

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL HEPATİK LİPİDOZİS OLUŞTURULAN
TAVŞANLARDA KEKİK OTU (*THYMUS VULGARIS*)
YAĞI VE THYMOL'ÜN İMMUNOJENİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Gencay EKİNCİ**

**Danışman
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ**

Doktora Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından TDK-2017-7600 kodlu proje ile
desteklenmiştir.**

**Şubat 2020
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Araş. Gör. Gencay EKİNCİ

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Deneyisel Hepatik Lipidozis Oluşturulan Tavşanlarda Kekik Otu (*Thymus vulgaris*) Yağı ve Thymol’ün İmmunojenik Aktivitelerinin Araştırılması” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Araş. Gör. Gencay EKİNCİ

İmza

Danışman

Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

İmza

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

İmza

Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ danışmanlığında **Gencay EKİNCİ** tarafından hazırlanan “**Deneysel Hepatik Lipidozis Oluşturulan Tavşanlarda Kekik Otu (*Thymus vulgaris*) Yağı ve Thymol’ün İmmunojenik Aktivitelerinin Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

21/02/2020

JÜRİ:**İMZA**

Danışman : Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

Üye : Prof. Dr. İhsan KELEŞ

Üye : Prof. Dr. Gültekin ATALAN

Üye : Prof. Dr. Mahmut OK

Üye : Prof. Dr. Mutlu SEVİNÇ

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

.....

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Anabilim Dalı'na adaptasyonumda, çalışmalarımı yönlendirmesinde ve araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam sayın Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ'e, tez çalışmaları esnasındaki yardımlarından dolayı mesai arkadaşlarıma, laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Ahmet EKEN'e ve Patoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, istatistik çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK'e, çalışmanın maddi olarak desteklerini esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine, deneysel çalışmalarımı yürüttüğüm Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEKAM) çalışanlarına, laboratuvar çalışmalarımı yürüttüğüm Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'ne (GENKÖK) ve çalışma süresince birçok fedakârlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan eşim Zeynep ve kızım Beyza'ya, her zaman destek ve sevgileriyle sürekli yanımda olan annem ve babama en derin duygularla teşekkür ederim.

Gencay EKİNCİ

Şubat 2020, KAYSERİ

**DENEYSSEL HEPATİK LİPİDOZİS OLUŞTURULAN TAVŞANLARDA KEKİK
OTU (*THYMUS VULGARIS*) YAĞI VE THYMOL'ÜN İMMUNOJENİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gencay EKİNCİ

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Şubat 2020

Danışman: Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

KISA ÖZET

Farklı beslenme veya diyet rejimlerinin kromatin ve gen ekspresyonu üzerinde epigenetik değişiklikler olarak bilinen etkileri vardır. Hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi ve viseral yağ birikimi non-alkolik yağlı karaciğer hastalığına yol açan faktörlerdendir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) basit steatozdan non-alkolik steatohepatite (NASH) ve fibrozise ilerleyen kronik bir karaciğer hastalığıdır. Bu tez çalışmasında; deneysel olarak oluşturulan hepatik lipidozis tavşan modelinde, bitkisel tedavi amacıyla kullanılan kekik yağı ve thymol'ün metabolik parametrelerle birlikte inflamasyonla ilişkili genlerin mRNA ekspresyon düzeyleri üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlandı. Araştırmada ortalama 3.41 ± 0.56 kg ağırlığında, 10-12 haftalık ve sağlıklı, toplam 48 adet, Yeni Zelanda ırkı, erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar standart tavşan yemiyle beslenen normal diyet grubu ve % 1 kolestrol ilave edilmiş yüksek kolesterol diyet grubu olarak iki ana gruba ayrıldı. Normal diyet ve yüksek kolestrol diyet grupları da 3 alt gruba (n=8) ayrılarak; I. gruba standart tavşan diyeti, II. gruba standart tavşan diyeti+thymol (6 mg/kg, oral), III. gruba standart tavşan diyeti+kekik yağı (20 mg/kg, oral), IV. gruba yüksek kolesterol diyeti, V. gruba yüksek kolesterol diyeti+thymol (6 mg/kg, oral), VI. gruba yüksek kolesterol diyeti+kekik yağı (20 mg/kg, oral) verildi. Çalışma süresince 0, 4, 8 ve 11. haftalarda kan örnekleri alındı ve canlı ağırlıkları tartılarak kaydedildi. Karaciğerdeki yangısel sürecin izlenmesi amacıyla proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1 β , IL-6) ve akut faz proteini (C-Reaktif Protein) analizleri yapıldı. Karaciğer dokusundan inflamasyonla ilişkili hedef genlerin [STAT4, IFN γ , Tbet (tbx), IL-4, IL-5, IL-13, Gata3, IL-17A, GMCSF, ROR γ (RORC), IL-9, IL-10, IL-18, Foxp3, IL-8] mRNA ekspresyon düzeyleri Real-Time PCR yöntemiyle analiz edildi. Oluşturulan deneysel hepatik lipidozis tavşan modelinde karaciğerlerde; sarımtırak renk değişimleri, hacimce artış, kenarlarda kütleşme, balonumsu dejenerasyon, yağ vakuelleri, hepatositlerde

hemosiderin pigmenti, portal bölgelerde lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyonları ve kupffer hücrelerinde sayıca artış görüldü. Yüksek kolesterol diyet gruplarında glukoz, trigliserid, total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış görüldü ($p < 0.05$). Normal diyetle beslenen tavşanlarda thymol ve kekik yağının IFN γ geninin mRNA ekspresyonunu azalttığı ($p < 0.05$) ve böylece makrofaj hücrelerinin inflamatuvar yanıtını inhibe edebileceği görüldü. Thymol ve kekik yağı uygulamalarının IL-4 geninin mRNA ekspresyonunu upregüle ederek T ve B lenfositlerin çoğalmasını artırabileceği ve humoral ve adaptif immunitiyi düzenleyebileceği ifade edilebilir. Özellikle kekik yağı verilen tavşanlarda Tbet geninin ekspresyonundaki 7 katlık bir artış kekik yağının antiinflamatuvar özelliğini destekler niteliktedir.

Sonuçta; yüksek kolesterol diyeti verilerek oluşturulan non-obez hepatik lipidozis tavşan modelinde, thymol ve/veya kekik yağının metabolik ve immun parametreleri etkileyebileceği, hepatik lipidozise bağlı yangısel süreçlerin düzeltilmesinde gen düzeyinden itibaren olumlu yönde epigenetik etkileri olabileceği ifade edilebilir. Ayrıca bitkilerin çeşitli bileşikler içerdiği ve ekstraktın her farklı dozunda farklı etkilere sahip çeşitli bileşiklerin dominant olabileceği gerçeği hesaba katıldığında, bu veriler kekik yağı ve thymol'ün belirtilen dozlarda immunmodülatör etkilerini destekler niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Hepatik Lipidozis, Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH); Yüksek Kolestrol Diyeti; Kekik Yağı; Thymol

**INVESTIGATION OF THE IMMUNOGENIC ACTIVITIES OF THYME
(*THYMUS VULGARIS*) OIL AND THYMOL IN RABBITS WITH
EXPERIMENTAL HEPATIC LIPIDOSIS**

Gencay EKİNCİ

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Veterinary Internal Medicine

PhD Thesis, February 2020

Supervisor: Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

ABSTRACT

Different diet or diet regimens can bring about epigenetic changes; which are visible as differences in chromatin and gene expression. Hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia and visceral fat accumulation are precursors that can lead to non-alcoholic fatty liver disease. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a chronic liver disease that progresses from simple steatosis to non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and fibrosis. In this study, experimentally induced hepatic lipidosis rabbit model was used to investigate the effect of herbal remedies such as Thyme oil and thymol; along with metabolic parameters, on mRNA expression levels of inflammation-inducing genes. A total of 48 healthy New Zealand rabbits, aging 10-12 weeks and having an average weight of 3.41 ± 0.56 kg were selected for this study. Rabbits were divided into two main groups: Group-ND and Group-HCD; i.e. a normal diet group fed with standard rabbit feed and a high cholesterol diet group with 1% added cholesterol respectively. Group-ND and Group-HCD also were divided into 3 subgroups (n = 8). Group-ND comprised of group-1, group-2 and group-3 i.e. a standard rabbit diet, standard rabbit diet + thymol (6 mg/kg, oral) and a standard rabbit diet + thyme oil (20 mg/kg, oral) respectively. Group-HCD further comprised of group-4, group-5 and group-6 i.e. a high cholesterol diet, high cholesterol diet + thymol (6 mg/kg, oral) and a high cholesterol diet + thyme oil (20 mg/kg, oral) respectively. Blood samples and body weights both were recorded at intervals of 0, 4, 8 and 11 weeks respectively. Proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6) and acute phase protein (C-Reactive Protein) analyzes was performed to monitor the inflammatory process in the liver. Real-Time PCR method was used to evaluate the mRNA expression levels of the target genes [STAT4, IFN γ , Tbet (tbx), IL-4, IL-5, IL-13, Gata3, IL-17A, GMCSF, ROR γ (RORC), IL-9, IL-10, IL -18, Foxp3, IL-8], associated with inflammation of the liver tissue. Grosspathological findings included yellowing,

