
Şekil 4.5. Diyabet grubu dalak, toluidin blue x 10'luk objektif.	35
Şekil 4.6. Diyabet grubu dalak, toluidin blue 20'lik objektif	36
Şekil 4.7. Diyabet + <i>S. nigra</i> grubu dalak, toluidin blue 10'luk objektif	36
Şekil 4.8. Diyabet + <i>S. nigra</i> grubu dalak, toluidin blue 20'lik objektif.	37
Şekil 4.9. Negatif kontrol grubu preparatı	38
Şekil 4.10. VEGF+ hücrelerin görünümü	38
Şekil 4.11. Kırmızı pulpa'da VEGF+ hücre görünümü.....	39
Şekil 4.12. <i>S. nigra</i> grubu dalak kırmızı pulpası, VEGF immun boyama 20'lik objektif	40
Şekil 4.13. <i>S. nigra</i> grubu dalak, VEGF immun boyama 40'luk objektif	40
Şekil 4.14. Diyabet grubu dalak, VEGF immun boyama 20'lik objektif.	41
Şekil 4.15. Diyabet grubu dalak kırmızı pulpası, VEGF immun boyama 40'luk objektif.	41
Şekil 4.16. Diyabet + <i>S. nigra</i> grubu dalak, VEGF immun boyama 20'lik objektif.	42
Şekil 4.17. Diyabet + <i>S. nigra</i> grubu dalak kırmızı pulpası, VEGF immun boyama 40'luk objektif.	42

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. Dalak dokusunda toluidin mavisi ile boyama sonrası mast hücre sayıları	35
Tablo 4.2. Farklı grupların dalak dokusunda VEGF pozitif hücre reaksiyonu	37

1. GİRİŞ

Bitkilerin tıbbi amaçla kullanımına dair en eski kanıt M.Ö. 50000 yıllarına dayanan neanderthal insanına ait bir mezara dayanır. Dünya tarihi boyunca bütün uygar kavimlerin bitkileri hastalıkların tedavisinde kullandıkları görülmüştür. M.Ö. 3000 tarihlerinde yazıldığı düşünülen Sümer ve Asur tabletleri ve Hattuşaş'ta bulunan Hitit tabletlerinde yer alan tıbbi bitkiler buna örnek gösterilebilir (Baytop, 1999).

Fitokimyasal maddeler tıbbi bitkilerin yaprak, kök, dal ve çiçeklerinden elde edilerek hastalıklardan korunmak ve çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılır (Hakverdi ve Yiğit, 2017). Ülkelerin gelişmişlik düzeyine göre tıbbi bitkilerin kullanım oranı değişiklik göstermektedir. Genel olarak dünya popülasyonunun %80'inin hastalıkların tedavisinde geleneksel yollarla kullanılan tıbbi bitkilerden yararlandığı belirlenmiştir. Orta Doğu, Afrika ve Asya'da bu oran artarken ülkelerin gelişmişlik düzeyi arttıkça bu oran azalmaktadır (Akarele, 1992). Zengin bir bitkisel flora'ya sahip olan ülkemizde ise yaklaşık olarak 11000 civarında bitki taksonu vardır ve bunlardan 500 kadarı alternatif tıpta kullanılmaktadır (Türkan ve Malyer, 2006).

Caprifoliaceae familyasına ait bir cins olan *Sambucus* cinsinin Türkiye'de *Sambucus nigra* L. ve *Sambucus ebulus* L. olarak 2 türü yetişmektedir (Davis, 1978). İki tür de Türkiye'de geniş alanlara yayılmıştır. Farmakopelerde tıbbi tür olarak *Sambucus nigra* L. yer almaktadır (Baytop, 1999). Ancak her iki türün de çiçek, yaprak, toprak üstü kısımları, yapraklı dalları, bitkinin kabukları ve rizomları halk arasında kullanılmaktadır (Ahmediani, 1998).



Şekil 1.1. *Sambucus nigra* 'nın çiçekleri (Fotoğraf: Sakıp Sabancı Müzesi)

Sambucus nigra 'nın geleneksel kullanımından yola çıkılarak etken maddeleri araştırılmış; çiçeklerinde başta Rutin (Kersetin 3-rutinozit) olmak üzere flavonoidler, p-kumarik, kafeik ve benzeri organik asitler, eser miktarda sambunigrin glikoziti, müsilaj, tanen, potasyum tuzları, triterpenik maddeler; yapraklarında ise siyanogenetik heterozit bulunmuştur (Tanker ve Tanker 2003; Çubukçu vd., 2002). *S. ebulus* ve *S. nigra* çiçek, yaprak ve meyveleri aynı amaçla kullanıldığı halde farmakopelerde *S. nigra* 'nın Sambuci flos drogu yer almaktadır. Alman Komisyon E monograflarında ise *S. nigra* çiçeklerinin viral enfeksiyonlarda ve soğuk algınlığında diyaforetik ve bronş salgısını arttırıcı olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (Blumenthal, 1998).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Sambucus nigra*

2.1.1. Botanik Özellikleri

Genellikle Kuzey yarım küre boyunca yayılmış olan Mürver türleri kısa boylu ağaçlar, çalılar veya yıllık bitkilerden oluşmuşlardır. Ülkemizde *Caprifoliaceae* familyasından *Sambucus* cinsine ait 2 tür yetişmektedir. Bunlar *Sambucus nigra* L. ve *Sambucus ebulus* L.' dir. *Sambucus nigra* L. kışın yaprağını döken bir çalı veya 4-10 m'ye kadar boylanabilen bir ağaçtır. Kabukları açık gri renkte olup yaş ilerledikçe kabuklar çatlamaya başlar. Dallarının ise içi boştur ve odunsu borular şeklindedir (Namıkoğlu, 2008).

Bileşik yaprakları 5-7 yaprakçıktan oluşur ve yaklaşık 25-30 cm boyundadır. Çok kısa saplı, oval yaprakçıklar 6-12 cm boyunda, 4-8 cm genişliğindedir, sivri uçlu, kenarları ise sivri dişlidir. Çiçekleri beyazımsı sarı renktedir ve 10-25 cm genişliğinde şemsiye biçiminde salkımlar oluşturur. Meyveleri 3-5 mm çapında ve küresel şekildedir. Olgunlaşınca siyaha yakın koyu mor renk alırlar ve salkımlar oluştururlar, uzun süre ağaç üzerinde kalırlar. Türkiye'nin değişik bölgelerinde özellikle Kuzey Anadolu'da ve Batı Anadolu'nun bazı kesimlerinde bu bitkiye rastlanır (Baytop, 1963; Baytop, 1994).



Şekil 2.1. *Sambucus nigra*'nın yaprak ve meyve çizimleri (Fotoğraf: Friedrich Guimpel)

2.1.2. *Sambucus nigra*'nın Etnofarmakognozik Kullanımı

Sambucus nigra halk arasında müniver, ağaç mülveri, masuralık, patlavuç, şahmelik, şişni gibi isimlerle bilinir (Tuzlacı, 2006). *Sambucus nigra* çiçekleri halk arasında öksürük, boğmaca, bronşit, astım, soğuk algınlığında ve ekspektoran olarak kullanılmaktadır (Kültür, 2007). Detoksasyon halinde cilt toniği olarak ve cilt rengini açmak için kullanılmış, kaynatılmış ve ezilmiş çiçekleri cilt yumuşatıcısı olarak, yapraklarla beraber sütle kaynatılan bitki parçaları lapa halinde hemoroid tedavisinde kullanılmıştır. Bitkinin genç dallarının kabukları ise ince ince kesilerek vücut şişkinliklerinin alınması için haricen kullanılmaktadır (Pieroni vd., 2004). *S. nigra* kabukları ise merhem haline getirilerek yara ve yanıklarda, antifungal ve antiparazitik etkisinden dolayı ise hayvanlarda kullanılmıştır (Kültür, 2007).



Şekil 2.2. *Sambucus nigra*'nın meyveleri (Fotoğraf: Wolfgang Stuppy)

2.1.3. Biyolojik Aktiviteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Antibakteriyel ve Antiviral Aktivite

Sambucus nigra influenza enfeksiyonlarının başlangıç safhasında tıbbi çay, şurup, damla şeklinde çeşitli preparatların içeriğinde yer almaktadır. Çeşitli klinik çalışmalar yapılmış ve bitkinin meyvesinden elde edilen ekstrelerinin influenza A ve B tipi virüslerini etkili bir şekilde inhibe ettiği, ateş dahil grip semptomları belirgin şekilde iyileştirdiği görülmüştür (Zakay-Ronesve vd., 1995). Geleneksel kullanımından yola çıkılarak *Sambucus nigra* bitkisinin pek çok etkisi incelenmiş özellikle gribal enfeksiyonlarda semptomları giderdiği görülmüştür (Meriç, 2012).

S. nigra meyvelerinden elde edilen bir diğer standardize ekstre olan Rutin ile yapılan çalışmada ekstrenin hem gram-pozitif bakteriler olan *Streptococcus pyogenes* C ve G *Streptococci*'lere karşı hem de gram-negatif bakteri olan *Branhamella catarrhalis*'e karşı antimikrobiyal etkisi olduğu belirlenmiştir (Krawitz vd., 2011).

Antioksidan Aktivite

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bu maddelerin oluşturduğu hasarları engellemek ve bunun yanında detoksifikasyonu sağlamak için vücutta görev yapan savunma sistemlerine antioksidanlar denir (Şener, 2009). *S. nigra*'nın çiçek, yaprak

ve meyvelerinin alkol ekstralarının antioksidan aktivite ve ekstraksiyon işlemi sırasında uygulanan sıcaklığın antioksidan aktiviteye etkisine bakılmış, çiçeklerin en yüksek etkiyi, yaprakların ise en düşük etkiyi gösterdiği görülmüştür (Dawidowicz vd., 2006).

Sambuci flos drogunun suyundan elde edilen ekstre ile yapılan çalışmalarda bu ekstrenin hem peroksit radikallerinin oksidasyon hızının azalmasını sağladığı hem de bakır-indüklü LDL oksidasyonunu yavaşlattığı görülmüştür (Abuja vd., 1998).

Kanser

Sambucus nigra meyve özlerinden elde edilen tip 2 ribozom inaktive edici proteinler olarak bilinen nigrin b ve ebulin 1 proteinlerinin sitotoksik etkisi incelenmiş ve bu proteinlerin, kanser hücrelerinde aşırı üretimi yapılan transfer reseptörleri ile konjugat oluşturan kanser hücrelerinin gelişimini azalttığı belirtilmiştir (Citores vd., 2002).

Antidiyabetik Etki

S. nigra'nın sulu ekstresiyle yapılan bir çalışmada ekstrenin 2-deoksi-glukoz'un taşınmasını belirgin oranda arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca *S. nigra* ekstralarının insülin salınımını uyaran suda çözünebilen bileşikler içerdiği ve kas içine glukoz alımını ve kullanımını arttırdığı gösterilmiştir. Çalışmada bu özelliklerinden dolayı *Sambucus nigra*'nın diyabet tedavisi için potansiyel kaynak olabileceği vurgulanmıştır (Gray vd., 2000).

Diüretik Aktivite

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan bir araştırmada *Sambucus nigra* çiçeğinin diüretik etkisinin teofiline kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, Sambuci flos'un sağlıklı bireylerde terlemeyi artırdığı rapor edilmiştir (WHO, 2002).

Yanık Tedavisindeki Etkisi

S. nigra çiçeklerinin tentürü ile Amerikan farmakopesinde formülasyonu verilen cold krem hazırlanmış ve bu kremin yanık tedavi edici özelliği sıçanlar üzerinde araştırılmıştır. Üç grup üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada, sıçanlarda dorsal bölgede deri yanıkları oluşturulmuştur. Bu yanıklar 1. grupta %10 Sambuci flos ekstresi içeren cold krem ile 2. grupta %1 Silver sülfadiazin (SSD) içeren krem

ile tedavi edilmiş, kontrol grubu olan 3. grupta ise sıçanlara sadece cold krem bazı uygulanmıştır. Çalışma sonucundan belirgin şekilde yanık iyileşmesinin 1. grupta olduğu görülmüştür. Bu etkinin Sambuci flos ekstresinin içeriğindeki rutin, hiperozit, apigenin-7-neohesperozit, luteolin-7-glukozit, apigenin-7-glukozit gibi fenolik bileşiklerde kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu bileşiklerin sahip olduğu astrenjan, antienflamatuar, antiseptik ve sikatrizan etkilerinin yanı sıra yeni kapiller damar oluşumuna yardımcı olduğu da belirlenmiştir (Mogoşanu vd., 2011)

2.2. Diyabet

2.2.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı

Diyabet, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik, geniş spektrumlu bir metabolizma bozukluğudur (TEMMD Diyabet Klavuzu, 2020).

2000 yıl öncesinde Charaka ve Sushruta adında 2 hintli araştırmacı diyabetin bir çok hastalıktan oluştuğunu göstermişlerdir. 18. ve 19. yüzyıllarda hastalık tip 2 diyabet tablosuna benzeyen aşırı kilo alımı ve ileri yaşlarda ortaya çıkan glikozüri şeklinde gösterilmiştir. 1869 yılında Paul Langerhans pankreastaki adacık hücrelerini ilk tanımlayan kişidir. Ancak diyabet tanısı açısından en önemli çalışma Josef von Mering ve Oskar Minkowski'nin ortaya attığı pankreatik diyabet teorisi olmuştur. Bu bilim adamlarının diyabetin idrarda yüksek glikoz yoğunluğu olarak görüldüğünü göstermeleri ve bunun üstüne insülin üzerine çalışmalar yapmaları 1921 yılında Nobel ödülü almalarını sağlamıştır (Öztürk, 2014).

Günümüzün önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilen diyabet, tüm dünyada giderek artmaktadır. Bulaşıcı olmayan hastalıklar arasında en sık görülen kronik hastalıklardan biri olan diyabet dünya nüfusunun yaklaşık %9.3'ünü etkilemektedir. Uluslararası Diyabet Fedarasyonu verilerine göre 2019 senesinde 463 milyon insan diyabet hastasıdır ve yeterli aksiyon alınmazsa bu rakamların 2045 senesine kadar 700 milyon insana kadar çıkabileceği öngörülmektedir (IDF, 2019).

Diyabet tek bir hastalık değildir. Görece veya mutlak insülin eksikliği nedeniyle kan şekerinin yükselmesiyle karakterize çeşitli sendromlardan oluşur. Peptid yapıda bir hormon olan insülin pankreastan salgılanır. Pankreas hem insülin, glukogan ve somatostatini salgılayan bir endokrin bez, hem de sindirim enzimlerini

salgılayan bir ekzokrin bezdir. Peptid hormonlar Langerhans adacıklarındaki hücrelerden salgılanır. Beta hücreleri insülin, alfa hücreleri glukagon, D hücreleri somatostatini salgılayarak vücudun kan glukoz düzeyini sabit tutarlar ve bu etkileri vücudun metabolik aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli rol oynar (Howland and Mycek, 2009).

2.2.2. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

Diyabetli hastalar insülin ihtiyaçlarına tip 1, tip 2, gestasyonel diyabet (GDM) ve diğer spesifik tipler olmak üzere 4 grupta sınıflanır.

2.2.2.1. Tip 1 Diyabet

Tip 1 Diabetes Mellitus (Tip 1 DM), nedeni hala tam olarak aydınlatılamasa da genetik ve viral enfeksiyonlar gibi çevresel faktörlerin etkisiyle pankreasın Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinde oluşan harabiyet sonucu insülin hormonunun yetersiz salgılanmasıyla ortaya çıkan otoimmün bir hastalıktır. Bunun nedeni vücudun bağışıklık sisteminin beta hücrelerine saldırmasıdır (IDF, 2019). β -hücre rezervi %80-90 oranında azaldığı zaman klinik diyabet semptomları ortaya çıkar. Otoimmünitenin başladığı evre 1 ve evre 2 genellikle asemptomatikken, evre 3'de hiperglisemi ve klinik semptomlar belirginleşir (TEMD Diyabet Klavuzu, 2020).