increase in size, thickening and rounding of the liver edges. Histopathological findings revealed ballooning degeneration, presence of oil vacuoles and hemosiderin pigment in hepatocytes. Along with lymphocyte-rich mononuclear cell infiltrations in the portal areas and an increase in the number of kupffer cells was recorded. In all high cholesterol diet groups there was a statistically significant ($p < 0.05$) increase in glucose, triglyceride, total cholesterol and LDL-cholesterol levels. In the groups where the rabbits were fed on a normal diet, thymol and thyme oil were shown to reduce the mRNA expression of the IFN γ gene ($p < 0.05$), thereby inhibiting the inflammatory response of macrophage cells. It can be stated that thymol and thyme oil applications upregulate mRNA expression of the IL-4 gene, which exerts its effects as an increase in T and B lymphocyte proliferation and also regulate humoral and adaptive immunity. A 7-fold increase in the expression of the Tbet gene was seen in rabbits fed on a normal diet supplemented with thyme oil which depicts its role as an anti-inflammatory agent. Thus, it can be inferred that in an *in-vitro* induced non-obese hepatic lipidosis rabbit model, thymol and/or thyme oil plays a positive role on the affects of metabolic and immune parameters and may even have a positive epigenetic effect at the gene level in the correction of inflammatory processes associated with hepatic lipidosis. Taking into account the fact that plants contain various natural compounds and the affects of these on the body is usually directly related to their dosage. Therefore, results of this study supports the immunomodulatory effects of thyme oil and thymol at the specified doses only.

Key Words: Hepatic Lipidosis, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD); High Cholesterol Diet; Thyme Oil; Thymol

İÇİNDEKİLER

DENEYSEL HEPATİK LİPİDOZİS OLUŞTURULAN TAVŞANLARDA KEKİK OTU (*THYMUS VULGARIS*) YAĞI VE THYMOL'ÜN İMMUNOJENİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sayfa

İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	iii
KABUL ve ONAY SAYFASI.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
KISALTMALAR.....	xiii
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xvii
RESİM LİSTESİ.....	xxii
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Non-alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH).....	4
2.1.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Patogenezi	5
2.1.2. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı ve Stres	7
2.1.3. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Tanısı.....	7
2.1.4. Hepatik Lipidozis Deney Hayvanı Modelleri	8
2.1.5. Hayvanlarda Non-Alkolik Karaciğer Yağlanması İle Seyreden Hastalıklar.....	8
2.2. Non-alkolik Steatohepatitis (NASH).....	11
2.3. Fibrozis.....	12
2.4. Thymus vulgaris (Kekik) ve Thymol	13
2.4.1. <i>Thymus vulgaris</i> (Kekik).....	13
2.4.2. Thymol (Thymol).....	16
2.5. <i>Thymus vulgaris</i> ve Thymol'ün İmmun Sistem Üzerine Etkileri.....	18
2.6. Hepatik Lipidozisin İmmun Sistem Üzerine Etkisi	21

3. GEREÇ ve YÖNTEM	24
3.1. Araştırmada Kullanılan Hayvanlar, Bakım ve Besleme Koşulları.....	24
3.2. Hayvanların Gruplara Ayrılması.....	25
3.3. Tavşanlara Kekik Yağı ve Thymol Uygulamaları.....	26
3.4. Yüksek Kolesterol Diyetinin Hazırlanması.....	26
3.5. Kan Örneklerinin Alınması.....	30
3.6. Canlı Ağırlıkların Tartılması.....	30
3.7. Hayvanların Yaşamlarının Sonlandırılması.....	30
3.8. Karaciğer Doku Örneğinin Alınması.....	30
3.9. Gen Ekspresyonu İçin Doku Örneğinin Alınması.....	31
3.10. Biyokimyasal Analizler.....	32
3.11. Sitokin Analizleri.....	32
3.11.1. TNF- α Analizi.....	32
3.11.2. IL-1 β Analizi.....	35
3.11.3. IL-6 Analizi.....	37
3.12. Histopatolojik Analizler.....	39
3.13. Gen Ekspresyonu Analizleri.....	39
3.13.1. Dokuların Elde Edilmesi.....	39
3.13.2. Total RNA İzolasyonu ve RNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	40
3.13.3. c-DNA Sentezi.....	42
3.13.4. Real Time- Ekspresyon Asaması.....	42
3.14. İstatistiksel Analizler.....	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. Genel Muayene Bulguları.....	47
4.2. Serum Biyokimya Bulguları.....	47
4.3. Canlı Ağırlık Bulguları.....	76
4.4. IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ELISA Bulguları.....	79
4.5. Gen Ekspresyonu Bulguları.....	87
4.6. Karaciğerin Makroskopik Görünümü.....	105
4.7. Histopatoloji Bulguları.....	109
5.TARTIŞ ve SONUÇ.....	112
6.KAYNAKLAR.....	130

Etik Kurul Belgesi.....	141
Özgeçmiş.....	142



KISALTMALAR

Δ Ct	: Delta Ct
AFP	: Akut Faz Protein
BHBA	: Beta Hidroksi Bütirik Asit
cDNA	: Complementary DNA
Ct	: Cycle Threshold
Foxp3	: Forkhead box P3
Fw	: Forward
Gata3	: GATA Binding Protein 3
GMCSF	: Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
HDL	: High Density Lipoprotein
Hp	: Haptoglobulin
Hprt1	: Hypoxanthine phosphoribosyltransferase
IL-1 β	: İnterlökin 1 Beta
IL-4	: İnterlökin 4
IL-6	: İnterlökin 6
IL-8	: İnterlökin 8
IL-10	: İnterlökin 10
IL-13	: İnterlökin 13
IL-17A	: İnterlökin -17A
IL-18	: İnterlökin -18
KAAİP10	: Kaspaz Alım Alanı İçeren Protein 10
IRAK1	: IL-1 reseptör ile ilişkili kinaz 1
KVH	: Kardiyovasküler Hastalık
LBP	: Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein
LDL	: Low Density Lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarit
MDA	: Malondialdehid
MetS	: Metabolik Sendrom
MPO	: Myeloperoksidase activity
mRNA	: Mesenger RNA

miRNA	: Mikro RNA
NAYKH	: Non-alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NAYK	: Non-alkolik Yağlı Karaciğer
NASH	: Non-alkolik steatohepati
ND	: Normal Diyet
NEB	: Negatif Enerji Balansı
NEFA	: Non Esterified Fatty Acids
DÖ	: Doğal Öldürücü
PAMP	: Pathogen Associated Moleculer Pattern
pAFP	: Pozitif Akut Faz Protein
PMN	: Polimorfonükleer
PON	: Paroksonaz
RBP	: Retinol Bağlayıcı Protein
RelB	: Transkripsiyon faktör RelB
ROR γ	: RAR-related orphan receptor gamma
RT-PCR	: Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Rv	: Reverse
SAA	: Serum Amiloid-A
SARA	: Subakut Ruminal Asidozis
STAT4	: Signal transducer and activator of transcription 4
TAG	: Triasilgliserol
Tbet	: T-box transcription factor
TG	: Trigliserit
TK	: Total Kolesterol
TLR	: Toll-Like Reseptörler
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TNF- β	: Tümör Nekroz Faktör Beta
TRAF6	: TNF Reseptör İle İlişkili Faktör 6
VKS	: Vücut Kondüsyon Skoru
WBC	: White Blood Cell
YKD	: Yüksek Kolestrol Diyeti

TABLO LİSTESİ

		Sayfa
Tablo 1	Hayvanların gruplara ayrılması.....	26
Tablo 2	Standart tavşan yemi bileşimi.....	29
Tablo 3	TNF- α standart solüsyonların hazırlanması.....	32
Tablo 4	IL-1 β standart solüsyonların hazırlanması.....	35
Tablo 5	IL-6 standart solüsyonların hazırlanması.....	37
Tablo 6	cDNA reverse transcription reaksiyon bileşimi.....	42
Tablo 7	Termal cycler programı.....	42
Tablo 8	Ekspresyon aşamasında kullanılan malzemeler.....	45
Tablo 9	Tavşan örneklerinde kantitatif RT-PCR için primer dizileri (NCBI).....	45
Tablo 10	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre CRP (mg/L) konsantrasyonları.....	50
Tablo 11	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre trigliserid (mg/dl) konsantrasyonları.....	52
Tablo 12	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre kolesterol(mg/dl) konsantrasyonları.....	55
Tablo 13	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre HDL Kolesterol (mg/dl) konsantrasyonları.....	58
Tablo 14	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre LDL Kolesterol (mg/dl) konsantrasyonları.....	61
Tablo 15	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre AST (IU/L) konsantrasyonları.....	64
Tablo 16	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre ALT (IU/L) konsantrasyonları.....	67