Hastalar en sık görülen belirtiler poliüri, polidipsi, kilo verme, bulantı ve kusma, glikozüridir. Diyabetik ketoasidoz (DKA) ise hastaların çoğunda görülen hastaneye başvurma sebebidir. Önce hiperglisemi sonrasında ise, ketozis, ketoasidotik koma tablosu görülmüştür (Ertem, 2021).

Tip 1 diyabet, çocukluk çağında en sık görülen kronik hastalıklardan biridir. Otuz yaş altı gençlerde ve özellikle 6 yaş civarındaki çocuklarda yaygın olarak görüldüğünden bu hastalığa “juvenil-çocukluk diyabeti” de denir. (Mehtap, 2017; Durna, 2002).

2.2.2.2. Tip 2 diyabet

Çoğunlukla 40 yaş üzeri erişkin bireylerde ortaya çıkan, pankreasın insülin ürettiği fakat insülin direnci olması nedeniyle hücrelerin insülini gerektiği gibi kullanamadığı diyabet çeşididir (Colberg, 2006).

Hastalığın fizyopatolojisi araştırıldığında insülin direnci, insülin sekresyonunda azalma ve inkretin hormon yetersizliği bulunmuştur. Bunların dışında; pankreas Langerhans adası hücrelerinden glukagon salınımının artması, lipolizin artması, glukoz geri emiliminin artması ve nörotransmitter disfonksiyonu da patofizyolojide rol oynar. Ek olarak son yıllarda pek çok çalışma bağırsak mikrobiyomunu tip 2 diyabet ve obezite gibi yaygın hastalıkların gelişimi ile ilişkilendirmiştir (TEMD Diyabet Klavuzu, 2020).

Toplumda oldukça sık görülen ve ekonomik boyutu yüksek olan bu hastalığın Türkiye'deki prevalansı Türk Diyabet Epidemiyolojisi Çalışması'nda %16,5 bulunmuştur (Satman vd., 2013).

En sık görülen diyabet çeşidi olan ve tüm diyabet vakalarının %90'ını oluşturan tip 2 diabetes mellitus geçmişte 'erişkin diyabet' ve 'insüline bağımlı olmayan diyabet' olarak da adlandırılmıştır (American Diabetes Association, 2014).

Genelde 40 yaş ve üzerinde ortaya çıkar ve yaş arttıkça görülme sıklığı artar. Ancak günlük yaşam tarzındaki değişiklikler ve obezite görülme sıklığının artmasıyla birlikte çocuk ve adolesan yaşlarında bu hastalığın görülme sıklığında artış olmuştur (Gümüş vd., 2014).

2.2.2.3. Gestasyonel Diyabet

Gebeliğe bağlı glukoz intoleransı olarak tanımlanan diyabet çeşididir. Gebelik süresince kan glukoz seviyesinin normal değerlerde tutulması çok önemlidir çünkü hiperglisemi, fetüste konjenital anomalilere yol açabilir. Diyet ve egzersiz yapılması ve/veya insülin uygulanması gestasyonel diyabetin tedavisinde etkilidir (Harvey and Champe, 2009).

2.2.2.4. Diğer Spesifik Diyabet Çeşitleri

Tip I ve tip II diyabet özellikleri gösteren bu diyabet tiplerinin etiyolojisinde belli genlerin mutasyonu sonucu beta hücre defektleri, endokrin bozukluklar ve ilaçların olduğu diyabet türleri olarak sınıflandırılabilir (Altuntaş, 2001).

2.2.3. İnsülin

İnsülin, besin mevcudiyetine bağlı bir şekilde vücutta anabolik yanıtı düzenlemek için hedef hücrelerdeki plazma zarına reseptörleri bağlayan bir endokrin

peptid hormondur. Tüm hayvanlarda insülin veya insülin benzeri peptitler (ILP'ler) tanımlanmıştır (Chan ve Steiner, 2000).

2.2.3.1. İnsülinin Sentezi ve Sekresyonu

İnsülin geninin eksprese edildiği yer insülinin sentezlendiği ve depolandığı adacıklardaki beta hücreleridir. Beta hücrelerinden insülin salınımı etkileyen en önemli faktör ise kan glikoz seviyesindeki artıştır. Eğer sekresyon devam ederse gecikmiş ve uzamış bir yanıt olarak aktif insülin sentezi başlar. Glikozun pankreas beta hücre içi metabolizmasındaki etkileri ile otonomik sinir sisteminin kolinerjik uyarıları birleşerek beta hücrelerinden insülin salınımı sağlanmış olur. İntestinal hormonlar, sulfonilüre grubu bazı ilaçlar, lösün, arjinin gibi aminoasitler insülin sentezi üzerinde etkileri olmasa da insülin salınımını başlatabilirler (Kumar vd., 2003).

Kan glikoz konsantrasyonundaki artış sonrasında glikoz, GLUT-2 proteinleri aracılığıyla beta hücrelerinin sitoplazmalarına geçer ve glikokinaz enzimiyle parçalanır. Glikozun parçalanması, hücre içinde ATP konsantrasyonunun yükselmesine ve ATP bağımlı potasyum (K^+) kanallarının kapanmasına yol açar. Bu kapanma ise hücre zarında depolarizasyona neden olur. Depolarizasyon olayı sonucunda voltaj bağımlı kalsiyum kanalları açılır ve Ca^{+2} hücre içine geçerken insülin, proinsülin, çinko ve C-peptid ile beraber ekstra selüler sıvıya salgılanmış olur (Inoue vd., 1997).

2.2.3.2. İnsülinin Etki Mekanizması

İnsülin, hedef hücresindeki membran üzerinde bulunan yüksek duyarlılığa sahip reseptörüne bağlanarak etkisini gösterir. İnsülin reseptörü, vücutta sıklıkla bulunan “ tirozin kinaz” molekülleridir. Bu reseptörlerin α ve β olmak üzere 2 alt birimi bulunur ancak tek bir polipeptid olarak sentezlenirler. α ünitesi insülin bağlanma bölgesi içermekte ve hücre membranının dış kısmında bulunmaktadır. Reseptörlerin α ünitesindeki spesifik bölgesine insülinin bağlanmasıyla, reseptörde yapısal olarak hızla değişim oluşmakta ve β ünitesinin iç kısımlarında bulunan spesifik tirozin kalıntıları otofosforilasyona uğramakta, bu olay sonucunda da reseptör üzerindeki tirozin kinaz molekülü aktifleşmektedir. Tirozin kinaz aktive oldukça, tirozin rezidülerindeki substrat proteinler fosforilasyona uğramaya devam etmekte, bu akış sinyal ileti yolağının devamlılığı sağlamaktadır. İnsülin-reseptör

sinyal yolağı iki bölümden oluşur. Bunlar; fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3-K) ve mitojen aktive edici protein kinaz (MAP kinaz) yolağıdır. Bunlardan PI3-K yolağının GLUT-4 sayesinde protein ve nükleik asit sentezi, karaciğerde glikojen sentezi, glikozun hücre membranında taşınması gibi biyolojik reaksiyonlarda rol oynadığı gösterilmiştir (Mehtap, 2017).

2.2.3.3. İnsülinin Fonksiyonları

İnsülin anabolik bir hormon olduğundan vücutta, aminoasit ve glukozun hücre zarında taşınması, karaciğerde ve iskelet kaslarında glikojen depolanması, glikozun yağlara dönüştürülmesi, protein ve nükleik asit sentezi görevleri vardır. İnsülinin metabolizmadaki en önemli görevi ise toplamda vücut ağırlığının üçte ikisini oluşturan, çizgili kas hücreleri, kalp kası, yağ dokusu hücreleri ve fibroblast içerisine GLUT-4 (glukoz taşıyıcı tip 4) proteini aracılığıyla glikoz transportunu sağlamak ve gerektiğinde transport hızını artırmaktır (David ve Shoback, 2009).

İnsülinin, TNF- α , MCP-1 ve CRP, İL-6 gibi insanlarda enflamasyona yol açan moleküllerin düzeylerini önemli seviyede azalttığı ve insülin hormonunun anti-inflamatuvar özellik gösterdiği bildirilmiştir (Dandona vd., 2010).

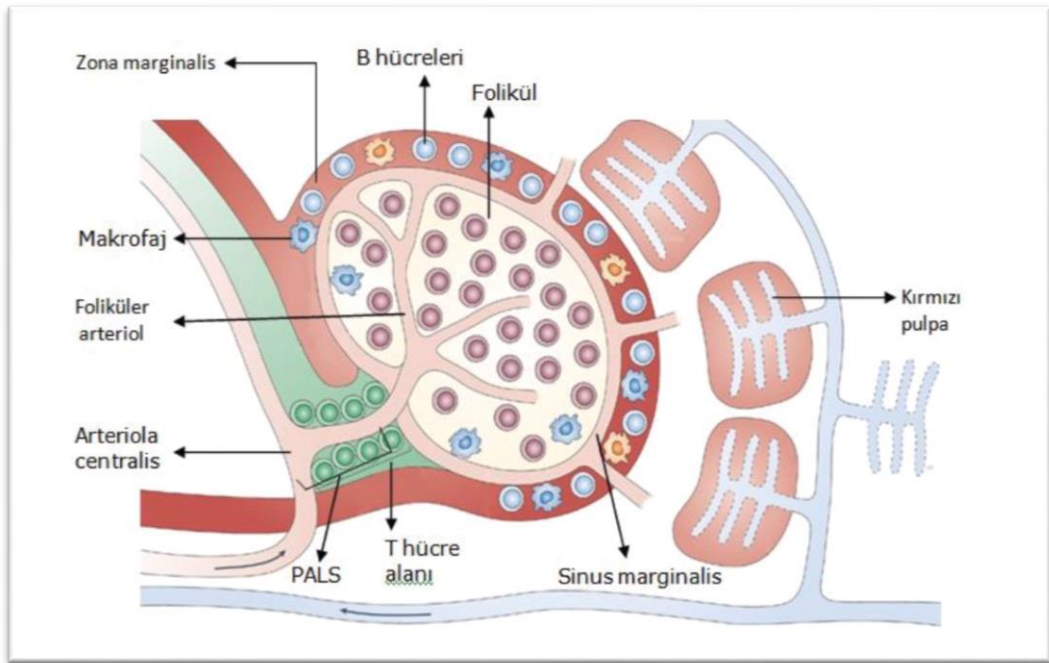
2.3. Dalakın Yapısı, Fonksiyonu ve Histolojisi

Dalak, memeli hayvanlarda diyafram ile midenin fundusu arasında bulunan bölgede abdominal boşluğa yerleşmiş sekonder periferik lenfoid bir organdır. Dalak, serozal bir yüzeye sahip olan intraperitoneal bir organdır. Vasküler kaynağını içeren bağlarla birlikte retroperitona yerleşmiştir (Kachlik vd., 2008). Dalak, sol üst kadranda yer alır. Diyaframın alt tarafına yaslanır 9. ve 11. kaburgalarla diyafram aracılığıyla komşu durumundadır (Varga vd., 2009). İnsan vücudunda bulunan en büyük lenfoid organ dalaktır. İmmün yanıtta önemli görevleri olan dalakta, atar damarlarla beslenen ancak hasarlı ve yaşlı trombositler ve eritrositler yok edilir ve kandaki antijenler için bir süzgeç görevi görür (Tarantino vd., 2013). Yaşlı eritrositlerin apoptoza uğramasından sonra, hemoglobin sindirilir ve demir, dalak makrofajları tarafından serbest bırakılır veya depolanmak üzere taşınır. Bu sebeple dalak demirin geri dönüşümünde önemli bir yeri vardır (Mebiusand and Kraal, 2005).

Dalak, T ve B hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşmasında ve beyaz pulpada antikor üretimi yoluyla bağışıklık sisteminin etkinleştirilmesinde ve periferik

toleransın sağlanmasında önemli bir rol oynar. Ayrıca, dalak makrofajları bakterileri kandan filtreleyerek enfeksiyon sırasında vücudu sepsisten koruyabilir (Mahnke vd.,2003).

Sistemik dolaşımında dalağın önemli görevleri olan dalak morfolojik ve fonksiyonel olarak incelendiğinde kırmızı pulpa, beyaz pulpa ve marjinal bölge adı verilen üç ana bölmeden oluştuğu görülmüştür. Kırmızı pulpada kırmızı kan hücrelerinin bulunur ve zamanlanmış olarak geri dönüşümü sağlanır (Aoshi vd, 2008).



Şekil 2.3. Beyaz pulpa ve kırmızı pulpanın şematik olarak görünümü (Pillai and Cariappa, 2009)

Marjinal sinüs boyunca konumlandırılmış marjinal bölgede ise B hücreleri ve fagositler bulunur. Vücuda enfeksiyon etmenleri giriş yaptığında sinüs marjinalise ulaşırlar ve marjinal bölgedeki makrofajlar, dendritik hücreler (DC' ler) ve granülositler de dahil olmak üzere birçok dalak fagositi aktive olur (Kraal ve Janse, 1986). Beyaz pulpa ise B ve T hücrelerinin çoğunluğunun bulunduğu bölgedir (Aoshi vd., 2008).

2.4. Mast Hücreleri

Mast hücreleri ilk defa Alman mikrobiyolog Ehrlich tarafından 1878 yılında tez çalışması sırasında keşfedilmiştir. Ehrlich bu hücrelere almanca “mastzellen”

yani “yiyen hücre” adını vermiştir ve bu hücreleri büyük granüllere sahip bağ doku hücreleri olarak anlatmıştır (Okayama ve Kawakami, 2006).

Mast hücreleri bağ dokunun en iri hücreleridir ve sitoplazmaları içerisinde bulunan çeşitli boyutlardaki granüllerin bazik boyalarla boyandığında metakromazi göstermesi, hücre çekirdeklerinin genelde hücrenin ortasında oval, mekik şekilli veya yuvarlak heterokromatik biçimde olmasıyla bilinen hücrelerdir (Dvorak vd., 1992).

Kemik iliğinin kök hücrelerinden köken alan mast hücreleri, granülsüz hücreler olarak kan dolaşımına katıldıktan sonra bağ dokusuna ulaşarak orada kök hücre faktörü (Stem cell factor = SCF c kit ligand) ve interlökin (IL-3) etkisi ile karakteristik granüllü hücrelere dönüşürler (Wernersson ve Pejler, 2014). Kök hücre faktörü mast hücrelerinin çoğalması, gelişmesi, farklılaşması ve diğer dokulara taşınmasında ayrıca adhezyonunda rol oynayan en önemli faktördür (Kobayashi vd., 2000).

Mast hücreleri mezenkimal hücrelerden olgunlaşması için kök hücre faktörüne ihtiyaç duymaktadır. Ancak ilk proliferasyon IL-3 molekülü aracılığıyla gerçekleşir (Shi ve Shi, 2012).

2.4.2. Mast Hücrelerinin Morfolojik Özellikleri

Sitoplazmalarında ortalama 50-500 salgı granülü içeren mast hücrelerinin insandaki boyutu yaklaşık 30 µm, kemirgen hayvanlarda ise 3,5-22 µm büyüklüğündedir (Galli vd., 1984).

Mast hücreleri düzensiz yerleşimli hücrelerdir ancak çekirdekleri hücrenin ortasında yerleşim göstermiştir. Mukoza zarı adı verilen gevşek bağ doku üzerinde bulunan mast hücreleri genel olarak kıvrımlı şekil almışlardır ancak epitel içinde yerleşim gösteren mast hücreleri bulundukları organın durumuna göre çeşitli morfolojiler gösterebilirler. Sitoplazmalarındaki granüllerin yoğunluk ve sayısına göre boyut olarak değişebilen mast hücreleri granüllere tamamen yapışmış şekilde ya da daha az sıkı şekilde bağlanabilirler. Bazı mast hücrelerinin sitoplazmalarında salgı graünülleri bulunmadığı halde bazılarında ise ekstraselüler sıvıda granül yığınları bağlanmış halde mast hücreleri bulunabilir (Cross ve Mercer, 1998).

Mast hücreleri gastrointestinal sistem organlarının mukoz membranlarında, deride, mesanede, solunum yollarında, kan ve lenf damarlarında, periferik sistemde görülürler (Artico vd., 1998).

Histokimyasal olarak toluidin mavisi, tiyonin gibi katyonik boyalarla metakromatik reaksiyon verebilen mast hücreleri boyama sonucunda mor-kahverengi görülebilir. Ayrıca alsiyan mavisi-safranin ikili boyama yöntemi ile de boyanabilirler (Shao-Heng He, 2004).

2.4.3. Mast Hücrelerinin Çeşitleri ve Heterojenitesi

Mast hücreleri tespit maddelerine karşı gösterdikleri immünohistokimyasal özellikleri, kimyasal boyalar karşısındaki durumları, içerdikleri histamin miktarı, granüllerinde çeşitli enzimleri içerip içermeme durumu ve agonist ve antagonist özellikli ilaçlara karşı verdikleri yanıtlara göre çeşitli alt tiplerine ayrılır. Kemirgenlerde bu ayrım mukozal mast hücreleri (MMC) ve bağ dokusu mast hücreleri (CTMC) olarak iki çeşittir (Ercan ve Çetinel, 2008).

Mukozal mast hücreleri; organların bronşlar ve nazal mukoza gibi organların mukoza içeren bölgelerine yerleşmişlerdir. Formol ile iyi bir tespit yapılamazken histokimyasal boyama yöntemlerinden alcian blue/safranine O ile boyandıklarında bu hücreler mavi renk görünmektedirler. Ayrıca interlökinlere (IL-3,IL-4) duyarlılık gösterirler. Bağ dokusu mast hücreleri ise ince barsak submukozası, deri, iskelet kası, seroza bölgelerinde bulunur. Tespit solüsyonundan bağımsız boyanabilen CTMC' ler interlökinlere karşı duyarlı değildirler. Histokimyasal boyama yöntemlerinden AB/SO boyamasında pozitif boyanan bağ doku mast hücreleri bu yöntem sonucunda kırmızı-mavi görünürler (Gurish ve Boyce, 2006).

İnsanda mast hücresi sınıflandırılmasına bakıldığında ise bağ doku mast hücreleri (CTMC) ve mukozal mast hücreleri (MMC) kimaz ve triptaz moleküllerini bulundurma durumuna göre incelenir. Triptaz enzimi içeren mast hücreleri ince barsak ve alveol mukoza tabakasında daha fazla bulunurken, triptaz ve kimaz enzimlerini beraber içeren bununla birlikte karboksipeptidaz ve katepsin G proteaz da içeren mast hücreleri ise ince barsak submukoza tabakasında ve deride daha lokaldir (Irani ve Schwartz, 1990).

Mast hücrelerinin heterojenitesini belirlemek için çeşitli tespit solüsyonları kullanılır. Bunlara örnek olarak Carnoy, formol, bazik kurşun asetat (BLA) verilebilir. Formol içeren solüsyonlarda CTMC iyi tespit edebilirken, MMC hücreleri iyi reaksiyon göstermezler. Carnoy ve BLA tespit solüsyonları ise her iki hücre tipinde de iyi sonuç vermektedir (Harem vd., 2011).

2.4.4. Mast Hücrelerinin Medyatörleri

İnsan vücudundaki mast hücrelerinde önceden üretilerek depolanan veya antijen uyarımına balı olarak yapımına başlanan çok sayıda mediyatör bulunur. Bunlardan bazılarının yapısı çok iyi aydınlatılmış olmasına karşın bazı mediyatörler halen geniş bir biçimde araştırılmaktadır. Bu hücreler uyaran tarafından aktive edildiklerinde granüllerindeki medyatörleri dışarı verirler (Gelincik, 2001).

2.4.4.1. Depo Edilen Medyatörler

Bunlar histamin, nötral proteazlar, lizozomal hidrolazlar, kemotaktik medyatörler ve proteoglikanlardır. Histamin ya da diğer bazı proteazları içeren granüller mast hücrelerinin matriksine iyonik bağlarla bağlanırlar. Mast hücresi matriksi proteoglikan yapıdadır. Bu yapılara elektron mikroskopuyla bakıldığında iki ayrı tip hücre görülür. MCT hücreleri sadece triptaz içerirler ve hücreleri tanecik, helozon ve kristaller içerir. Karboksipepsidaz ve kimaz içeren MCTC hücreleri yüksek yoğunluklu granüller içerirler ve granüllerin sınırları görülemeyebilir (Gelincik, 2001).

Bu gruptaki medyatörlerden olan histamin molekülü insanda mast hücre degranülasyonunun işaretleyici olarak kullanılmıştır. Bunun nedeni bazofillerde çok az sayıda bulunmasıdır. Histamin, histidin üzerinden sentezlenen bir moleküldür. Proteoglikan ve heprin molekülleri ise bulundurdıkları sülfat gruplarıyla hücre granüllerine çeşitli enzimleri bağlayan ve destekleyen matriks olarak görev yaparlar (Irani ve Schwartz, 1990).

2.4.4.2. Yeni Sentezlenen Medyatörler

Bu grupta eikozanoidler ve trombosit aktive edici faktör (platelet activating factor-PAF) bulunmaktadır. Eikozanoidler arasında insanda sentezlenen moleküller prostaglandin D2 (PGD2) ve lökotrienlerdir (Robinson vd., 1989).

Mast hücreleri antijen yoluyla aktive edildiğinde hücre zarlarında bulunan araşidonik asit molekülü açığa çıkar. Bu molekül hızlı bir şekilde siklooksijenaz döngüsüne katılır ve çeşitli yollarla prostaglandin D2 (PGD2) veya lökotrien C4 (LTC4)'e dönüşür (Gelincik, 2001).

2.4.4.3. Sitokinler

Hem üretilip depo edilen hem de yeni sentezlenebilen bu hücreler arasında

İnterlökinler (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6), Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktörü (GM-CSF), İnterferon gama, TNF alfa (Tümör Nekroz Faktör), MIP1 alfa ve MIP1 beta (Makrofaj inflamatuvar proteini) ve TLA-3 (T hücresi aktivasyon antijeni) bulunur. Ayrıca bazik fibroblast büyüme faktörü (basic fibroblast growth factor/b-FGF) ve sinir büyüme faktörü (nevre growth factor/NGF) gibi büyüme faktörleri de bu grup sitokinler arasında yer alır.

Bunlardan IL-4, IL-5, IL-6 ve tümör nekrotik faktör (TNF- α)'nın bronşiyalarda ve nazal mukozada görüldüğü saptanmıştır (Holgate, 2000).

2.4.5. Mast Hücresi Uyarıcıları

Mast hücresi uyarımını sağlayan pek çok faktör bulunmaktadır. Bunlar arasında öncelikli olanlar IgE ve bir takım antijenlerdir. Ayrıca C3a ve C5a gibi anaflatoksinler, deterjan ve çeşitli gıda katkı maddeleri, östrojen benzeri moleküller, çeşitli sitokinler (IL-1, IL-2, IL-4, TNF- α), bazı ilaçlar, serbest radikaller, nöropeptitler (bradikinin, kalsitonin, nörotensin, SP, VIP), nörotransmitter bir madde olan asetilkolin, parathormon ve östrojen, radyasyon, egzersiz, bakteriyel ve viral etmenlerdir (Theoharides vd., 2001).

Mast hücresi sitoplazmasında bulunan salgı granülleri uyarana bağlı kalmadan da sentezlenebilirler. Bu sentez membran reseptörlerine bağlı olarak direkt yolla veya antijen yoluyla indirekt olarak uyarılarak gerçekleştirilebilir. Sentezlenen granüller tekrar uyarılır ve ekstrasellüler alana yayılırlar. Bu salınma olayına “degranülasyon” adı verilir (Galli ve Tsai, 2010).

2.5. VEGF

Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), vücutta birçok etkiye sahip olan, özellikle endotel hücrelerinin büyüme ve farklılaşmasında rol oynayan bir büyüme faktörü ailesidir (Yancopoulos vd., 2000).

VEGF, gelişim çağında ve sonrasında vücutta damar oluşturma yolları olan vaskülojenesis ve anjiogenez olayları için ihtiyaç duyulan önemli bir faktördür. Ayrıca endotel hücrelerinin fonksiyonlarını gerçekleştirmesinde de gereklidir. Bu fonksiyonlar tümör yayılması, embriyo oluşumu ve yara iyileşmesi, miyokardiyal ve

oküler iskemik hastalıklar ve iltihaplı romatizma gibi kronik enflamatuvar hastalıkları da kapsayan olaylardır (Zachary, 1998).

VEGF, damar duvarlarında bulunan endotel hücrelerinin sayısının artmasını ve permeabilitesini sağlayan anjiogenik bir faktördür (Leung vd.,1989).

VEGF heparin bağlayıcı glikoprotein yapısında bir molekül olup, Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri (PDGF) ailesinin önemli bir üyesi olduğu bulunmuştur. VEGF ailesinin VEGF-A (Human-VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve Plasenta büyüme faktörü (Placenta growth factor/PlGF) isimli 6 üyesi vardır (Kleespies vd., 2004).

VEGF ve reseptörlerin yapımını etkileyen en önemli uyaran hipoksidir. Bunun yanında trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB, epidermal büyüme faktörü, keratinosit büyüme faktörü, TNF alfa (tümör nekrozis faktör- α), transforming büyüme faktörü- β 1 ve interlökin- β 1 gibi başka çeşitli moleküller tarafından da başlatılabilir. Bu protein büyüme faktörlerinin dışında, forbol esterleri ve prostaglandin E2 (PGE2) gibi bazı küçük mediyatör moleküllerin de VEGF yapımını tetiklediği gösterilmiştir. VEGF' in vücutta sentezlendiği hücrelere bakıldığında ise akciğerin alveolar hücreleri, ovaryum ve korpus luteum, böbrek glomerül visseral epitel hücreleri, böbrek proksimal tübül hücreleri, adrenal korteks hücrelerinin hepsi, Leydig hücreleri, arterleri çevreleyen fibroblastlar, aktif durumda olan makrofajlar, bronşiyal hücreler ve hepatositler görülür (Yazır vd., 2004).

Protein büyüme faktörlerinin dışında, forbol esterleri ve prostaglandin E2 (PGE2) gibi bazı küçük mediyatör moleküllerin de VEGF yapımını tetiklediği gösterilmiştir (Harada vd., 1994).

2.5.1. VEGF Üyeleri

2.5.1.1. VEGF-a

Anjiyogenez'in asıl düzenleyicisi VEGF-a'dır. Bazı kaynaklarda sadece VEGF olarak isimlendirilmekle birlikte Human VEGF olarak da kullanılmaktadır. VEGF-a hem fizyolojik olarak vasküler genişlemede hem de fizyopatolojik anjiogeneizde büyük rol oynar. Kan dolaşımında bulunan formları ise VEGF165 ve VEGF121'dir (Ferrara vd., 1991).

VEGF-a'nın hücre membranındaki reseptör bağlantı noktaları ise VEGFR-1 (Flt-1 ya da fms-benzeri tirozinkinaz), VEGFR-2 (Flk-1/KDR ya da fetalliver kinaz), VEGFR-3 (flt-4) ve nörofilin-1 ve nörofilin-2 koreseptörleridir (Ferrara vd., 1992).

2.5.1.2. VEGF-b

VEGF-b, VEGF-a ile homolog bir sinyal peptidin bölünmesiyle 186 aminoasitli bir protein olarak oluşur. Daha sonra, farklı uçlarda COOH- grupları içeren 167 amino asitli bir proteine dönüşür (Ortega, 1999).

VEGF-b, vaskülerendotel büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1)'e bağlanarak monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmalarında rol alır (Ortega, 1998).

2.5.1.3. VEGF-c

VEGF benzeri protein olarak da adlandırılan VEGF-c 388 aminoasitten oluşmuştur. Lenfanjiogenez lenf damarlarının oluşumunda görev alır. VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak lenfatik ve vasküler endotel hücreleri bölünmesi için indükler (Clauss, 2000).

2.5.1.4. VEGF-d

VEGF-a ile benzer oranda aminoasit içeren VEGF-d 334 aminoasitten meydana gelen bir proteindir. C-terminal uçlarında bol miktarda sistein domainleri bulunmaktadır. Bu protein de VEGF-c gibi VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak endotel hücre mitojenezinde rol oynar (Achen ve Stacker, 1998).

2.5.1.5. VEGF-e

VEGF-e ile %25 oranında aynı aminoasit dizilimine sahip olan bir polipeptittir. Hücre çoğalmasını güçlü bir şekilde hızlandırır ve damar geçirgenliği üzerinde etkisi vardır. Etkisini VEGFR-2' ye seçici olarak bağlanarak ortaya koyar (Clauss, 2000).

2.5.1.6. PlGF

PlGF (Placenta growth factor/PlGF) VEGF ailesinin ayrıştırılan ilk hücre grubudur. PlGF, 152 aminoasitten oluşur ve VEGF-a ile %37 oranında benzer aminoasitler taşımaktadır. Monositlerin aktive edilmesinde önemli bir proteindir (Clauss, 2000).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 05.03.2020 tarih ve 2020-15 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yürütülmüştür.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, deney hayvanı olarak toplam 32 adet ve 250-350 gram ağırlığında olan Albino-Wistar ırkı erkek ratlar kullanılmıştır. Ratlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde; sıcaklığı (21-23 °C) ve bağıl nemi sabit tutulan (%50-60), havalandırılan ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü uygulanan deney hayvanı odalarında barındırılmışlardır. Deney süresince tüm ratlar standart rat kafeslerinde 4'erli gruplar halinde barındırılmış ve pelet halindeki özel sıçan yemi ve çeşme suyu ile ad libitum olarak beslenmişlerdir.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneyssel çalışmada kullanılan ratlar rastgele ve sayıca eşit olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Deney grupları:

- 1) 1. Grup: Kontrol grubu (n=8),
- 2) 2. Grup: Diyabet grubu (n=8),
- 3) 3. Grup: *S. nigra* grubu (n=8) ve
- 4) 4. Grup: Diyabet + *S. nigra* grubu (n=8) olarak belirlenmiştir.

3.3. Diyabetin Oluşturulması

Çalışmamızda, diyabet ve diyabet + *S. nigra* grubunda yer alan hayvanlarda diyabet modeli oluşturmak üzere; hayvanlara tek doz intraperitoneal (i.p.) streptozotosin (STZ; 50 mg/kg) enjeksiyonu yapılmıştır. 450 mg STZ (S0130; Sigma-Aldrich, ABD) 10 mL distile su içerisinde çözündürülerek hazırlanmış (Çetin vd., 2013). ve daha sonra diyabet ve diyabet + *S. nigra* grubundaki tüm ratlara uygulanmıştır. STZ enjeksiyonundan 3 gün sonra tüm bu ratlarda açlık kan şekeri ölçümü yapılarak diyabetin oluştuğu teyit edilmiştir. Bunun için; açlık kan şekeri ölçümünden önce hayvanlar 8 saat boyunca aç bırakılmış ve 8 saatin sonunda

kuyruktan alınan kan örneğinden glukometre (PlusMED Accuro) kullanılarak kan şekeri değerleri ölçülmüştür. Böylece STZ enjekte edilmiş tüm hayvanların kan şekeri değerleri 300 mg/dL'nin üzerinde olduğu için her iki grupta da diyabet modeli geliştiği kabul edilmiştir.

3.4. *Sambucus nigra* Uygulaması

Ratlarda diyabet oluşumu teyit edildikten sonra, *S. nigra* ve diyabet + *S. nigra* grubunda yer alan tüm hayvanlara oral gavaj ile 15 mg/kg dozunda *S. nigra* (Cristina vd., 2021) 14 gün boyunca uygulanmıştır. Kontrol grubunda yer alan hayvanlara ise deney süresince herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

3.5. Deneyin Sonlandırılması

On dört günlük *S. nigra* uygulaması tamamlandıktan sonraki gün, tüm gruplarda yer alan hayvanlara anestezi altında ötenazi işlemi uygulanmıştır. Anestezi sağlamak amacıyla 66 mg/kg intraperitoneal, 44 mg/kg intramüsküler ketamin hidroklorür uygulanmıştır. Dekapitasyon sonrası, tüm grupların dalak dokuları %10'luk tamponlanmış nötral formaldehit solüsyonuna alınmıştır.