Tablo 17	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre albumin (mg/dl) konsantrasyonları.....	70
Tablo 18	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre glukoz (mg/dl) konsantrasyonları.....	73
Tablo 19	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre göre canlı ağırlık (g) konsantrasyonları.....	77
Tablo 20	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre göre IL-1 β (pg/ml) konsantrasyonları.....	81
Tablo 21	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre göre IL-6 (ng/L) konsantrasyonları.....	82
Tablo 22	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre göre TNF- α (pg/ml) konsantrasyonları.....	83
Tablo 23	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası gen ekspresyonu değerlerinin (kontrol grubuna göre) karşılaştırılması.....	89
Tablo 24	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası gen ekspresyonu değerlerinin (kontrol grubuna göre) karşılaştırılması.....	90

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1	Thymol'ün kimyasal yapısı..... 16
Şekil 2	Normal diyeti ile beslenen tavşanlarda TNF- α standart eğrisinin oluşturulması..... 34
Şekil 3	Yüksek kolestrol diyeti ile beslenen tavşanlarda TNF- α standart eğrisinin oluşturulması..... 34
Şekil 4	Yüksek kolestrol diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-1 β standart eğrisinin oluşturulması..... 36
Şekil 5	Normal diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-1 β standart eğrisinin oluşturulması..... 36
Şekil 6	Yüksek kolestrol diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-6 standart eğrisinin Oluşturulması..... 38
Şekil 7	Normal diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-6 standart eğrisinin oluşturulması..... 38
Şekil 8	IL-13, IL-17, Gata3 ve Hprt1 genine ait amplifikasyon eğrileri..... 43
Şekil 9	IL-9 gen ekspresyonu erime eğrisi grafiği..... 44
Şekil 10	YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarının IL-9 genine ait erime pik grafiği..... 44
Şekil 11	Normal diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre CRP düzeylerinin grafik ile gösterimi..... 51
Şekil 12	Yüksek kolesterol diyeti beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre CRP düzeylerinin grafik ile gösterimi..... 51
Şekil 13	Normal diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre trigliserid düzeylerinin grafik ile gösterimi..... 53
Şekil 14	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre trigliserid düzeylerinin grafik ile gösterimi..... 53
Şekil 15	Normal diyet grubunda kan serumunda kolesterol düzeylerinin grafik ile gösterimi..... 56

Şekil 16	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda kolesterol düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	56
Şekil 17	Normal diyetle beslenen ve thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre HDL-kolesterol (mg/dl) konsantrasyonlarının grafik ile gösterimi.....	59
Şekil 18	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda HDL-kolesterol düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	59
Şekil 19	Normal diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zaman göre LDL-kolesterol (mg/dl) konsantrasyonlarının grafik ile gösterimi.....	62
Şekil 20	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda LDL-kolesterol düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	62
Şekil 21	Normal diyet grubunda kan serumunda AST düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	65
Şekil 22	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda AST düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	65
Şekil 23	Normal diyet grubunda kan serumunda ALT düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	68
Şekil 24	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda ALT düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	68
Şekil 25	Normal diyet grubunda kan serumunda albumin düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	71
Şekil 26	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda albumin düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	71
Şekil 27	Normal diyet grubunda kan serumunda glukoz düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	74
Şekil 28	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda glukoz düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	74
Şekil 29	Normal diyet grubundaki tavşanlara ait canlı ağırlık değişkeninin grafik ile gösterimi	78
Şekil 30	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplardaki tavşanlara ait canlı ağırlık değişkeninin grafik ile gösterimi	78
Şekil 31	Normal diyet grubunda kan serumunda IL-1 β düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	84

Şekil 32	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda IL-1 β düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	84
Şekil 33	Normal diyet grubunda kan serumunda IL-6 düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	85
Şekil 34	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda IL-6 düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	85
Şekil 35	Normal diyet grubunda kan serumunda TNF- α düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	86
Şekil 36	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda TNF- α düzeylerinin grafik ile gösterimi.....	86
Şekil 37	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda GMCSF geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi.....	91
Şekil 38	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda GMCSF genine ait Log10 kat değişikliği.....	91
Şekil 39	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda ROR γ geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi.....	92
Şekil 40	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda ROR γ geninin ait Log10 kat değişikliği.....	92
Şekil 41	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IFN γ geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi.....	93
Şekil 42	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IFN γ geninin ait Log10 kat değişikliği.....	93
Şekil 43	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-9 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi.....	94
Şekil 44	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-9 geninin ait Log10 kat değişikliği.....	94

	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 45	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-10 geninin ait Log10 kat	
	değişikliği.....	95
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 46	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-10 genine ait rölatif gen	
	ekspresyon düzeyi.....	95
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 47	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-4 geninin rölatif gen	
	ekspresyon düzeyi.....	96
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 48	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-4 geninin ait Log10 kat	
	değişikliği.....	96
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 49	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Tbet geninin rölatif gen	
	ekspresyon düzeyi.....	97
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 50	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Tbet geninin ait Log10 kat	
	değişikliği.....	97
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 51	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-13 geninin rölatif gen	
	ekspresyon düzeyi.....	98
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 52	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-13 genine ait Log10 kat	
	değişikliği.....	98
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 53	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Gata3 geninin rölatif gen	
	ekspresyon düzeyi.....	99
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 54	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Gata3 genine ait Log10 kat	
	değişikliği.....	99
	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 55	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-17 geninin rölatif gen	
	ekspresyon düzeyi.....	100
Şekil 56	Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	

	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-17 genine ait Log10 kat değişikliği.....	100
	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 57	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-18 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi.....	101
	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 58	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-18 genine ait Log10 kat değişikliği.....	101
	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 59	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Foxp3 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi.....	102
	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 60	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Foxp3 genine ait Log10 kat değişikliği.....	102
	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 61	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-8 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi.....	103
	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 62	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-8 genine ait Log10 kat değişikliği.....	103
	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 63	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda STAT4 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi.....	104
	Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı	
Şekil 64	verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda STAT4 genine ait Log10 kat değişikliği.....	105

RESİM LİSTESİ

	Sayfa
Resim 1	Normal, NAYKH ve NASH'li karaciğerin histopatolojik görünümü..... 6
Resim 2	<i>Thymus vulgaris</i> (Kekik)..... 14
Resim 3	Thymol'ün (2-Isopropyl-5-methylphenol, Sigma-Aldrich) toz görünümü..... 17
Resim 4	Tavşanların tekli kafeslerde barındırılması..... 25
Resim 5	% 1 kolestrol ilave edilmiş standart tavşan pelet yemi (19x6.2 mm)..... 27
Resim 6	Standart tavşan pelet yemi (Optima Besin Maddeleri San. ve Tic. A.Ş, Lüleburgaz/ Kırklareli)..... 28
Resim 7	Kolestrol (\geq % 92.5 (GC), toz, (Sigma-Aldrich)..... 28
Resim 8	Ötenazi işlemi sonrası karaciğerin doku örneği alınması amacıyla hazırlanması..... 31
Resim 9	Karaciğerden total RNA elde edilmesi amacıyla örnek alınması.. 31
Resim 10	Pleytlerin ELISA okuyucu (BioTek ELx800) ile okunması..... 33
Resim 11	Karaciğer doku örneğinin homojenizatör ile parçalanması..... 40
Resim 12	Nanodrop spektrofotometre ile total RNA ölçme işlemi..... 41
Resim 13	Total RNA miktarı (ng/ μ l)..... 41
Resim 14	Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda artmış visseral adipozitenin makroskopik görünümü..... 105
Resim 15	ND grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü..... 106
Resim 16	ND-T grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü..... 106
Resim 17	ND-K grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü..... 107
Resim 18	YKD grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü..... 107
Resim 19	YKD-T grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü..... 108
Resim 20	YKD-K grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü..... 108

GİRİŞ VE AMAÇ

Farklı beslenme veya diyet rejimlerinin kromatin ve gen ekspresyonu düzenlenmesinde etkileri vardır. Bu etkiler “epigenetik değişiklikler” olarak bilinen DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kodlanmayan RNA’lar üzerinden gerçekleştirilir. Söz konusu değişiklikler DNA diziliminde değişikliğe neden olmaz ve kalıtsal özelliği bulunmayan moleküler değişikliklerdir. Son yıllarda epigenetik düzenleme veya değişimlerin, gerek canlıya bağlı gerekse canlıdan bağımsız birçok çevresel faktörler tarafından etkilendiği belirlenmiştir. Metabolik hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve immün sistem hastalıkları gibi kompleks ve farklı durumlardan etkilenen çeşitli hastalıklarda epigenetik değişikliklerin rol alabilecekleri hususu değerlendirilmektedir (Sarıgöl, 2014).