3.6. Mast Hücre Histokimyası

Dalak dokuları, histolojik incelemeler için %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin doku takibi prosedürlerinden geçirilerek parafin bloklara gömülmüştür. Ardından parafin bloklardan 30 µm aralıklarla 5 µm kalınlığında 10 seri kesit alınmış ve toluidine blue (92-31-9; Sigma-Aldrich, ABD) (%0.5 ve pH=0.5) ile 10 dakika boyunca boyanmıştır. Boyanan kesitlerde, tüm preparatlardaki mast hücrelerinin sayısal yoğunluğunu belirlemek için 100 kare oküler mikrometre (eyepiece graticule) kullanılmıştır. 40'lık (x40) objektif büyütmesinde oküler mikrometrenin 100 kare birim alanındaki mast hücreleri sayılmıştır. Tüm gruplardan alınan kesitlerin rastgele seçilen 10 farklı bölgesinde mast hücrelerinin sayımı yapılmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Daha sonra elde edilen tüm bu veriler, 1 mm²'lik birim alandaki mast hücre sayısına dönüştürülmüştür.

Mast hücrelerinin dalak dokusundaki heterojenitesini belirlemek amacıyla hazırlanmış olan tüm deney gruplarına ait preparatlar, Nikon E-80İ araştırma mikroskobu altında ve Nikondigital-sight görüntüleme sistemi ile incelenip fotoğraflanmıştır.

3.7. İmmünohistokimyasal Boyama

Dalak dokusundan alınan 5 µm kalınlığındaki doku kesitlerinde VEGF'nin varlığını belirlemek için, immünohistokimyasal yöntemlerden birisi olan "streptavidin-biotin-kompleks yöntemi" kullanılmıştır (True, 1990). İmmünohistokimyasal boyamalarda; mouse monoklonal VEGF (1/800 dilüsyon, Santa Cruz Biotechnology, sc-7269) primer antikoru kullanıldı. Sulandırma (Zymed 00-3118) Antibody diluent reagent solusyonu kullanılarak yapıldı. Sekonder antikor olarak (Zymed kit: 85-6743) Histostain® Plus Rabbit Primary antikor kiti kullanılmıştır.

İmmünohistokimyasal boyama işlemlerinin aşamaları aşağıda basamaklar halinde verilmiştir.

- Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için deparafinizasyon işleminden sonra sitrat buffer (1000 ml distile su 2,1 g Sitrik asit (Merck, 1.00242.1000) (pH:6) çözeltisi içersine alınan kesitler mikrodalga fırında, 700 watt'lık ısıda ısıtılmıştır. Aynı işlem 5'er dakikalık olmak üzere 3 defa yapılmıştır. İşlem sonunda sitrat buffer solusyonu içerisindeki kesitler 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmıştır.

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (sodyum klorür (Merck,1.064.0100) 7,2 g, di-sodyum hidrojen fosfattan (Merck,1.06586.0500) 1,48 g, sodyum dihidrojen fosfat monohidrat (Merck, 1.06346.0100) 0,43 g) ile yıkanan kesitler endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için dokular %3'lük hidrojen peroksit (6 ml hidrojen peroksit + 64 ml distile su) (Merck 1.08600.1000) solusyonunda 10 dakika inkübe edilmiştir.

- PBS solusyonundan çıkarılan dokuların etrafı iyice kurulandıktan sonra üzerlerine spesifik olmayan protein bağlanmasını önlemek için kit içindeki serum damlatılmıştır. Protein bloklama solusyonu olarak (Zymed, 85-6743) Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'inbloklama solusyonu kullanıldı.

- Daha sonra kesitlerin üzerine primer antikor damlatılmış ve kesitler gece boyunca + 4 °C'de tutulmuştur. Negatif kontrol grubu dokularında ise sadece PBS solusyonu kullanılmıştır.

- Yıkama işleminin ardından kesitlere biotinlenmiş sekonder antikor damlatılmış ve yıkama işleminden sonra streptavidin-horseradish peroksidaz kompleksinde inkübe edilmiştir (Streptavidin Peroksidaz, Zymed, 85-6743 kod

numaralı Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'in HRP-Streptavidin biotin peroksidaz).

- Son aşamada ise, kromojen (Zymed, 31079800) olarak 3,3'-diaminobenzidin (DAB) kullanılmış olup preparatlar hematoksilen ile zıt boyanmış ve entellan ile kapatılmıştır.

3.8. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal boyamadan sonra, tüm deney gruplarına ait dalak dokularında VEGF'in boyanma yoğunluğu semi-kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan preparatlar; Nikon E-80İ araştırma mikroskobu altında ve Nikon digital-sight görüntüleme sistemi ile incelenip fotoğraflanmıştır. İmmünohistokimyasal değerlendirme şu şekilde yapılmıştır: taranan alanda pozitif hücre yok (–), 1-2 hücre ($\pm$), 3-4 hücre (+), 5-6 hücre (++) ve 7 ve daha fazla hücre (+++) (Ertuğrul vd., 2021).

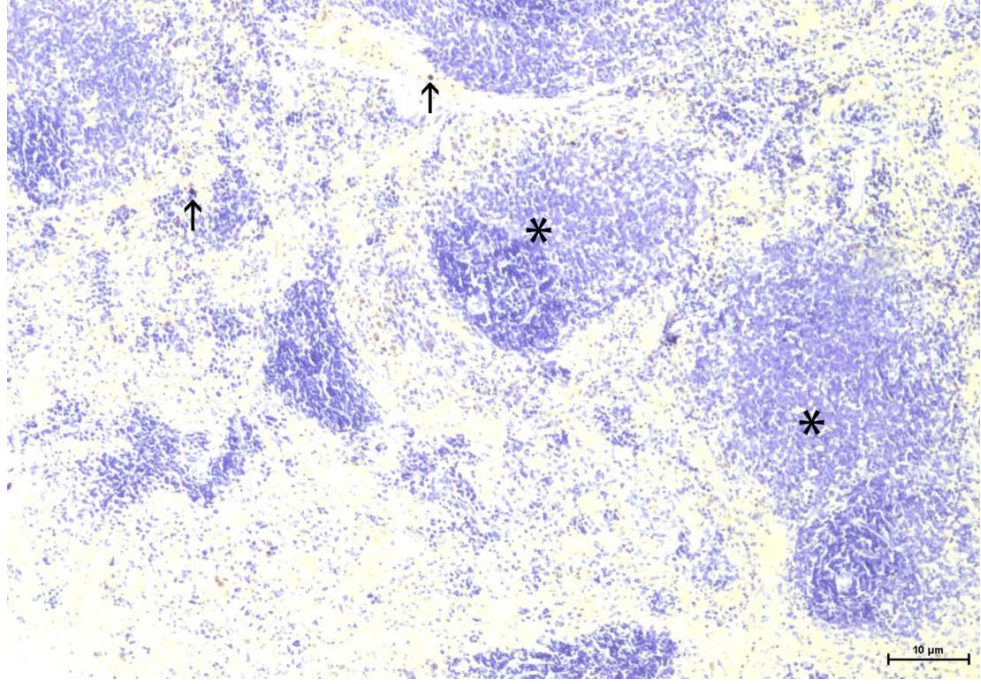
3.9. İstatistiksel Analiz

Tez çalışması kapsamında, gruplar arasındaki MH sayılarının karşılaştırılmasında SPSS paket programı kullanılmıştır. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart hata (ort $\pm$ SH) olarak gösterilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve grup içi farklılıkların belirlenmesinde ise Duncan testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir (John, 1971).

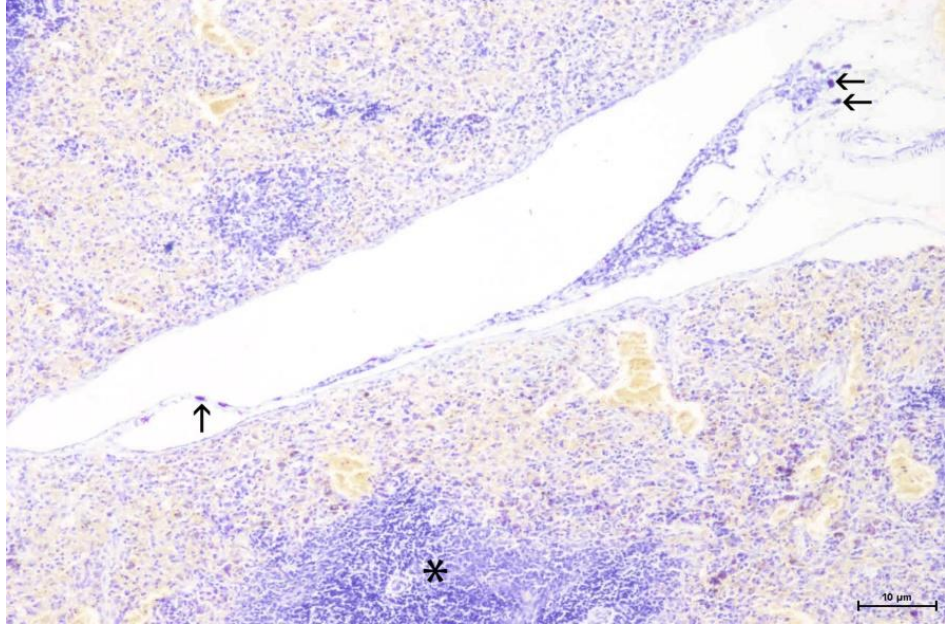
4. BULGULAR

4.1. Histokimyasal bulgular

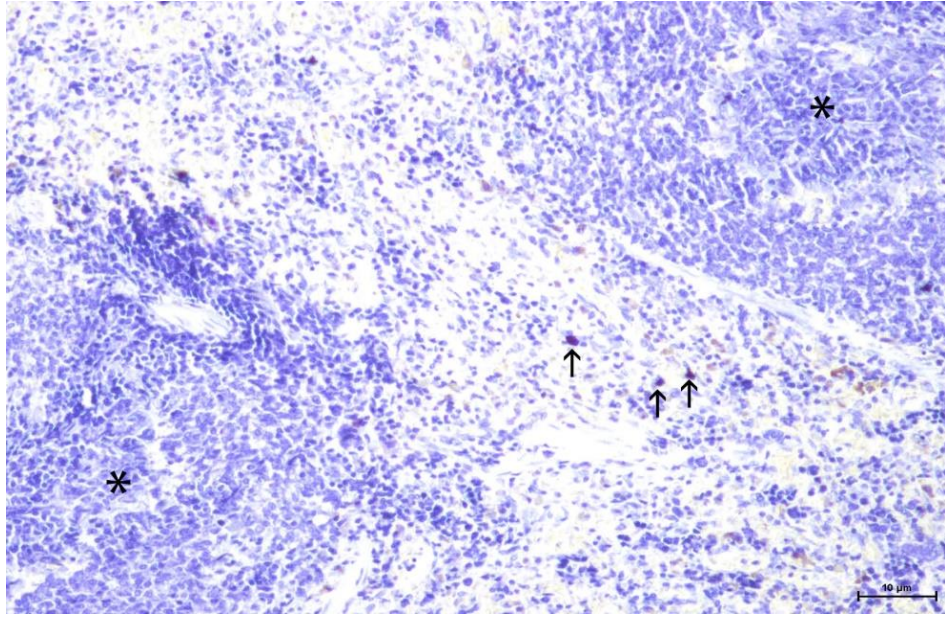
Işık mikroskopik incelemede dalaktaki MH' lerin toluidin mavisi ile metakromatik olarak boyandığı ve granüllerinin tek tek seçilemediği belirlendi. Hücrelerin çekirdeklerinin çoğu hücrelerde granüller tarafından örtülmüş olduğu görüldü.



Şekil 4.1. Kontrol grubu dalak, toluidin blue 10'luk objektif Ok: mast hücresi, *: beyaz pulpa

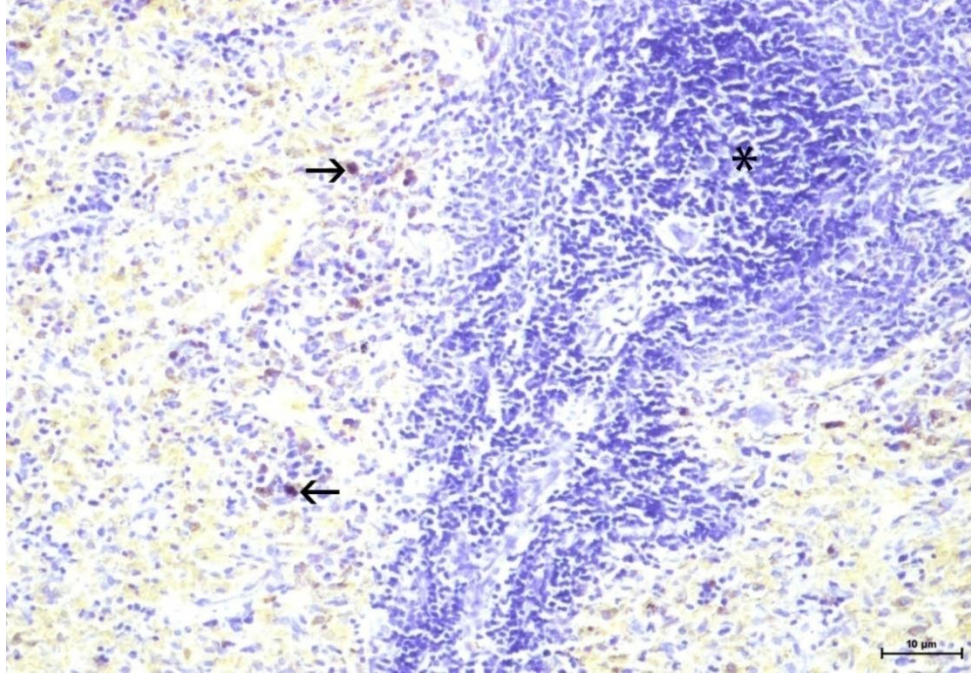


Şekil 4.2. Kontrol grubu dalak, toluidin blue 20'lik objektif. Ok: mast hücresi, *: beyaz pulpa



Şekil 4.3. *S. nigra* grubu dalak, toluidin blue 10'luk objektif. Ok: mast hücresi, *: beyaz pulpa

Tüm gruptaki MH'ler arasında morfolojik farklılık gözlenmedi ve hücrelerin farklı irilikde yuvarlak ve oval şekillilik gösterdiği saptandı. MH'lerin dalaktaki yerleri incelendiğinde, özellikle kan damarlarının çevresinde bulundukları kırmızı pulpa sinüslerinde lokalize olmaları dikkat çekiciydi.



Şekil 4.4. *S. nigra* grubu dalak, toluidin blue 20'lik objektif. Ok: mast hücresi, *: beyaz pulpa

Ayrıca subkapsüler alanda MH'lere daha az sayıda rastlandı. Dalağın beyaz pulpasında en düşük sayıda MH görüldü. Çalışmamızda beyaz pulpadaki lenf foliküllerinde tek tek yerleşen MH'ler kırmızı pulpada daha çok gruplar halinde görüldü. Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde en az sayıda MH kontrol grubunda tespit edildi. Diyabet, *S. nigra* ve diyabet + *S. nigra* gruplarındaki MH sayısındaki değişim istatistiksel olarak anlamlıydı ($P<0.001$).