Beslenme epigenetiği ile ilgili son yıllarda bir takım çalışmalar yürütülmektedir. Özellikle, gıdaların veya biyoaktif besin bileşenlerinin epigenetik etkileri ile ilgili çalışmalar halen güncelliğini korumaktadır. Beslenme ve epigenetik değişimler arasındaki ilişkilerin olduğu, gelişimin çeşitli aşamalarında belli zaman dilimini kapsayan; aşırı yeme, yüksek yağlı diyet veya kronik kalori kısıtlaması gibi farklı diyet değişiklikleri ile ortaya konulmuştur (Jiménez-Chillarón ve ark., 2012). Zhang ve ark. (2009), yüksek yağlı diyetle beslenme, protein, alkol, E vitamini, hormonlar ve birçok polifenolik bileşiklerin özel miRNA’ların ekspresyonunu değiştirdiğini belirlemiştir.

Metabolik sendrom, şeker hastalığı gibi yaşam tarzıyla ilgili çeşitli hastalıkları içeren yeni bir hastalıktır. Metabolik sendrom çeşitli organlarda şiddetli doku hasarına yol açar ve karaciğerdeki başlıca fenotipi non-alkolik yağlı karaciğer hastalığıdır (NAYKH). NAYKH'nin temel hastalıkla ilgili faktörleri; obezite, diabetes mellitus ve hiperlipidemi olarak düşünülmüştür. Son zamanlarda NAYKH, gelişmiş ülkelerde en sık görülen kronik ve ilerleyici karaciğer hastalıklarından biridir ve etkilenen insan sayısı hızla artmaktadır (Kainuma ve ark., 2006). Hipertrigliseridemi ve viseral yağ birikimi, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığına yol açan faktörlerdendir (Kainuma ve ark., 2006). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) basit steatozdan non-alkolik steatohepatite (NASH) ve fibrozise ilerleyen ve hastaları siroz hastalığına yatkınlaştıran kronik bir karaciğer hastalığıdır. Steatozun non-alkolik steatohepatite ilerlemesi, miyofibroblastik profibrojenik fenotipe doğru geçiş yapan hepatik yıldız hücrelerinin değişmesine neden olan iltihaplanma ve hepatoselüler hasarla karakterize bir hastalık durumu ile sonuçlanır. Bu nedenle NAYKH'nin optimal tedavisinde; fibroz, inflamasyon ve hepatoselüler hasarın önlenmesi hedeflenmelidir. Halen NASH için onaylanmış bir tedavi mevcut değildir, ancak peroksizom proliferatörle aktive edilen reseptör (PPARs) agonistleri bu karaciğer hastalıklarına bağlı metabolik disfonksiyon, inflamasyon ve oksidatif stresi iyileştirdikleri için NAYKH ve NASH'in tedavi protokollerinde yer almaktadır (Gross ve ark., 2017). İnsanlardaki karaciğer yağlanmasına benzer biçimde çiftlik ve pet hayvanlarında da “hepatik lipidozis” gözlenmektedir. Süt sığırlarında karaciğer yağlanması, koyunlarda gebelik toksemisi ve kedilerde hepatik lipidoziste karaciğerde meydana gelen metabolik ve biyokimyasal değişiklikler nedeniyle NAYKH'ye benzer yönleri bulunmaktadır (Gül ve ark., 2006; Arslan ve Tufan, 2010).

Kekik otu “Thyme” (*Thymus vulgaris* L., Lamiaceae) Avrupanın akdeniz bölgesine özgü önemli bir bitkidir (Amirghofran ve ark., 2012). *T. vulgaris*, güçlü baharatlı bir tadı ve kokusu olan bir bitkidir. Kekikte bilinen temel bileşenler esansiyel yağlar (borneol, karvakrol, simol, linalool ve thymol), tanin, flavonoidler (apigenin ve luteolin), saponinler ve triterpenik asitlerdir. Taze yapraklardan ve çiçeklerden alınan özler ve esansiyel yağlar gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetiklerde aromatik katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır (Khosravipour ve Direkvand-moghadam, 2016).

Doğal bir ürün olarak bilinen thymol uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Thymol antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve immünmodülatör etkileri de dahil olmak üzere bir

dizi farmakolojik özelliğe sahiptir. Altmışlı yıllardan beri thymol bakımından zengin uçucu yağlar, tıbbi uygulamalarda olası yararları için kullanılmıştır. Bu uygulamalarda antimikrobiyal özellikleri en çok çalışılan alanlardan biri olmuştur. Bu projede ise thymol'ün immunmodülatör etkisinin araştırılması ön plana çıkarılmıştır.

Bu projenin amacı; yüksek kolesterol içeren diyetle beslemeye bağlı hepatik lipidozis oluşturulan tavşanlarda, kekik (*T. vulgaris*) yağı ve kekiğin ana bileşenlerinden biri olan thymol'ün biyokimyasal immun faktörler ve immun ilişkili genler üzerindeki etkinliğinin araştırılmasıdır.

Canlıların yaşamları süresince tükettikleri besinler, farklı gen ekspresyonlarına yol açacak bir takım epigenetik mekanizmaları gerek fizyolojik gerekse patolojik anlamda etkileyebilir. Epigenetik mekanizmaların, farklı diyet veya bileşimi değiştirilmiş gıdalarla etkilenerek, farklı gen ekspresyonlarına yol açabileceği düşünülmektedir. Özellikle bu çalışmada araştırılan immun sistem üzerinde etkili olan gen ekspresyonlarının değerlendirilmesi, hastalıklardan korunma ve yeni tedavilerin geliştirilmesinde etkili olabilir.

Bu proje ile ulaşılmak istenen hedefler; gerek insanlarda gerekse hayvanlarda gözlenen ve hipertrigliseridemi ile seyreden hepatik lipidozisin önlenmesinde ve tedavi edilmesinde yeni tedavi girişimlerini ortaya koymak, farklı diyet tiplerinin immun sistem üzerindeki etkilerinin özellikle gen profilleri ve proinflamatuvar sitokin düzeyinde belirlemek, hepatik lipidozis ile immun sistem arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılması, kekik yağının ve thymol'ün hepatik lipidozisli canlılarda değişen immun durumun veya sistemin düzeltilmesinde etkinliğinin olup olmadığının belirlenmesidir.

Bu sayede hem insan hekimliği hem de veteriner hekimliği alanında, kekik yağı ve thymol'ün; immun mekanizmaların kuvvetlendirilmesi, metabolik faaliyetlerin düzenlenmesi gibi etkilerinin ve bu nedenle kullanıma gerekçelerinin bilimsel ispatı yapılmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) saf karaciğer yağlanması non-alkolik steatohepatite (NASH) ve kriptojenik siroza kadar ilerleyen metabolik sendromun hepatic tezahürüdür. Bunlar arasında tek başına hepatic steatoz (yağlı karaciğer, hepatic lipidozis) non-alkolik yağlı karaciğer (NAYK) olarak adlandırılır, NASH ise inflamasyon ve hepatosit hasarı (steatohepatit) ile daha ciddi bir süreç olarak tanımlanır. Tipik olarak, NASH siroza kadar ilerleyebilen, hücresel fibrozis ile karakterizedir. Her ne kadar NAYK veya NASH görüntüleme ve klinik özellikler temelinde (örneğin, metabolik komorbiditeler ve anormal laboratuvar testleri gibi) bir bireyde bariz bir şekilde şüphelenilse de NASH ancak karaciğer biyopsisi ile kesin olarak teşhis edilebilir (Friedman ve ark., 2018).