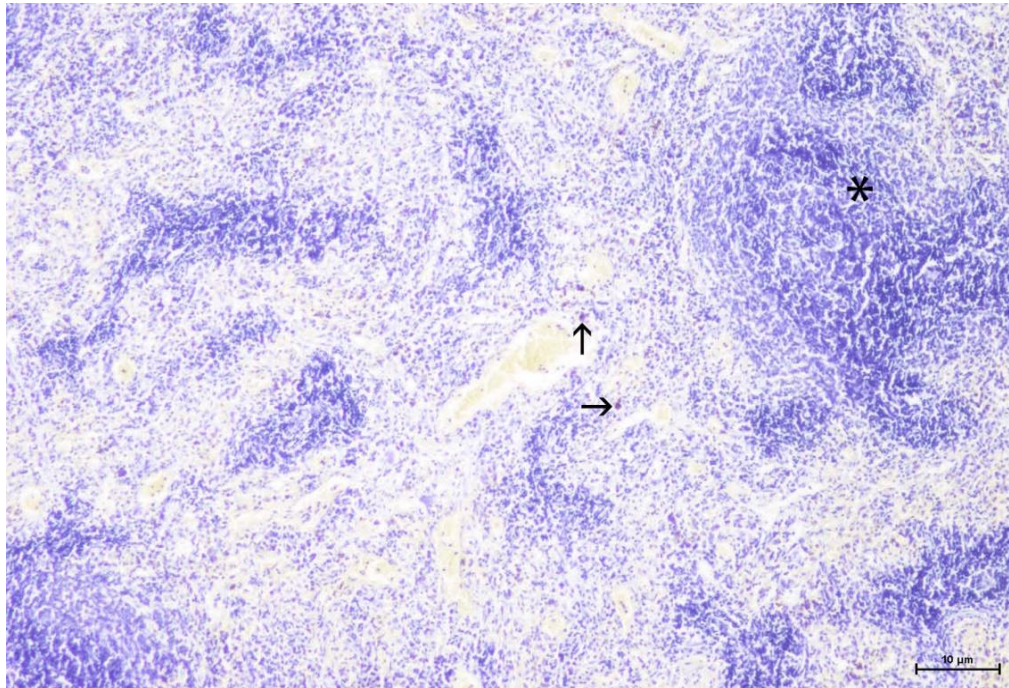
Tablo 4.1. Dalak dokusunda toluidin mavisi ile boyama sonrası mast hücre sayıları

Grup	Mast hücre sayısı ($\times \pm Sx / mm^2$)	Minimum	Maksimum
Kontrol Grubu	20.45 $\pm$ 0.73 ^a	17.20	21.40
Diyabet Grubu	30.52 $\pm$ 0.93 ^c	26.40	32.40
<i>S. nigra</i> Grubu	23.60 $\pm$ 0.71 ^b	20.20	25.20
Diyabet + <i>S. nigra</i> Grubu	24.72 $\pm$ 1.17 ^b	21.20	26.60
P	***		

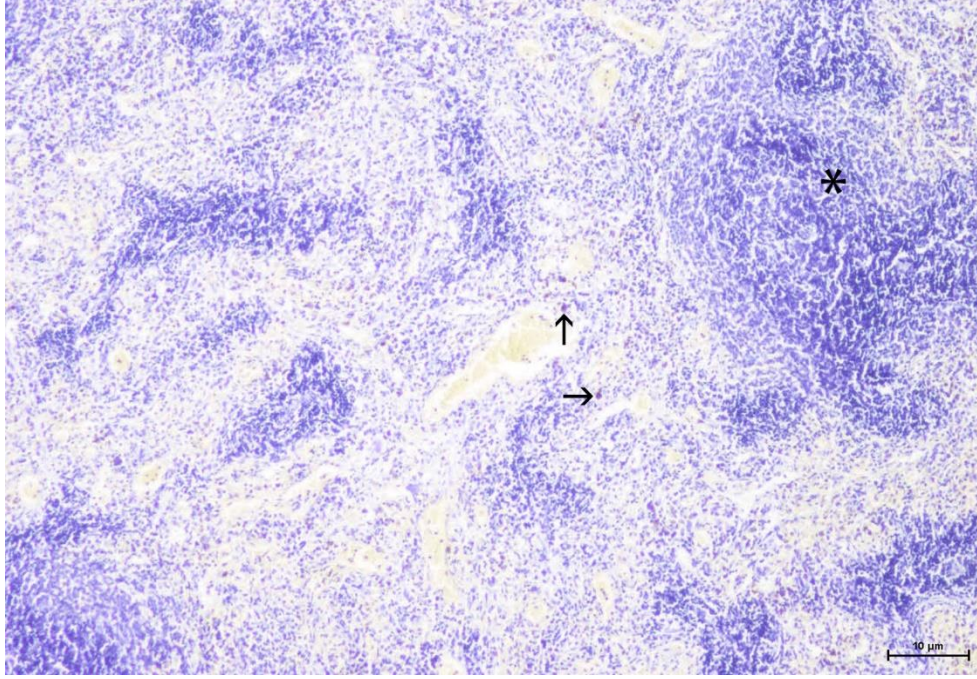
a, b, c: Sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar önemli ölçüde farklılık gösterir(P < 0,5).

***: P < 0.001

En fazla sayıdaki MH diyabet grubunda gözlemlendi.

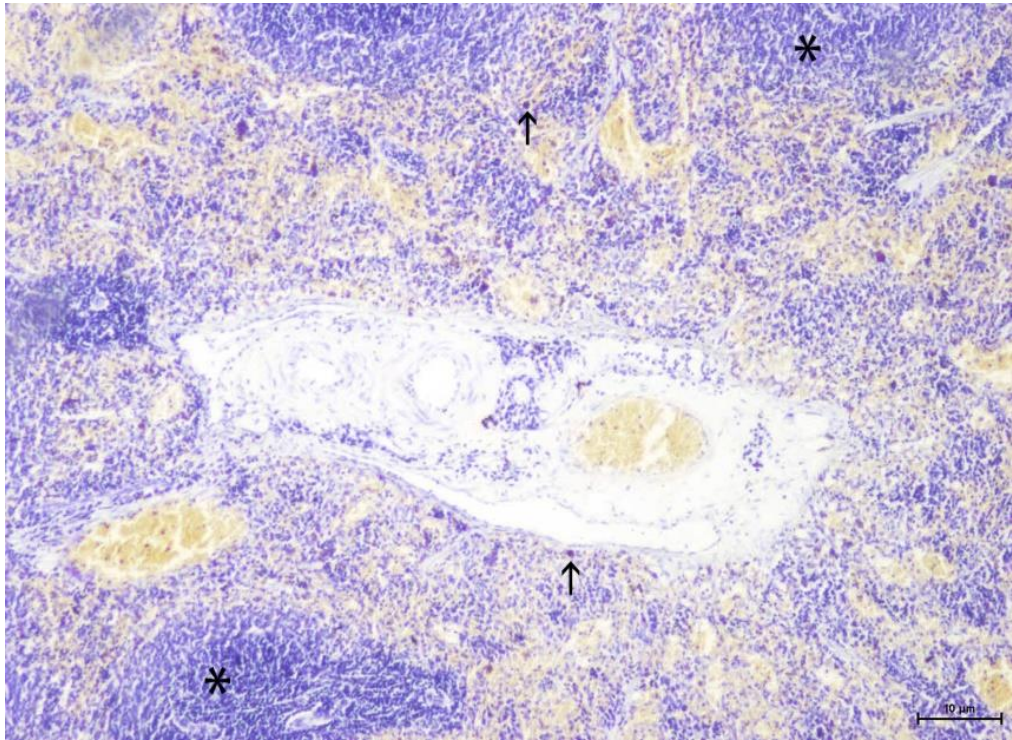


Şekil 4.5. Diyabet grubu dalak, toluidin blue 10'luk objektif. Ok: mast hücresi, *: beyaz pulpa

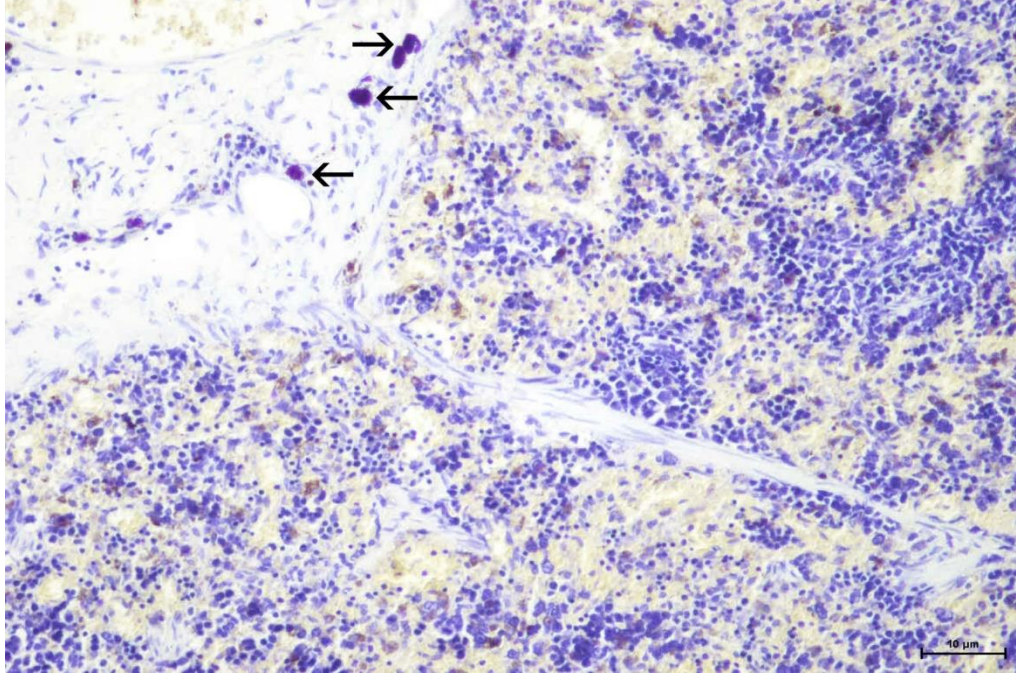


Şekil 4.6. Diyabet grubu dalak, toluidin blue 20’lik objektif. Ok: mast hücresi, *: beyaz pulpa

S. nigra ve diyabet + *S. nigra* gruplarındaki MH sayılarının birbirine yakın olduğu belirlendi. Araştırmamızda dikkat çeken bulgu olarak diyabetli ratlara *S. nigra* uygulamasının MH sayısında önemli ölçüde azalmaya neden olduğu saptandı.



Şekil 4.7. Diyabet + *S. nigra* grubu dalak, toluidin blue 10’luk objektif. Ok: mast hücresi, *: beyaz pulpa



Şekil 4.8. Diyabet + *S. nigra* grubu dalak, toluidin blue 20'lik objektif. Ok: mast hücresi

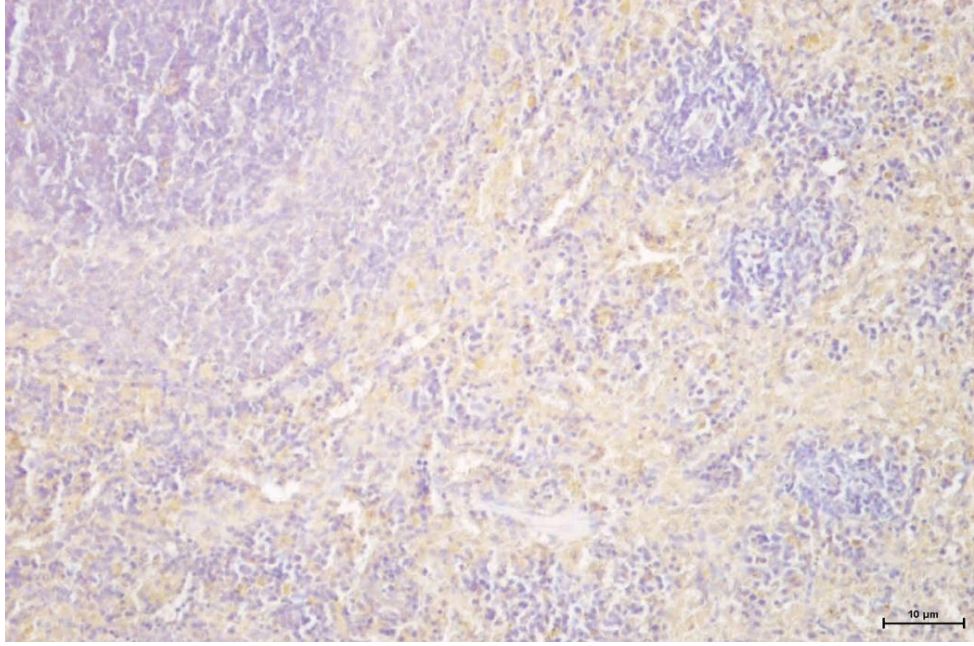
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

İmmunohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu tüm gruplara ait dalak preparatlarına bakılarak yapıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirme taranan alanda pozitif hücre yok (–), 1-2 hücre (±), 3-4 hücre (+), 5-6 hücre (++) ve 7 ve daha fazla hücre (+++) arasında değerler verilerek yapıldı.

Tablo 4.2. Farklı grupların dalak dokusunda VEGF pozitif hücre reaksiyonu

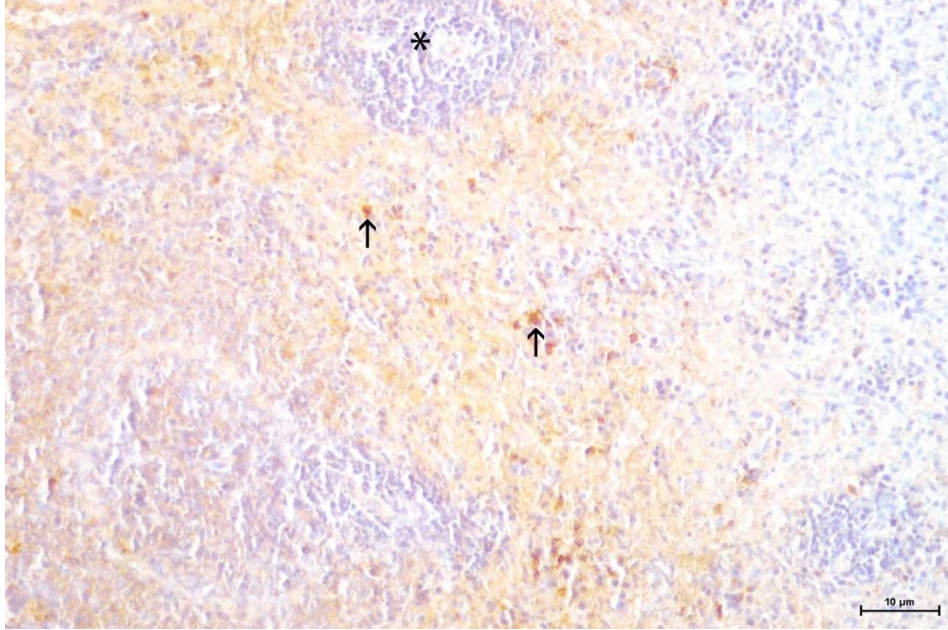
Grup	VEGF pozitif hücre sayısı
Kontrol Grubu	++
Diyabet Grubu	+++
<i>S. nigra</i> Grubu	++
Diyabet + <i>S. nigra</i> Grubu	++

Negatif kontrol preparatlarında herhangi bir boyanma gözlenmedi.



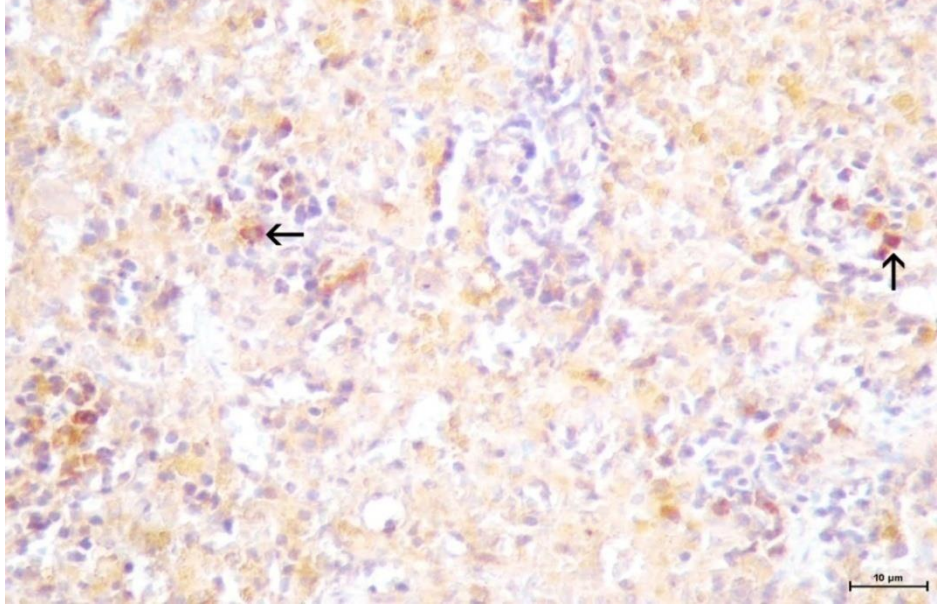
Şekil 4.9. Negatif kontrol grubu preparatı

Gruplara ait preparatlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde VEGF immun pozitif reaksiyon veren hücrelerin farklı irilikde yuvarlak ya da oval şekiller belirlendi.



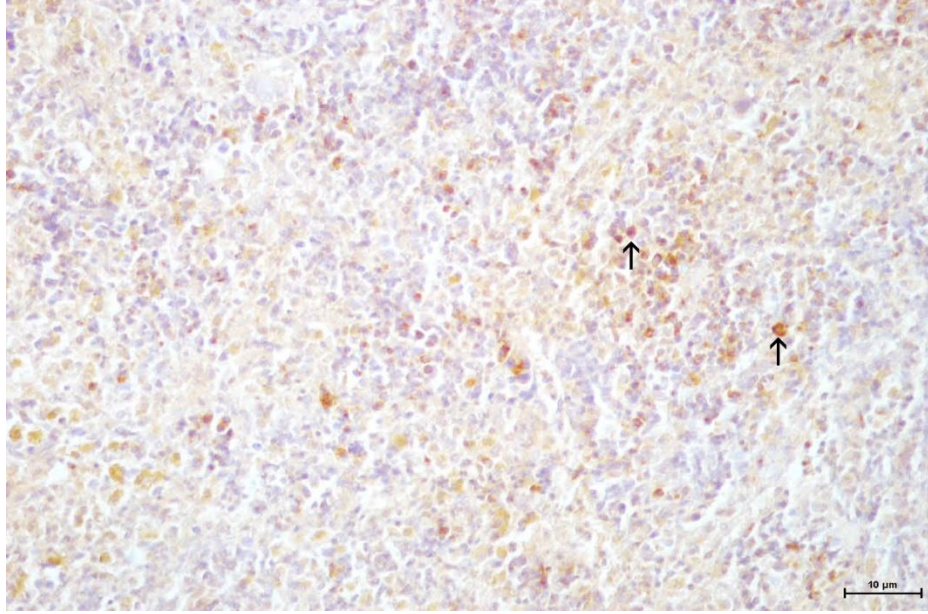
Şekil 4.10. VEGF+ hücrelerin görünümü

Dalağın kapsülü, kırmızı pulpa alanlarındaki lenf folikülleri ve lenfatik kordonlar arasında intrasitoplazmik boyanmış VEGF immun pozitif hücre ekspresyonu görüldü.

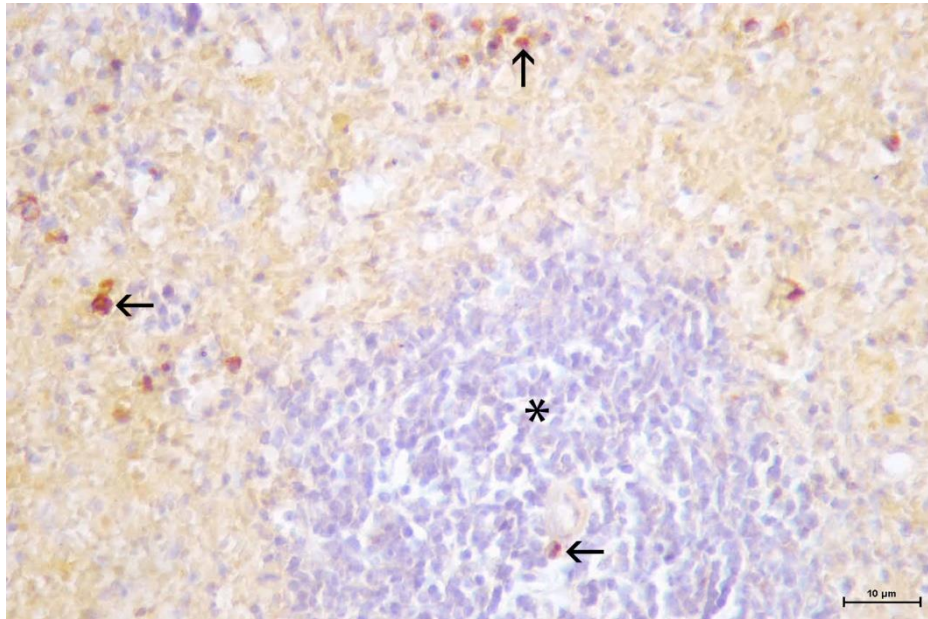


Şekil 4.11. Kırmızı pulpa'da VEGF+ hücre görünümü

Kırmızı pulpada özellikle grup halinde VEGF immun pozitif hücreler gözlendi. Çok nadiren VEGF immun pozitif hücreler dalakta beyaz pulpa alanlarındaki lenf foliküllerinin kenarında bazende lenf folikülünün içinde yer aldığı bulundu.

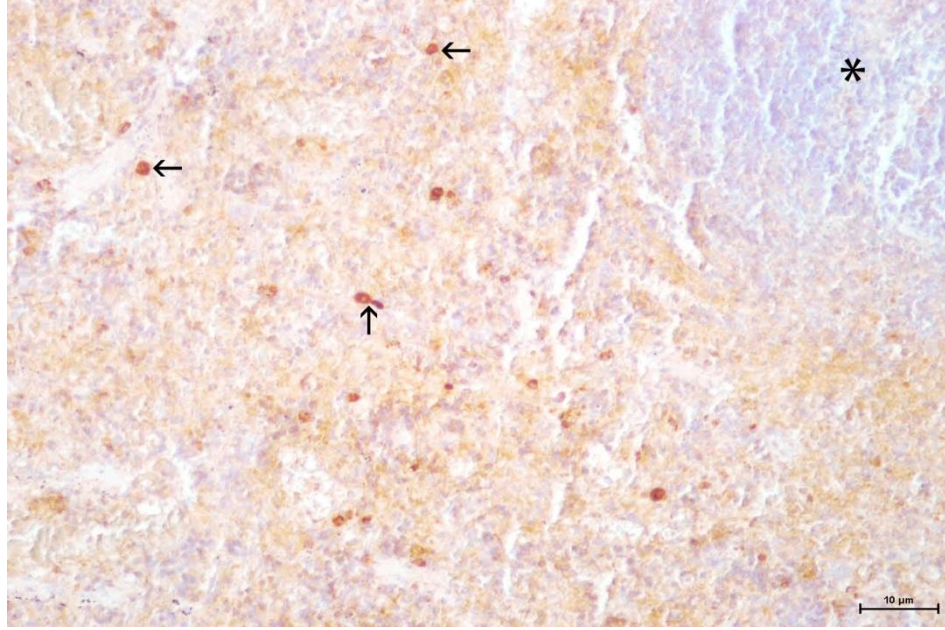


Şekil 4.12. *S. nigra* grubu dalak kırmızı pulpası, VEGF immun boyama 20’lik objektif. Ok: VEGF immun pozitif hücre

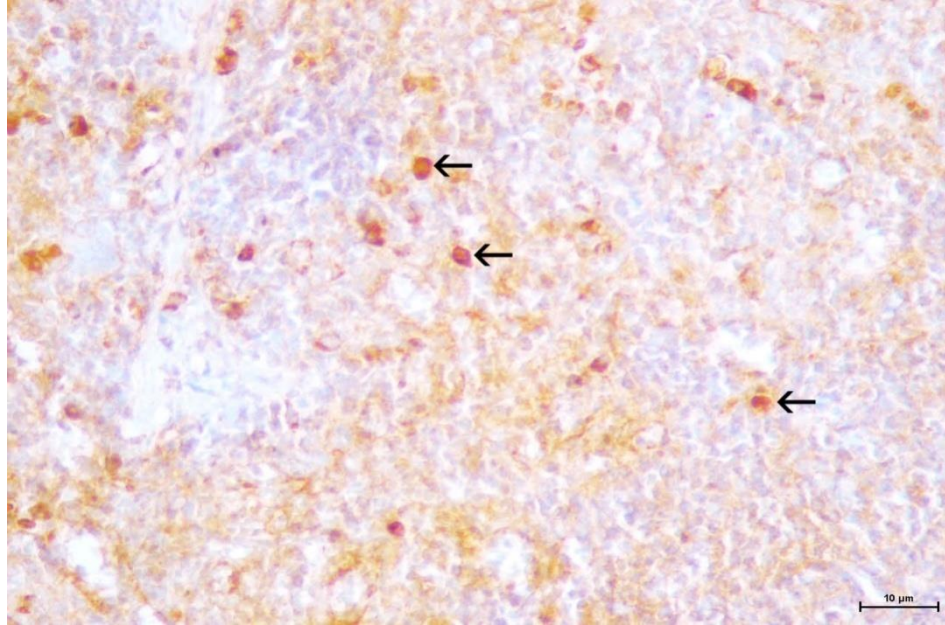


Şekil 4.13. *S. nigra* grubu dalak, VEGF immun boyama 40’lık objektif. Ok: VEGF immun pozitif hücre, *: beyaz pulpa

Grupları kendi aralarında ayrıntılı olarak değerlendirdiğimizde ise sadece diyabet grubunda immun pozitif VEGF hücrelerin sayıca arttığı saptandı.

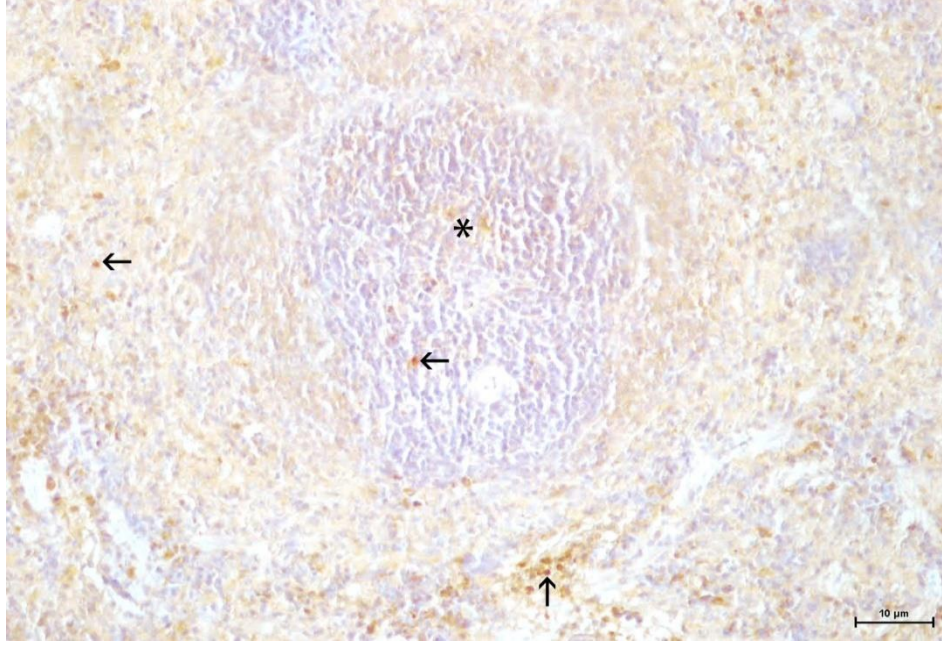


Şekil 4.14. Diyabet grubu dalak, VEGF immun boyama 20’lik objektif. Ok: VEGF immun pozitif hücre, *: beyaz pulpa

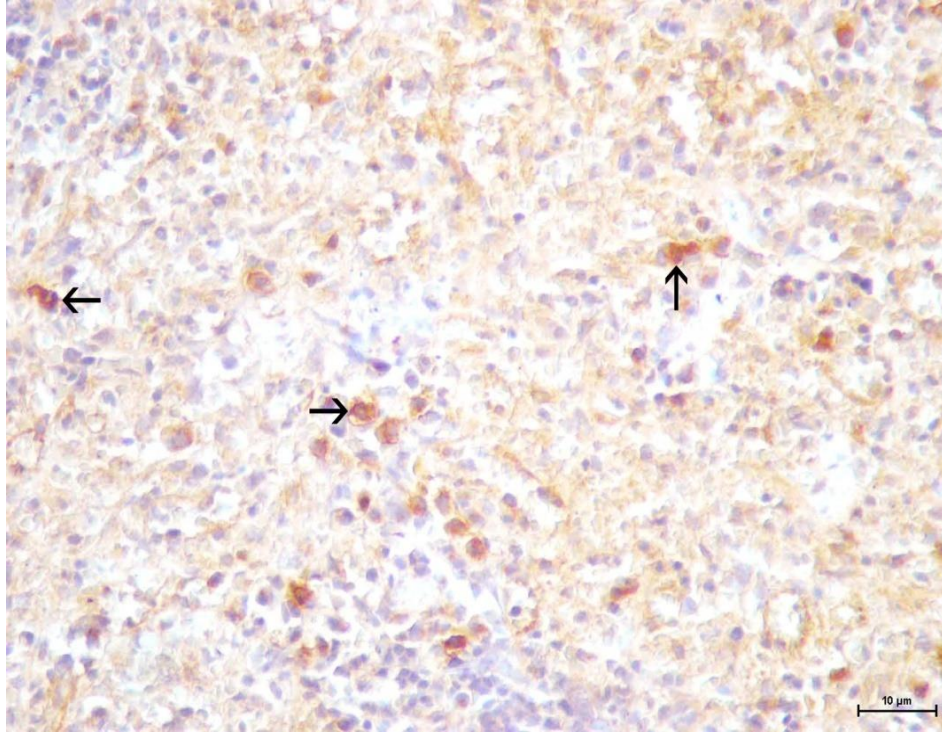


Şekil 4.15. Diyabet grubu dalak kırmızı pulpası, VEGF immun boyama 40’lık objektif. Ok: VEGF immun pozitif hücre

VEGF ekspresyonunun kontrol grubu, *S. nigra* grubu ve diyabet + *S. nigra* grubunda birbirlerine benzer olduğu tespit edildi. Çalışmamızda dikkat çeken bir bulgu olarak *S. nigra* uygulamasının diyabetik ratlarda immun pozitif VEGF hücre sayısında azalmaya neden olduğu saptandı.