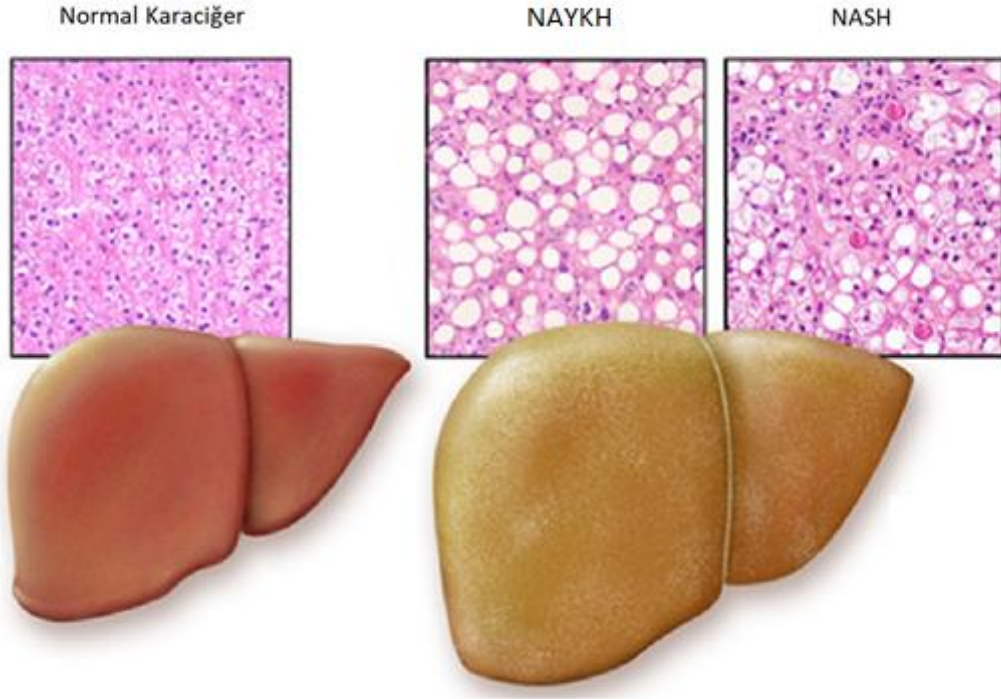
NAYKH temel olarak, yakın zamanda karakterize edilen metabolik sendromun ana özellikleri olan obezite, diyabet, dislipidemi ve insülin direnci ile ilişkilidir (Marchesini ve ark., 2003). Bir bireyde metabolik sendromun (MetS) varlığı NAYKH ve NASH için en güçlü risk faktörüdür. MetS değişken olarak tanımlanır, ancak tipik olarak visceral obezite, hiperglisemi, dislipidemi ve sistemik hipertansiyonu kapsamaktadır. NAYKH ile MetS'in özellikleri arasındaki ilişki çift yönlü olabilir. Özellikle diyabet ve sistemik hipertansiyon konusunda, MetS'in NAYKH riskini arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda NAYKH'nın MetS'in bazı özelliklerini ve komorbiditelerini de artırabilmektedir (Friedman ve ark., 2018).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının nedeni; aşırı enerji alımı ve harcanması arasındaki enerji dengesinin bozulmasının yanısıra, insülin direnci, adipokinler ve sitokinler aracılığıyla yürütülen inflamatuvar yanıt, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon gibi mekanizmaların, hastalığın gelişiminde rol alabileceği ifade edilmektedir. Genetik yapı, diyet, çevresel faktörler ve bağırsaktaki mikrobiyal faktörlerin etkileşimi, hastalığın multifaktöriyel ve daha kompleks olmasına neden olmaktadır (Çetin, 2018).

2.1.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Patogenezi

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), basit steatozdan steatohepatite, iltihaplanma ve fibrozis arasında değişen tüm histolojik spektrumu kapsayan patolojik bir durumdur (Asrih ve Jornayvaz, 2015). NAYKH'nın patogenezi "iki vuruş" hipotezi üzerine kurulmuştur. İlk vuruş; hepatik trigliserit birikimiyle karaciğer yağlanması oluşmasını içerirken ikincisi ise; NASH'a neden olan serbest radikallerin ve inflamatuvar mediyatörlerin üretimidir. Hepatik insülin direncinin, NAYKH gelişiminin kökeninde olabileceği öne sürülmüştür. Obezite ve insülin direnci karaciğere gelen serbest yağ asitleri miktarını artırmaktadır. Gerçekten de, özellikle karaciğerde insülin reseptöründen yoksun olan fareler, hiperglisemi ile ilişkili hepatik insülin direnci geliştirirler ki buda hepatik fonksiyonun periferik insülin yanıtını kontrol etmek için kritik öneme sahip olduğunu göstermektedir. Ek olarak, bu insülin direnci karaciğer fonksiyonunun değişmesine neden olur. Böylece, hepatik insülin direncinin periferik insülin direnci ve NAYKH gelişiminde ilk adım olduğu öne sürülebilir (Asrih ve Jornayvaz, 2015). Yağ, NAYKH'li hastaların karaciğerinde ağırlıklı olarak trigliserit şeklinde birikmektedir ve bu durum yüksek düzeyde serbest yağ asitleri, serbest kolesterol ve diğer lipit metabolitlerinden kaynaklanan artmış lipotoksisite ile eş zamanlı olarak meydana gelmektedir. NAYKH'da hepatositlerde biriken yağ asitlerinin % 60'ı adipoz dokudan, % 25'i *de novo* lipogenez'den, % 15'i ise diyetten gelmektedir (Kim ve ark., 2014). Oksidatif stres ile mitokondriyal disfonksiyon ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve endoplazmik retikulum (ER) stres ile ilişkili mekanizmaların üretimi aktive edilir. gliserol ve serbest yağ asitlerinin (SYA) esterleşmesinden elde edilir. Sentezlendikten sonra farklı oranlarda trigliseritler depoya veya salgı havuzlarına girerler. Serbest yağ asitleri ya diyetten ya da lipoliz yoluyla yağ dokusundan köken alırlar. Hepatositlere girdikten sonra serbest yağ asitleri asil-CoA sentaz aktivitesine maruz kalır ve

esterifikasyon veya β -oksidasyon yollarına girebilen yağ, asil-CoA'ları oluştururlar. Trigliserit birikimi tek başına hepatotoksik değildir ve fare modellerinde gösterildiği gibi aşırı serbest yağ asitlerini dengelemek için bir savunma mekanizmasını temsil edebilir. Mitokondriyal trifonksiyonel proteini (MTP) bloke ederek trigliseritin yeni VLDL'ye dâhil edilmesinin engellenmesi, bozulmuş trigliserit sekresyonuna ve dolayısıyla karaciğer hasarı olmadan trigliserit birikimine neden olmaktadır. Trigliserit oluşumunda rol oynayan kilit bir enzim olan Diacylglycerol O-acyltransferase 2 (DGAT2) ekspresyonunun inhibisyonu, intrahepatik trigliseritlerin azalmasına ve ardından serbest yağ asidi oksidasyonunun artmasına ve fare modellerinde steatohepatitin kötüleşmesine neden olmaktadır. Bu nedenle artan trigliserit konsantrasyonu; toksik metabolitlerin oluşumu, lipotoksisite ve karaciğer hasarı ile eşzamanlı olarak gerçekleşen bir epifenomendir (Ratziu ve ark., 2015).



Resim 1. Normal, NAYKH ve NASH'li karaciğerin histopatolojik görünümü (<https://www.liver.ca/patients-caregivers/liver-diseases/fatty-liver-disease/>Erişim Tarihi: 1 Ocak 2020)

2.1.2. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı ve Stres

Lipit birikiminin neden olduğu endoplazmik retikulum (ER) stresinde serbest kolesterolün de rolü olduğu düşünülmektedir. Yüksek kolesterol diyetiyle beslenen farelerde yapılan bir çalışmada, karaciğerde serbest kolesterol birikiminin görüldüğü ve ER stresinin artmasına neden olduğu belirtilmiştir (Hager ve ark., 2012). ER fonksiyonunu sürdürebilmesi için ER içi Ca^{+2} konsantrasyonunu yüksek tutması gerekmektedir. Bunu da sarco(endoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) ile düzenlemektedir. Serbest kolesterolün hücre içinde birikmesi ER'de kolesterol/ fosfolipit oranını değiştirmektedir. SERCA ER'deki değişikliklere duyarlıdır. SERCA aktivitesindeki değişiklikler ER içindeki Ca^{+2} konsantrasyonunda azalmaya neden olur. Bu azalma, ER'nin protein katlama fonksiyonunu bozar ve ER stresi indükler (Egnatchik ve ark., 2014). Diğer yandan artmış SERCA2b aktivitesi hepatik ER stresi ve reaktif oksijen üretimini azaltır. Bu etki NASH gelişimine karşı lipogenizin ve trigliserit birikiminin azalmasına neden olur (Park ve ark., 2010). Normal koşullarda, lipoproteinlerden gelen serbest kolesterol ER ve asi-CoA kolesterol asiltransferaz (ACAT) tarafından hücre içinde lipit damlacıklarına kolesterol esterleri olarak yönlendirilir. NASH'de lipit metabolizması bozulduğu için serbest kolesterol/ esterleşmiş kolesterol oranı artar. Bu artış ER stresi artırmada önemli bir rol oynamaktadır (Gregor ve Hotamisligil, 2007).