Şekil 4.16. Diyabet + *S. nigra* grubu dalak, VEGF immun boyama 20'lik objektif. Ok: VEGF immun pozitif hücre, *: beyaz pulpa



Şekil 4.17. Diyabet + *S. nigra* grubu dalak kırmızı pulpası, VEGF immun boyama 40'lık objektif. Ok: VEGF immun pozitif hücre

5. TARTIŞMA

MH'leri, patojen temizleme, tümör bağışıklığı ve otoimmün hastalıklar gibi çeşitli bağışıklık süreçlerinde pro- veya anti-inflamatuar rollerde işlev görebilen önemli hücreler olarak görülmektedir (Kumar ve Sharma, 2010). Ayrıca bazı çalışmalarda deneysel hayvan modellerinde MH'lerin obezite ve diyabeti önleyebileceği bildirilmiştir (Sismanopoulos vd., 2012). Bir diğer çalışmada diyabetli hastaların dolaşımında IgE seviyesinde artış olduğu gözlenmesi, MH'lerin IgE aracılı aktivasyonunun diyabetin patogeneğinde rol oynayabileceğini de düşündürmektedir (Svensson vd., 2012). Ratlarda STZ uygulandıktan sonra oral mukoza ve dilin tüm katmanlarında kontrol dokusuna kıyasla, özellikle kan damarlarının çevresinde ve lamina propriada önemli ölçüde artan MH gözlendiği bildirilmiştir (Batbayar vd., 2003). Deneysel diyabetin sıcan kalp dokusunda meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine Aminoguanidin iyileştirici etkilerinin incelendiğinde, çalışmada MH'lerin sayısının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede artmış olduğu saptanmıştır. Aminoguanidin ile tedavi edilen grupta ise MH sayısında belirgin azalma görüldüğü bildirilmiştir (Çetin vd., 2013). Deneysel bir çalışmada kontrol grubuna kıyasla diyabet grubunun mezenterinde MH sayılarında artış belirlenmiştir. Araştırmada toplam MH sayısının diyabetik sıçanlarda en yüksek olduğu bulunurken, antialerjik bir ilaç olan tranilast verilen diyabet grubunda MH sayısında bir azalma saptanmıştır (Jones vd., 2004). Martino ve arkadaşlarının 2015 yılında insan pankreas doku örneklerinde yaptıkları çalışmalarında Tip 1 diyabetli donörlerden alınan numunelerde, diyabeti olmayan donörlerden alınan örneklerle kıyasla, daha fazla sayıda MH'nin pankreas adacıklarına sızdığını bildirmiştir (Martino vd., 2015). Başka bir deneysel çalışmada ise MH aktivasyonunu araştırdıkları deneysel çalışmalarında diyabetli ratlara insülin uygulamıştır. Bu çalışmada diyabet grubunda akciğerde MH sayısında artış gözlendiğini, insülin eklenmiş grupta ise akciğerde MH'lerinin azaldığını ortaya koymuştur (Cavalher-Machadove vd., 2004).

MH eksikliği olan fare (W/W^v) ve adaptif transfer edilmiş MH'leri kullanılarak streptozotosinin neden olduğu diyabetde MH'lerin rolünü araştırılmıştır. MH eksikliği olan farelerde şiddetli insülit geliştiği ve hipergliseminin hızlandığı, farelerin %100'ünün sağlıklı farelere kıyasla diyabetik hale geldiği saptanmıştır. Ayrıca, STZ uygulamasından önce MH adaptif transferinin, diyabete direnç

kazandırdığı gözlenmiştir (Daniela vd., 2015). Genel olarak diyabetin enfeksiyona yatkınlığı ve şiddetli inflamasyonu arttırdığı kabul edilmektedir (Ozsoy vd., 2005). Bu tez çalışmasında yukarıda bahsedilen araştırmalarla paralel olarak diyabet modeli oluşturulmuş ratların dalak dokusunda MH sayısında artış görülmüştür. Bu artışın inflamatuvar ve bağışıklık süreçlerinde rol oynayan ilk hücre gruplarından olan MH'lerin diyabetin yol açabileceği olumsuz etkilerin önlenmesinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

VEGF, vasküler endotel hücrelerinin çoğalmasını, farklılaşmasını ve göçünü indükleyen güçlü bir düzenleyici sitokin olarak kabul edilir (Rajendra vd., 2019). VEGF'nin, birçok organda diyabet kaynaklı bozukluklara aracılık etmede merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir; aynı zamanda glikoz seviyelerini de etkileyerek diyabetik komplikasyonlara neden olabileceği bildirilmiştir (De Vriese vd., 2001). VEGF, hipergliseminin neden olacağı oksidatif stres ile aktive olup ekspresyonu artabilen anjiyojenik bir faktördür (Özdemir vd., 2014). Diyabette erken doku fonksiyon bozukluğunun patofizyolojisinde VEGF'nin rolünü araştırmak için, STZ ile indüklenen diyabetik ratlar monoklonal anti-VEGF antikoru ile tedavi edilmiş, sonuç olarak VEGF'nin inhibisyonunun, diyabetin neden olabileceği doku hasarını azalttığı gözlenmiştir (De Vriese vd., 2001). Mıcılı ve arkadaşlarının deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda diyabetik gruplarda glomerüler ve tübüler alanda VEGF ekspresyonunda artışı ayrıca tedavi amaçlı lipoik asit + diyabet grubunda ise VEGF ekspresyonunda azalma olduğunu gözlemlemiştir (Mıcılı, 2012). Diyabetik retinopatili ratlarda retinanın katmanlarında VEGF ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, melatonin ile tedavi edilen diyabet gruplarının retinalarında VEGF ekspresyonunun zayıfladığı ortaya çıkarılmıştır (Maria Ferreira vd., 2020). Olanzapinin dalak yapıları üzerindeki etkisi ve bağışıklık sisteminin optimum işlevi için gerekli olan C vitamininin koruyucu etkisi ratlarda araştırılmıştır. C vitamini grubunda, kontrol grubuna benzer bir immüno pozitif reaksiyon gözlenmiştir. Olanzapin ile tedavi edilen grup dalaklarında VEGF ekspresyonunda belirgin bir artış olduğunu saptanmıştır. Olanzapin ve C vitamini ile tedavi edilen grup kesitlerinde ise olanzapine kıyasla immüno pozitifliğin azaldığını ortaya koymuştur (Youssef ve Salah, 2019). Çalışmamızda diyabet grubunda artış gösteren VEGF ekspresyonunun *S. nigra* uygulaması ile azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca *S. nigra*'nın VEGF immün pozitif hücrelerine doğrudan bir etkisi olmadığı belirlendi.

Buna bağılı olarak, bu sonuçlar Sambucus nigra'nın diyabete bağılı gelişen VEGF ekspresyonu kaynaklı olası hücre hasarlarının hafifletebileceğini göstermektedir.

Mast hücrelerinin anjiyogenez bölgelerinde sayısal olarak artış gösterdiği ve granüllerinden salgılanan histamin, temel fibroblast büyüme faktörü, VEGF, heparin ve triptaz gibi ürünlerinin anjiyogenezi teşvik ettiği bildirilmiştir (Crivellato vd., 2010). İnsan Dang Hummasında sağlıklı bireylere oranla MH sayısında ve VEGF'nin ve MH'ye özgü proteazlar olan triptaz ve kimaz düzeylerinin dolaşımında önemli ölçüde artış gösterdiği bildirilmiştir (Furuta vd., 2012). Liand ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, toluidin mavisi ile boyanan kesitlerde pterjium sendromunda normal konjiktavaya kıyasla mast hücresi sayısında artış saptamıştır. Ayrıca çift immün boyama yöntemi kullanılarak, triptaz MH'lerin ve VEGF'nin aynı hücreden eksprese edildiğini göstermiştir (Liang vd., 2012). Ağız mukozasında yapılan çalışmada lökoplaki lezyonlarından alınan doku örnekleri ile normal ağız dokusundan alınan doku örnekleri karşılaştırıldığında, lezyonlu bölgelerde MH sayısında ve VEGF ekspresyonunda paralel artış olduğu saptanmıştır (Michailidou vd., 2012). STZ ile yapılan bir çalışmada diyabet oluşturulan rat gruplarında sağlıklı kontrol gruplarına oranla hem MH sayısında hem de VEGF ekspresyonunda artış görüldüğü gözlenmiştir (Nishikori vd., 2014). Ratlarda deneysel diyabet ile elde edilen sonuçlara göre, diş etinde diyabetin MH'lerin sayısını önemli ölçüde arttırdığı gözlenmiş ve aynı zamanda bu MH'lerden salgılanan VEGF ekspresyonunda da arttığı saptanmıştır (Gyurkovics vd., 2016). Bu bulgular, mast hücrelerinin VEGF lerin hem kaynağı hem de hedefi olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, dokularda özellikle damarların çevresinde ve dış ortama yakın stratejik olarak yerleşen mast hücrelerinin, VEGF sitokin ekspresyonuna sahip olması, anjiyojenik ve doku savunmasında potansiyel özelliklere sahip olabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde, kontrol grubuna kıyasla diğer grupların dalak dokusunda MH sayısında artış görülmüştür. Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında ise *S. nigra* uygulamasına bağlı olarak diyabet + *S. nigra* grubunda MH sayısında anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular inflamatuvar ve bağışıklık süreçlerinde rol oynayan ilk hücre gruplarından olan MH'lerin diyabetin yol açabileceği olumsuz etkilerin önlenmesinde önemli bir rol oynayabileceği sonucunu destekler niteliktedir. Ayrıca *S. nigra* grubunda MH artışının gözlenmesi *S. nigra*'nın dalak ve immunmodülasyon mekanizma üzerine olumlu etkiler yaptığını akla getirmektedir.

Dalak dokusunda diyabetle birlikte artış gösteren VEGF immun pozitif hücrelerin *S. nigra* uygulaması ile azaldığı saptanmıştır. Bu bulguya dayanarak *S. nigra*'nın dalakta diyabetin sebep olacağı VEGF ekspresyonunu düzenleyerek, VEGF'nin aracılık edebileceği olası doku fonksiyon bozukluklarının etkilerini azaltabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda dikkat çekici diğer bir nokta ise *S. nigra* uygulaması ile, diyabet ile artış gösteren MH ve immun pozitif VEGF hücrelerinin sayısında paralel olarak azalma saptanmış olmasıdır. Hücreler, sitokinler ve diğer inflamatuvar etmenler arasındaki karmaşık etkileşimlerin, birçok hastalığın etiyolojisinde rol oynadığı bilinmektedir. Bu noktada *S. nigra*'nın immun sistem mekanizmaları ve hücreler üzerindeki etkiliğinin olabileceği ve ayrıca diyabet gibi metabolik hastalıkların destek tedavisinde dolaylı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Achen, M.G. and Stacker, S.A. (1998). The VEGF family; proteins which guide the development of the vasculature. *Int Exp Path.* 79, 255-265.
- Acıbuca, V. ve Budak, D.B. (2018). Dünya’da ve Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi.* 33(1), 37-44.
- Ahmadiani, A., Fereidoni, M., Semnanian, S., Kamalinejad, M., Saremi, S. (1998). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Sambucus ebulus rhizome extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 61(3), 229-235.
- Akerele, O. (1992). WHO Guidelines for assessment of herbal medicines. *Fitotereapia.* 63, 99-110.
- Altuntaş, Y. (2001). Diabetes Mellitus’un tanımı, tanısı ve sınıflaması. M. Yenigün (ed.). *Her yönüyle diabetes mellitus*, (s. 51-63). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- American Diabetes Association. (2014). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care.* 37(1), 14-80.
- Aoshi, T., Zinselmeyer, B.H., Konjufca, V., Lynch, J.N., Zhang, X., Koide, Y., Miller, M.J. (2008). Bacterial entry to the splenic white pulp initiates antigen presentation to CD8+ T cells. *Immunity.* 29(3), 476-486.
- Artico, M., Iannetti, G., Leali, F.M.T., Malinovsky, L., Cavallotti, C. (1998). Nerve fibers-mast cells correlation in the rat parietal pleura. *Respir Physiol.* 113(2), 181–188.
- Batbayar, B., Zelles, T., Vér, A., Fehér, E. (2003). Immunohistochemical analysis of substance P containing nerve fibres and their contacts with mast cells in the diabetic rat's tongue. *Acta Biologica Hungarica.* 54(3-4), 275-283.
- Baytop, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul: Nobel Tıp Kitap evleri.
- Baytop, T. (1994). Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Ankara: Türk Dil Kurumu Yayınları.
- Baytop, T. (1963). Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri. İstanbul Üniversitesi Yayınları.
- Blumenthal, M., Busse, W.R. (1998). *The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines.* Austin, Texas: Boston: American Botanical Council.
- Chan, S.J., Steiner, D.F. (2000). Insulin Through the Ages: Phylogeny of a Growth Promoting and Metabolic Regulatory Hormone. *Am Zool.* 40, 213–222.
- Chen, W., Alley, M.R., Manktelow, B.W., Slack, P. (1990). Mast cells in the bovine lower respiratory tract: Morphology, density and distribution. *Br Vet J.* 146(5), 425-435. doi:10.1016/0007-1935(90)90031-W.
- Citores, L., De Benito, F.M., Iglesias, R., Ferreras, J.M., Jimenez, P., Argüeso, P., Farias, G., Mendez, E., Girbes, T. (1996). Isolation and characterization of a new nontoxic two-chain ribosome-inactivating protein from fruits of elder (Sambucus nigra L.). *J. Exp. Bot.* 47(303), 1577-1585.
- Clauss, M. (2000). Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost.* 26, 561-569.
- Colberg, S.R. (2006). The impact of exercise on insulin action in type 2 diabetes mellitus: Relationship to prevention and control. *Insulin.* 1(3), 85– 98.
- Cristina, B., Daniela-rodica, M., Corina, T., Maria, P., Camelia, L., Ioana, C., Pompei, B., Luminița, D., Simona, C., Gabriela, A.F., Mariana, M., Otilia, M. (2021). Vitis Vinifera and Sambucus nigra extracts Attenuate Oxidative Stress and Inflammation In Femoral Ischemia. *Farmacia.* 69(1).

- Crivellato, E., Travan, L., Ribatti, D. (2010). Mast cells and basophils: a potential link in promoting angiogenesis during allergic inflammation. *International Archives of Allergy and Immunology*. 151, 89–97.
- Cross, P.C., Mercer, K.L. (1998). *Cell and Tissue Ultrastructure: a Functional perspective*. New York: W.H. Freeman.
- Çetin, A., Vardı, N., Orman, D. (2013). Deneysel diyabetin sıçan kalp dokusunda meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine aminoguanidinin iyileştirici etkileri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*. 1, 17-26.
- Dandona, P., Ghanim, H., Bandyopadhyay, A., Korzeniewski, K., Ling Sia, C., Dhindsa, S., Chaudhuri, A. (2010). Insulin suppresses endotoxin-induced oxidative, nitrosative, and inflammatory stress in humans. *Diabetes Care*. 33(11), 2416-2423.
- Carlos, D., Yaochite, J.N.U., Rocha, F.A., Toso, V.D., Malmegrim, K.C.R., Ramos, S.G., Jamur, M.C., Oliver, C., Camara, N.O., Andrade, M.V.M., Cunha, F.Q., Silva, J.S. (2015). Mast cells control insulinitis and increase Treg cells to confer protection against STZ-induced type 1 diabetes in mice. *Eur. J. Immunol*. 45, 2873–2885.
- David, GG, Shoback, D. (2009). *Greenspan's Lange Temel ve Klinik Endokrinoloji*. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri.
- David, Z.W., Mabel, F., Cavicchia, J.C. (2010). Distribución de los mastocitos en las glándulas salivales mayores de rata. *Acta odontol*. 48(1), 1-9.
- Davis, P.H., Chamberlain, D.F., Matthews, V.A. (1978). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Pres.
- Dawidowicz, A.L., Wianowska, D., Baraniak, B. (2006). The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). *LWT*. 39, 308-315.
- De Vriese, A.S., Tilton, R.G., Elger, M., Stephan, C.C., Kriz, W., Lameire, N.H. (2001). Antibodies against vascular endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 12, 993-1000.
- Dvorak, A.M., McLeod, R.S., Onderdonk, A.B., Monahan-Earley, R.A., Cullen, J.B., Antolioni, D.A., Morgan, E., Blair, J.E., Estrella, P., Cisneros, R.L., Cohen, Z., Silen, W. (1992). Human gut mucosal mast cells: Ultrastructural observations and anatomic variation in mast cell-nerve associations in vivo. *Int. Arch. Allergy Immunol*. 98, 158-168.
- Michailidou, E.Z., Markopoulos, A.K., Antoniadis, D.Z. (2012). VEGF expression from human dysplastic or malignant oral epithelium may be related to mast cell density and the subsequent angiogenetic phenomena. *Int J Oral Maxillofac Surg* 41(12), 1467-1473.
- Ercan, F., Çetinel, Ş. (2008). Mast hücrelerinin enflamasyondaki rolü: İnsan ve deneysel hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmaların değerlendirilmesi. *Marmara Medical Journal*. 21, 179-186.
- Ertuğrul, T., Tütüncü, Ş., Özdemir, B., Delice, N. (2021). Possible effect of thymoquinone on mast cell number and chymase, IL-4, IFN- γ expression in rat spleen. *Med Weter*. 77(10), 484-490.
- Ferrara, N., Houck, K., Jakeman, L., Leung, D.W. (1992). Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocr Rev*. 13(1), 18-32.
- Flier, J.S. (1992). Lilly Lecture: syndromes of insulin resistance. From patient to gene and back again. *Diabetes*. 41, 1207-1219.