2.1.3. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Tanısı

Klinik olarak, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) erken evrelerinde spesifik semptomlarla kendini göstermez ve genellikle subklinikdir. NAYKH'nin tanısı dışlama kriterlerine dayanmaktadır. Örneğin; alkol tüketimi, otoimmün karaciğer hastalığı, viral hepatit enfeksiyonu, hemokromatoz, wilson hastalığı veya ilaç tüketimi gibi nedenlerin NAYKH düşünülmeden önce dışlanması gerekir. Karaciğerin histopatolojik incelenmesi NAYKH'yi teşhis etmek için altın standart bir yöntemdir (Asrih ve Jornayvaz, 2015). NAYKH'nin tanısı metabolik risk faktörleri, ultrasonografik muayenede steatozun görülmesi ve yüksek transaminazların varlığına dayanmaktadır. Histopatolojik inceleme aynı zamanda prognoz hakkında bilgi sağlayan en duyarlı ve en özgül yöntemdir. Histopatolojide steatoz, balonlaşma ve lobüler inflamasyonun görülmesiyle hastalığın tanısı konulur (Baciu ve ark., 2017). Histolojik hasar ile karaciğer testleri ve görüntüleme

sonuçları arasındaki korelasyonun zayıf olduğu göz önünde bulundurulduğunda karaciğerin histopatolojik incelenmesi medikal tedavinin etkisinin belirlenmesinde de faydalıdır (Torlak, 2005).

2.1.4. Hepatik Lipidozis Deney Hayvanı Modelleri

Hepatik lipidozis modelinin oluşturulmasında tavşanlar sıklıkla kullanılmaktadır (Drimba ve ark., 2012; Morelli ve ark., 2013). Tavşanlar büyük hayvan ve kemirgen modelleri arasında ara bir noktayı temsil etmektedir. Tavşan modeli minimum personel bakımı ve kaynakları ile birkaç araştırma protokolünün (metabolik sendrom, aterosklerozis, hepatik lipidozis) yapılmasına izin verebilmektedir. Ayrıca yüksek yağlı diyetle beslenen tavşanların obez insanlarda gözlenenlere benzer hemodinamik ve nörohumoral değişiklikler gösterdiği ifade edilmektedir (Lozano ve ark., 2019). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada yüksek yağ ve yüksek kolesterol diyeti (% 2) ile beslenen farelerin kontrol grubundan daha fazla karaciğer yağlanması, hepatosit balonlaşması, portal ve lobüler inflamasyona sahip oldukları ifade edilmektedir (Rivera ve ark., 2014). Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 8 hafta süreyle kolesterol verilen gruptaki tavşanlarda, perivenüler alanda periselüler alandan daha baskın olarak hafif düzeyde fibrozis görüldüğü, 12 hafta süreyle kolesterol verilen grupta ise, ince fibroz ve yer yer köprü oluşturmak üzere genişlemiş ve baskın olarak perivenüler alanda hepatoselüler mikrovasküler yağ birikimi görüldüğü ifade edilmektedir (Kainuma ve ark., 2006). Yang ve ark. (2010), tarafından tavşanlar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise yüksek yağ/kolesterol-diyeti alan gruplarda kontrol grubuna göre daha büyük oranda karaciğer boyutları ve visseral yağ görüldüğü ifade edilmektedir. Kolesterol bakımından zenginleştirilmiş bir diyet uyguladıktan sonra hayvanlar, HDL'de bir düşüşle birlikte, total kolesterol, LDL ve VLDL artışından başlayarak patolojiyi tetikleyen klinik bir evrim göstermektedir. Hiperkolesterolemiye bağlı olarak aort ve kan damarları dahil olmak üzere birçok organda büyük miktarda lipit birikiminin görüldüğü ifade edilmektedir (Lozano ve ark., 2019).

2.1.5. Hayvanlarda Non-Alkolik Karaciğer Yağlanması ile Seyreden Hastalıklar

Non-alkolik karaciğer yağlanmasının sığırlardaki yağlı karaciğer sendromu, kedilerde hepatik lipidozis ve koyunların gebelik toksemisi ile serbest yağ asitlerinin (non-esterifiye yağ asitleri) karaciğerde birikmesi ve karaciğerde fazla miktarda yağ asitleri birikmesi sonucu karaciğer fonksiyonlarının bozulması ve hepatik lipidozis şekillenmesiyle

benzerlikleri söz konusudur (Başoğlu ve Sevinç, 2004; Bobe ve ark., 2004; Kalınbacak ve ark., 2004). Yüksek verimli sütçü sığırlarda kuru dönemde aşırı beslenme ya da laktasyonun ilk dönemindeki negatif enerji balansından dolayı, enerji ihtiyacının vücudun yağ rezervlerinden karşılanması sonucu, çok fazla miktarda depo yağın serbest hale geçerek karaciğer parankim hücrelerinde yaygın olarak birikmesi olayına karaciğer yağlanması (Fatty Liver, hepatik lipidozis, steatozis) denir. Karaciğerde biriken aşırı lipid, oksidasyona uğrayarak trigliseride dönüşür ve depolanır. Karaciğere gelen esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) miktarının artması ve trigliseritlerin (TG) çok düşük dansiteli lipoproteinlere (VLDL) sentezinin yavaşlaması sonucunda da yağlı karaciğer sendromu oluşur (Başoğlu ve Sevinç, 2004; Bobe ve ark., 2004; Kabu ve ark., 2008). Yağlı karaciğer ve ketozis; lipid ve karbonhidrat metabolizmasındaki bozukluğun bir sonucu olarak doğum sonrasında ortaya çıkan yüksek verimli ineklerin metabolik hastalıklarıdır (Sevinç ve Başoğlu, 2011; Ji ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada, inekler doğumdan önce yüksek miktarda tane yem içeren rasyonlarla beslenmiştir. Bu hayvanların plazma TNF- α konsantrasyonlarının doğumdan bir hafta önce, yağlı karaciğeri olan ineklerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. TNF- α , kandaki endotoksin varlığına yanıt olarak karaciğer makrofajları tarafından üretilir. İneklerde TNF- α kullanımı, iştah azalması ve yem alımıyla birlikte, yağ depolarından NEFA'nın kan dolaşımına akışının artmasıyla da ilişkilidir. Aslında, yağlı karaciğeri olan inekler normal ineklere kıyasla kuru madde alımı daha düşük ve daha büyük NEFA konsantrasyonlarına sahiptir. Bu nedenle, doğum öncesi yağlı karaciğer bulunan ineklerde iştahın azalması ve azalmış yem tüketimi durumu, kandaki endotoksin transferiyle ilişkili olabilir. Yağlı karaciğeri olan inekler normal ineklere kıyasla daha düşük süt üretimine ve yüksek vücut kondüsyon skoruna (VKS) sahiptir (Ametaj, 2005).

Büyük ölçüde değişen enerji talepleri için karaciğerde metabolik yolların yeterli adaptasyonu, başarılı bir geçiş periyodu için özellikle önemlidir. Örneğin, süt üretimi için gerekli glukoz sadece hepatik glukoneogenezis yoluyla karşılanabilir. Karaciğer ayrıca pospartum negatif enerji dengesinden kaynaklanan artmış NEFA akışını işlemek zorundadır. Yüksek süt verimli ineklerin % 50'sinden fazlası subklinik hepatik lipidozisten muzdariptirler. Çoğu sığır bu değişimler ile başa çıkabilmesine rağmen fizyolojik ve patolojik değişiklikler arasındaki çizgi incedir. Karaciğer fonksiyonu

üzerinde herhangi bir ek gerilim kaynağı, geçiş dönemi bozuklukları riskini daha da artırabilir (Bossaert ve ark., 2012).

İmmun sistemin öncelikli fonksiyonu, istilacı patojenik organizmalara karşı koyabilecek bir konakçı sağlamaktır. Bu itibarla, immün sistemin etkinliğindeki herhangi bir değişiklik, hastalığın prevalansı ile ilgili olarak sorumlu tutulabilir. Bu açıdan geçiş veya peripartum periyod (2-3 hafta önce ve hemen doğumu izleyen süreç) sütçü sığırların karlılığı, verimi ve sağlığı için kritik bir süre olarak tanımlanır. Çünkü hipokalsemi, ketozis, laminitis, metritis, mastitis gibi çeşitli metabolik ve infeksiyöz hastalıklar bu dönemde çok yaygındır. Geçiş dönemi boyunca dolaşımdaki lökositlerinin sayısı artmasına rağmen, immün yanıt miktarında genel bir düşüş ile beraber immün ve doğuştan gelen konakçı direnç mekanizmalarında değişiklikler gözlenmektedir (Jahan ve ark., 2015).

Koyunlarda gebeliğin özellikle son 6-8 haftasında enerji desteği yeterli değilse vücut fötüs veya fötüslerin kullanması için diğer enerji kaynaklarını kullanır. Başlangıçta ihtiyacın karşılanması amacıyla karaciğerdeki glikojen rezervleri harcanır. Eğer bu ihtiyaç karbonhidratlardan karşılanamaz vücut depo yağları mobilize edilir ve ortaya çıkan serbest yağ asitleri karaciğerde birikir. Eğer karaciğerde fazla miktarda yağ asitleri birikirse, karaciğer fonksiyonları bozulur ve hepatik lipidozis şekillenir. Karaciğerde biriken yağ asitlerinin bir kısmı enerji kaynağı olarak kullanılır iken, bir kısmı keton cisimciklerine dönüşür, keton cisimciklerinin kan, süt ve idrardaki konsantrasyonu artar. Aynı zamanda serbest yağ asitleri konsantrasyonu da artmıştır, çünkü enerji kaynağı olarak yağlar kullanılmaktadır (Baştan ve Salar, 2013). Bu yönüyle insanlardaki veya diğer hayvanlardaki yağlı karaciğer tablosu koyunlarda da şekillenebilmektedir (Sevinç, 2017)

Kedilerin hepatik lipidozisi, hepatositlerde aşırı lipit birikimi sonucu karaciğerde büyümeyle karakterize bir hastalıktır. En önemli nedeni uzun süreli açlık, stres, obezite, protein kalori dengesizliği, spesifik aminoasitlerden yetersiz beslenmedir. Karaciğere gelen serbest yağ asitleri enerji için ya okside edilir ya da trigliseridlere dönüştürülerek VLDL şeklinde dolaşıma salınır. Karaciğere gelen yağ asitleri, karaciğerin bunları okside etme ve yeniden sekrete etme kapasitesini aştığından, hepatik lipidozis oluşur (Kalinbacak ve ark., 2004; Gül ve ark., 2006).

2.2. Non-alkolik Steatohepatitis (NASH)

Non-alkolik steatohepatit (NASH); karaciğerde steatoz ile birlikte nekrotik ve inflamatuvar aktivitenin beraber görülmesidir. Çoğu durumda yağlı karaciğer daha ağır karaciğer hastalıklarına ilerlemese de, hastaların yaklaşık % 20-30'unda fibrozis ve nekrotik yangı belirtileri vardır, bu da non-alkolik steatohepatit (NASH) olduğunu göstermektedir. Bu hastalar siroz, terminal karaciğer yetmezliği ve hepatoselüler karsinoma açısından daha yüksek risk taşımaktadırlar (Marchesini ve ark., 2003). NASH'de karaciğerde trigliserid ve kolesterol sentezi artarken aynı zamanda VLDL sentezi de artar. Karaciğerde yüksek kolesterol miktarı da NASH ile ilişkilidir. Ayrıca LDL ve VLDL alt sınıflarından oluşan total lipid konsantrasyonu da NASH ile ilişkilidir (Männistö ve ark., 2014). NAYKH; tehlikesiz karaciğer yağlanması, iltihaplı steatozis, iltihaplı ve hafif ileri derecede fibrozlu steatozis, yalnız fibrozlu steatozis, siroz ve son dönem karaciğer hastalığı gibi farklı non-alkolik steatohepatit (NASH) formlarını kapsamaktadır. NASH fibrozise sınırsız ilerleyebilir ve kriptojenik siroz vakalarının çoğundan sorumludur. NASH; makrosteatoz, karışık lobüler inflamasyon ve zon 3 hepatoselüler hasarın varlığı ile karakterizedir. Metabolik sendromun özelliklerinin varlığı NAYKH ilerlemesinde önemli olabilir. İlk biyopsiden en az 3 yıl sonra karaciğer biyopsisi uygulanan 109 NASH'li hastaların üçte birinde karaciğer fibrozunun gelişmesi tespit edilmiştir. Bu veriler; NASH'in metabolik sendromun bir parçası olarak daha yüksek kardiyovasküler hastalık riskine katkıda bulunduğuna dair hipoteze uygundur (Hasson ve ark., 2016).

NAYKH'nin NASH, fibrozis ve siroza ilerlemesi, daha önce endotel disfonksiyonu ve patolojik anjiyogenez ile bağlantılıdır. Aslında, NAYKH azalmış brakial arter akım aracılı vazodilatasyon ve daha düşük periferik tonometri oranı gibi endotel disfonksiyonunun çeşitli endeksleriyle kuvvetli bir şekilde bağlantılıdır. NAYKH'li hastalarda asimetrik dimetilarginin ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1 gibi endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz belirteçlerinin serum seviyelerinde artışlar bildirilmiştir (Lefere ve ark., 2017).

Lefere ve ark. (2017), anti-vasküler endotelial büyüme faktörü (anti-VEGF) antikoları ile yaptıkları tedavinin, deneysel steatohepatiti azalttığı ifade etmektedirler. Endotel disfonksiyonu ve patolojik anjiyogenezis sırayla; intrahepatik vasküler direnci arttırdıkları, sinüzoidal mikrovasküler yapıyı bozdukları, lökosit infiltrasyonunu modüle

ettikleri ve lokal doku hipoksisine neden oldukları için karaciğerde daha fazla hasara yol açmaktadır. Anjiyogenez ve endotel disfonksiyonu, diyagnostik markır olarak rolleri tam olarak araştırılmamasına rağmen NAYKH'nin ilerlemesinde önemli mediyatörlerdir.

Çok sayıda ilaç NASH'de fibrozu tersine çevirmek için araştırılmıştır. İlaçların hiçbirinin karaciğer fibrozunda gerileme sağlamadığı ifade edilmektedir. Son çalışmalar; liraglutid, obeticholic acid ve telmisartan'ın NASH'li insan deneklerde hepatik fibrozu tersine çevirebileceğini ifade etmektedir. Kilo kaybının karaciğer fibrozu da dâhil olmak üzere NASH'ın histolojik özellikleri üzerinde önemli bir etkisi vardır (Ebrahimi ve ark., 2018).

2.3. Fibrozis

Karaciğere gelen serbest yağ asitleri trigliseritlere dönüştürülerek hepatik lipit birikimine neden olur. Bu birikim hepatik lipotoksisite, ER stres, oksidatif stres ve inflamasyon aktivasyonuna neden olmaktadır ve hepatik fonksiyonun bozulmasıyla karaciğer hasarı meydana gelmektedir. Hasar sonucu; stellat hücreleri, sekrete kollajenler ve diğer matriks proteinlerinin artmasıyla fibrozis oluşmaktadır (Donnelly ve ark., 2005; Asrih ve Jornayvaz, 2015). Çoğu durumda yağlı karaciğer daha ağır karaciğer hastalıklarına ilerlemese de, hastaların yaklaşık % 20-30'unda fibrozis ve nekrotik yangı belirtileri vardır (Marchesini ve ark., 2003).

Fibrozis, hücre dışı matriks oluşumundaki bozukluklardan ve matriks metaloproteinazlar (MMP) ve bunların inhibitörlerinden metaloproteinaz doku inhibitörlerinin (TIMP) hücre dışı enzimler tarafından regüle edilen dejenerasyonundan kaynaklanır. Her ne kadar geniş bir hücre yelpazesi, hepatik yıldız hücrelerinin hepatik fibrojen aktivasyonuna katkıda bulunsa da, karaciğerdeki parenkimal olmayan hücrelerden birinin, bu süreçte çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Hepatik yıldız hücreleri, miyofibroblastlara dönüşen ana hücrelerdir. Bu hücreler, yaralanma bölgelerinde birikebilen ve hücre dışı matriksin birikmesini artırabilecek yüksek oranda proliferatif soylardır. Karaciğer hasarı nedeniyle fibrojenik sitokinlerin otokrin ve parakrin sekresyonu, hepatik yıldız hücrelerinin sakin bir formdan, göçmen ve oldukça proliferatif bir özelliğe sahip olan aktif bir myofibroblastik duruma geçişini teşvik eder. Tümör nekroz faktörü α (TNF- α), transforme büyüme faktörü β (TGF- β), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve interlökin 1 (IL-1), fibrojeniz yolaklarında yer alan bilinen sitokinler arasındadır. Aktif hepatik yıldız hücreleri, A vitamini depolarını kaybettiklerinde, fibrojenik proteinleri ve α -düz kas aktinini (α -SMA) eksprese ederler. Ayrıca portal fibroblastlar ve kemik iliği

kaynaklı mezenkimal hücreler gibi ekstrahepatik hücrelerin de miyofibroblast olarak hücre dışı matriks sentezine katkıda bulunabileceği gösterilmiştir. Ayrıca kronik hepatik hasar, kupffer hücrelerinden fibrojenik sitokinlerin salgılanmasının yanı sıra hepatosit apoptozisini uyarır ve bu apoptotik cisimler hepatik yıldız hücre aktivasyonunu teşvik eder. Karaciğer hasarına cevap olarak, kupffer hücreleri aktif formlarına dönüşür ve kemokin reseptörlerini eksprese eder, C-C Motif Chemokine Ligand 2 (CCL2) dâhil enflamatuvar sitokinler salgılar ve daha da önemlisi hepatik yıldız hücre aktivasyonunu indükler. Karaciğerde fibrozis oluşumu bağışıklık sisteminin yakın takibi altındadır. Doğal öldürücü hücreleri ve IFN- γ hepatik fibrozisin rezolüsyonunda önemli rol oynar. Doğal öldürücü hücreler, karaciğer fibrozunun ilerlemesi ile azalan antifibrotik özelliklere sahiptir. Doğal öldürücü hücreler, doğrudan miyofibroblast hücrelerini istila eder ve miyofibroblast apoptozunu indükler. Bu sürece, TNF ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand (TRAIL) aracılık eder. IFN- γ , doğal öldürücü hücrelerinin miyofibroblast öldürme kabiliyetini artırır ve hepatik yıldız hücre apoptozisini indükleyebilir. TLR3'ün doğal öldürücü hücrelerinin aktivasyonunu uyarması dikkat çekicidir. IFN- γ hepatik yıldız hücrelerinin apoptozuna ve hepatik yıldız hücrelerinin çoğalmasının inhibe edilmesine aracılık eder (Ebrahimi ve ark., 2018).