- Özdemir, G., Ergun, Y., Bakariş, S., Kılınç, M., Durdu, H., Ganiyusufoglu, E. (2014). Melatonin prevents retinal oxidative stress and vascular changes in diabetic rats. *Eye*. 28, 1020–1027.
- Gelincik, A. (2001). Ot polenine duyarlı mevsimsel alerjik rinitli hastalarda; mevsim içi kan ve nazal eozinofil, serum ve nazal ecp, triptaz değerlerinin mevsim dışı devreler ve kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim dalı. İstanbul.
- Galli, S.J., Dvorak, A.M., Dvorak, H.F. (1984). Basophils and mast cells: morphologic insights into their biology, secretory patterns, and function. *Prog Allergy*. 34(1), 141.
- Galli, S.J., Tsai, M. (2010). Mast cells in allergy and infection: versatile effector and regulatory cells in innate and adaptive immunity. *European journal of immunology*. 40, 1843-1851.
- Gray, A.M., Abdel-Wahab, Y.H., Flatt, P.R. (2000). The traditional plant treatment, *Sambucus nigra* (elder), exhibits insulin-like and insulin-releasing actions in vitro. *J Nutr*. 130(1), 15-20.
- Gurish, M.F., Boyce, J.A. (2006). Mast cells: Ontogeny, homing, and recruitment of a unique innate effector cell. *J Allergy Clin Immunol*. 117(6), 1285-1291.
- Gümüş, E. vd. (2014). T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Türkiye Diyabet Programı 2015-2020. Ankara: Kuban Matbaacılık Yayıncılık.
- Harada, S., Nagy, J.A., Sullivan, K.A., Thomas, K.A., Endo, N., Rodan, G.A., Rodan, S.B. (1994). Induction of vascular endothelial growth factor expression by prostaglandin E2 and E1 in osteoblasts. *J Clin Invest*. 93, 2490-2496.
- Harem, M.K., Liman, N., Alan, E. (2011). Distribution, density and histochemical profiles of the lung mast cells during the post-hatching period of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Research in veterinary science*. 90, 1-8.
- Holgate, S.T. (2000). The role of mast cells and basophils in inflammation. *Clin ExpAllergy*. 30(Suppl.1), 28-32.
- Howland, R.D., Mycek, M.J. (2009). *Lippincott's Illustrated Reviews: Farmakoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- IDF (2019). Diabetes Atlas. Erişim: 18 Ocak 2022, http://www.diabetesatlas.org/IDF_Diabetes_Atlas_8e_interactive_EN/.
- Irani, A.M., Schwartz, L.B. (1990). Neutral protease as indicators of human mast cell heterogeneity. *Monogr Allergy*. 27, 146-162.
- John, P.W.M. (1971). *Statistical Design and Analysis of Experiments*. (1st ed.). New York: Macmillan Company.
- Kachlik, D., Baca, V., Bozdechova, I., Cech, P., Musil, V. (2008). Anatomical terminology and nomenclature: Past, present and highlights. *Surg Radiol Anat*. 30(6), 459–466.
- Kleespies, A., Guba, M., Jauch, K.W., Bruns, C.J. (2004). Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol*. 87, 95-104.
- Kobayashi, H., Ishizuka, T., Okayana, Y. (2000). Human mast cells and basophils as sources of cytokines. *Clin Exp Allergy*. 30(9), 1205-1212.
- Kraal, G., and Janse, M. (1986). Marginal metallophilic cells of the Mouse spleen identified by a monoclonal antibody. *Immunology*. 58, 665–669.
- Krawitz, C., Mraheil, M.A., Stein, M., Imirzalioglu, C., Domann, E., Pleschka, S., Hain, T. (2011). Inhibitory activity of a standardized elderberry liquid extract against clinically-

- relevant human respiratory bacterial pathogens and influenza A and B viruses. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11:16.
- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L. (2003). Robbins Temel Patoloji. (7. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- Kumar, V. and Sharma, A., (2010). Mast cells: emerging sentinel innate immune cells with diverse role in immunity. *Mol Immunol*. 48, 14–25.
- Kun, L., Zhengxuan, J., Bingying Z., Jijia, S., Dake, H., Liming, T. (2012). The expression of vascular endothelial growth factor in mast cells promotes the neovascularisation of human pterygia. *Br J Ophthalmol*. 96(9), 1246-1251.
- Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey). *J. Ethnopharmacol*. 111, 341–364.
- Leung, D.W., Cachianes, G., Kuang, W.J. (1989). Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 246, 1306-1309.
- Lidegran, M., Domeij, S., Forsgren, S., Dahlqvist, A. (1996). Mast cells in the laryngeal mucosa of therat. Effect of compound 48/80 and dexamethasone: a quantitative 76 and immunohistochemical study at the light- and electron-microscopic levels. *Acta Anatomica*. 157, 135-143.
- Mahnke, K., Knop, J., Enk, A.H. (2003). Induction of tolerogenic DCs: ‘you are what you eat’. *Trends Immunol*. 24, 646-651.
- de Melo, M.F., Ferreira, C.G.M., Lima da Silva Souza, E.H., Leone, L., Fabrício, A., de Saa Clovis José, B., Neto, C.L., de Castro, M.V.P., Teixeira, V.W., Teixeira, A.A.C. (2020). Melatonin regulates the expression of inflammatory cytokines, VEGF and apoptosis in diabetic retinopathy in rats. *Chemico-Biological Interactions*. 327.
- Martino, L., Masini, M., Bugliani, M., Marselli, L., Suleiman, M., Boggi, U., Nogueira, T.C., Filipponi, F., Occhipinti, M., Campani, D., Syed, F., Eizirik, D.L., Marchetti, P., de Tata, V. (2015). Mast cells infiltrate pancreatic islets in human type 1 diabetes. *Diabetologia* 58, 2554–2562.
- Mebius, R.E., Kraal, G. (2005). Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol*. 5, 606-616.
- Mehtap B. (2017). Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda egzersizin antioksidan sistem ve bazı kan parametrelerine etkisi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Konya.
- Mıcılı, S., Ergür, B., Özoğul, C., Sarıoğlu, S., Bağrıyanık, A., Tuğyan, K., Pekçetin, Ç., Sönmez, Ü., Tekmen, İ., Erbil, G., Akdoğan, G.G., Özyurt, D., Buldan, Z. (2012). Deneysel Hipertansiyon ve Diyabet Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Böbreğin İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 26(2), 91-101.
- Milan, G., Izabella, N., Csaba, B., Székely, A.D., Dinya, E., Rosivall, L., Lohinai, Z. (2016). Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Has a Regulatory Role in Gingival Venules in Experimental Diabetes. *J Periodontol*. 87(3), e27-34.
- Mogoşanu, G.D., Popescu, F.C., Busuioc, C.J., Pop, O.T., Parvanescu, H., Lascar, I., Mogoanta, L. (2011): The effect of a topical treatment based on Sambuci flos extract in experimental thermal third degree skin burns. *Studia Universitatis Vasile Goldiş Arad, Seria Ştiinţele Vieţii*. 21(4), 701-708.
- Namikoğlu, N.G. (2008). Türkiye’nin Ağaçları ve Çalıları. NTV yayınları.

- Okayama, Y. and Kawakami, T. (2006). Development, migration, and survival of mast cells. *Immunol Res.* 34(2), 97-115.
- Ortega, N., L'faqihi, F.E., Plouet, J. (1998). Control of VEGF angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biol Cell.* 90, 381-390.
- Özsoy, N. ve Gül, N. (2005). Characterization of the ultrastructure of gingival mast cells in alloxan-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry & Function.* 23(5), 333-337.
- Özdemir, Ö. ve Savaşan, S. (2005). Gözardı edilmiş bir hücrenin dönüşü: mast hücresi ve hematoloji-onkoloji/immunoloji alanlarında tanımlanan yeni rolleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 48, 85-92.
- Pabst, R. (1986). Functional anatomy of the human spleen. *Langenbecks Arch Chir.* 369, 233-237.
- Apte, R.S., Chen, D.S., Ferrara, N. (2019). VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell.* 176(6), 1248-1264. doi: 10.1016/j.cell.2019.01.021.
- Robinson, C., Benyon, C., Holgate, S.T., Church, M.K. (1989). The IgE- and calcium-dependent release of eicosanoids and histamine from human purified cutaneous mast cells. *JID.* 93(3), 397-404.
- Jones, S.E., Gilbert, R.E., Kelly, D.J. (2004). Tranilast reduces mesenteric vascular collagen deposition and chymase-positive mast cells in experimental diabetes. *J Diabetes Complications.* 18(5), 309.
- Cavalher-Machado, de Lima, W.T., Damazo, A.S., de Frias Carvalho, V., Martins, M.A., de Silva, P.M.R., Sannomiya, P. (2004). Down-regulation of mast cell activation and airway reactivity in diabetic rats: role of insulin. *European Respiratory Journal.* 24, 552-558.
- Sadedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Kararunga, S., Unwin, B., Williams R. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. (9th edition). *Diabetes Res Clin Pract.* 157.
- Sambucus nigra* çiçekleri. Erişim: 18 Ocak 2022, <https://www.sakipsabancimuzesi.org/tr/sayfa/sambucus-nigra-kara-murver>
- Sambucus nigra* meyveleri. Erişim: 18 Ocak 2022, <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30122169-2>
- Satman, İ., Ömer, B., Tütüncü, Y., Kalaca, S., Gedik, S., Dinççağ, N., Karşıdağ, K., Genç, S., Telci, A., Canbaz, B., Türker, F., Yılmaz, T., Cakır, B., Tuomilehto, J., TURDEP-II Study Group. (2013). Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European journal of epidemiology.* 28(2), 169-180.
- Shao-Heng He. (2004). Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 10(3), 309-318.
- Shi, M.A. and Shi, G.P. (2012). Different roles of mast cells in obesity and diabetes: lessons from experimental animals and humans. *Frontiers in immunology.* 3, 7.
- Sismanopoulos, N., Delivanis, D.A., Alysandratos, K.D., Angelidou, A., Therianou, A., Theoharides, T.C. (2012). Mast cells in allergic and inflammatory diseases. *Curr Pharm Des.* 18, 2261-2277.
- Svensson, J., Eising, S., Mortensen, H.B., Christiansen, I.L., Lernmark, A., Nilsson, L.B.S., Carstensen, B., Pociot, F., Johannesen, J., Danish Childhood Diabetes Registry. (2012). High levels of immunoglobulin E and a continuous increase in immunoglobulin G and immunoglobulin M by age in children with newly diagnosed type 1 diabetes. *Hum Immunol.* 73, 17-25.

- Şener, G. ve Yeğen, B.Ç. (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*. 22, 5-13.
- Furuta, T., Murao, L.A., Lan, N.T.P., Huy, N.T., Huong, V.T.Q., Thuy, T.T., Tham, V.D., Nga, C.T.P., Ha, T.T.N., Ohmoto, Y., Kikuchi, M., Morita, K., Yasunami, M., Hirayama, K., Watanabe, N. (2012). Association of Mast Cell-Derived VEGF and Proteases in Dengue Shock Syndrome. *PLoS Negl Trop Dis*. 6(2), e1505.
- Tanker, M. ve Tanker, N. (1985). *Farmakognozi* Cilt 1. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.
- Tarantino, G., Scalera, A., Finelli, C. (2013). Liver-spleen axis: intersection between immunity, infections and metabolism. *World J Gastroenterol*. 19(23), 3534-3542.
- Theoharides, T.C., Kempuraj, D., Sant, G.R. (2001). Mast cell involvement in interstitial cystitis: a review of human and experimental evidence. *Urology*. 57(6 Suppl. 1), 47-55.
- True, L.D. (1990). *Principles of immunohistochemistry*. New York: Gower Medical Publishing.
- Tuzlacı, E. (2006). Şifa Niyetine Türkiye'nin Bitkisel Halk İlaçları. İstanbul: Alfa Basım Yayın Dağıtım Ltd. Şti.
- Türkan, Ş., Malyer, H., Aydın, S.Ö., Tümen, G. (2006). Ordu İli ve Çevresinde Yetişen Bazı Bitkilerin Etnobotanik Özellikleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 10(2), 162-166.
- Türkiye Endokrin ve Metabolizma Derneği. (2020). Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu 2020. Erişim: 18 Ocak 2020, http://www.turkendokrin.org/files/file/DIYABET_TTK_web.pdf.
- Wernersson, S. and Pejler, G. (2014). Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol*. 14(7), 478-494.
- WHO. (2012). Monographs on Selected Medicinal Plants. Erişim: 18 Ocak 2022, <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42052>
- Varga, I., Galfiova, P., Adamkov, M., Danisovic, L., Polak, S., Kubikova, E., Galbavy, S. (2009). Congenital anomalies of the spleen from an embryological point of view. *Med Sci Monit*, 15(12), 269-76.
- Yancopoulos, G.D., Davis, S., Gale, N.W., Rudge, J.S., Wiegand, S.J., Holash, J. (2000). Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*. 407, 242-248.
- Yusufhan, Y., Süheyla, G., Serdar, F. (2004). Endotel Hücreleri İçin Önemli Bir Protein Ailesi; Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), Ailenin Üyeleri, Yapısı ve Sentezi. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*. 26(4), 181-184.
- Nishikori, Y., Shiota, N., Okunishi, H. (2014). The role of mast cells in cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic mice. *Archives of Dermatological Research*. 306, 823-835.
- Youssef, S. and Salah, M. (2019). Differential Expression of CD3, TNF- α , and VEGF Induced by Olanzapine on the Spleen of Adult Male Albino Rats and the Possible Protective Role of Vitamin C. *Biomedicines*. 7(2), 39.
- Zachary, I. (1998). Molecules in focus VEGF. *Int J Biochem Cell Biol*. 30, 1169-1174.
- Zakay-Rones, Z., Varsano, N., Zlotnik, M., Regev, L., Schlesinger, M., Mumcuoglu, M. (1995). Inhibition of several strains of influenza virus in vitro and reduction of symptoms by an elderberry extract (*Sambucus nigra* L.) during an outbreak of influenza B Panama. *J Altern Complement Med*. 1(4), 361-369.



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604.02.03-E.6123
Konu : Hadyek izni hk

11/03/2020

TUĞRUL ERTUĞRUL
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul ERTUĞRUL' un 2020/15 Kabul nolu "**Sambucus Nigranın diyabetli rat dalağında mast hücre ve Vasküler Endotelial Büyüme faktörü (VEGF) üzerine etkilerinin histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak incelenmesi.**" başlıklı projesi 05.03.2020 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYEK'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.
Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

EK: ETİK KURUL KARARI 2020 – 15 T. ERTUĞRUL

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>



Kep Adresi:
omu@hs01.kep.tr

Hayriye ÇELİK
Dahili Tel: 2588

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.
Evrak teyidi <https://ebyssorgu.omu.edu.tr> adresinden SYSK-GB0L-0LJ7 kodu ile yapılabilir.

ÖZ GEÇMİŞ

Elif Tuğba Ergel, Samsun Tülay Başaran Anadolu Lisesi’ni bitirdikten sonra Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nden 2017 yılında mezun oldu. 2019 yılında OMÜ LEE Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. Şuan Samsun Bafra Devlet Hastanesi’nde eczacı olarak görev yapmaktadır.

İletişim Bilgileri

Öğrenci no: 18220464

ORCID ID: 0000-0002-9310-1200