Karaciğer fibrozunun klinik olarak tedavi edilmesinde iki ana yaklaşım izlenmektedir. Bunlar altta yatan hasarın hepatositlerden kaldırılması ve hasarın etkisinden sonra karaciğer dokularının farklı bileşenleri üzerinde ortaya çıkmış fibrozis sürecine müdahale etmektir. Karaciğer fibrozunun tedavisindeki ilk adım, teşvik edici uyarı ortadan kaldırmaktır. Karaciğer fibrozunun spontan olarak eski haline dönüşü nadiren bildirilmektedir; ancak otoimmün hepatit, hemokromatoz ve safra sirozu da dahil olmak üzere altta yatan karaciğer hastalıklarının farklı tiplerinin tedavisini takiben pek çok fibrozis vakasının düzeldiğini ifade eden raporlar da vardır (Ebrahimi ve ark., 2018).

2.4. *Thymus vulgaris* (Kekik) ve Thymol

2.4.1. *Thymus vulgaris* (Kekik)

Thyme (*Thymus vulgaris* L., Lamiaceae) güçlü, baharatlı bir tadı ve kokusu olan ve Avrupanın akdeniz bölgesine özgü önemli bir bitkidir. *T. vulgaris* şu anda enfeksiyöz hastalıkların, astımın ve çeşitli inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *T.*

vulgaris'in uçucu yağları, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan etkiye sahiptir (Amirghofran ve ark., 2012).



Resim 2: *Thymus vulgaris* (Kekik)

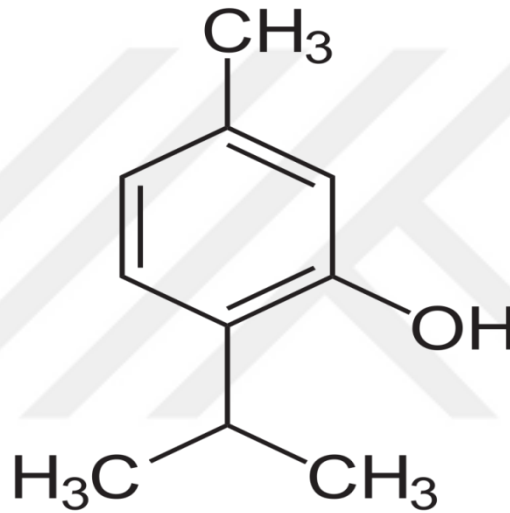
Kekikte bilinen temel bileşenler; esansiyel yağlar (borneol, karvakrol, simol, linalool ve Thymol), tanin, flavonoidler (apigenin ve luteolin), saponinler ve triterpenik asitlerdir. Taze yapraklardan ve çiçeklerden alınan özler ve esansiyel yağlar gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetiklerde aromatik katkı maddeleri olarak kullanılabilir. *T. vulgaris* antispazmolitik, karminatif, diaphoretik, balgam söktürücü ve sedatif özelliklere sahiptir. Bir boyarmadde, ekstrakt ve infüzyon olarak akut bronşit, larenjit ve boğmaca, ayrıca diyare, kronik gastrit ve iştah kaybında sıklıkla kullanılır. Geraniol, alfa-Terpineol, Thymol-4, Linalool, Carvacrol ve Thymol olmak üzere 6 kemotipin her biri dominant monoterpeninden sonra isimlendirilir. Kekik uçucu yağı, parfümeri ve kozmetikte, özel ve karakteristik aroma nedeniyle ham maddeyi oluşturur. Ayrıca, kekiğin, antifungal ve antibakteriyel, spazmolitik ve antitussif, balgam söktürücü ve sekretomotor gibi farmakolojik etkileri kanıtlanmıştır (Kovács ve ark., 2016). Thymol ve Carvacrol gibi esas bileşiklerle Thyme (*Thymus vulgaris*) esansiyel yağı, tıpta çokça kullanım alanı bulmuştur (Khosravipour ve Direkvand-moghadam, 2016).

Bitki özleri ve tek bileşikler ya da miks karışımlar olarak baharatlar, hayvanların hem sağlık durumlarını hem de performansını desteklemede önemli bir rol oynayabilir. Hayvan beslemede bitkisel ekstratların ya da aktif maddelerin birçok faydalı etkileri olabilir. Bunlar; iştah ve yem alımının uyarımı, endojen sindirim enzimlerin sekresyonunun iyileştirilmesi, immün yanıtın aktivasyonu, antibakteriyel, antiviral, antihelmintik özelliklerdir. İnsanlarda bitki özlerinin ya da aktif bitki maddelerinin farmakolojik etkileri çok iyi bilinmektedir fakat hayvan beslemede hassas deneylerin sayısı oldukça düşüktür. Kekikten (*Thymus vulgaris*) elde edilen uçucu yağlar mikrobiyal büyüme inhibitörleri olarak antibakteriyel ve antiviral aktivite için değerlendirilmiştir (Rahimi ve ark., 2011).

Thyme (*T. vulgaris*) ayrıca antimikrobiyel ve antiseptik özelliğinden dolayı geleneksel olarak solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu bitki ticari antibiyotikler yerine kullanılabilir. Broilerlerin diyetine 1g/kg *T. vulgaris* ilavesi, canlı ağırlık kazanımını ve besleme dönüştürme etkinliğini arttırmıştır (Souri ve ark., 2015). 100 ppm ve 200 ppm kekik yağı ve % 2 *T. vulgaris* bitkisi yem alımını, canlı ağırlık kazanımını ve besleme dönüştürme etkinliğini arttırmıştır. Bunların yanısıra dışkılama yüzdesini ve kalp, karaciğer ve kursak ağırlıklarını da arttırmıştır. Bu tedaviler abdominal yağ azaltmıştır. Kanatlılarda 42 gün boyunca % 0.1 lik bir *T. vulgaris* dozu antikor yanıtını arttırmıştır. Kekik ürünleri; broiler tavuklarda antilipidemik ve kolesterol düşürücü etkilere sahiptir. Ancak, bazı yazarlar kekiğin kolesterol seviyeleri üzerine etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir. Yumurtacı tavukların % 0.5 ve % 1'lik *T. vulgaris* ile beslenmesi, plazma kolesterol, HDL ve LDL kolesterol değerlerini değiştirmemiştir. Bu çalışmadan, *T. vulgaris* özütünün, heterofil yüzdesini ve heterofil/lenfosit oranını azaltırken *S. khuzestanica* veya *T. vulgaris* etanolik ekstraktının tek başına veya içme suyuyla kombinasyon halinde broiler tavuklarının performansını, kan kolesterolünü veya trigliseritlerini etkilemediği sonucuna varılmıştır. Piliçlere verilen ekstrakt seviyeleri çok düşük olup, transportun göğüs ve uyluk kası üzerindeki etkilerini iyileştirmemişlerdir. Bu ekstraktların broylerlerin beyaz kan hücresi popülasyonlarını ve bağışıklıklarını arttırmada kullanılabilecekleri tartışmalıdır (Souri ve ark., 2015).

2.4.2. Thymol

Thymol (2-izopropil-5-metilfenol) Thymus, Ocimum, Origanum, Satureja, Thymbra ve Monarda cinsleri gibi Lamiaceae familyasına ait bitkilerden elde edilen uçucu yağlarda bulunan ana monoterpen fenoldür. Ayrıca Thymol *Lippia gracilis* Schauer, (Verbenaceae), *Euphrasia rostkoviana* Hayne (Scrophulariaceae), *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) ve *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague (Apiaceae) gibi diğer bitkilerde de bulunabilir (Khosravi ve Erle, 2016).



Şekil 1: Thymol'ün kimyasal yapısı

Thymol, c-terpinenin p-cymene aromatzize edilmesi ve ardından p-cymene'nin hidroksilasyonu ile biyosentezlenir. Bu türlerden elde edilen uçucu yağlar gıda endüstrisinde antik çağlardan beri tatlandırıcı, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri nedeniyle koruyucu ajan olarak kullanılmıştır (Khosravi ve Erle, 2016). Thymol ayrıca sivrisinekler üzerindeki kovucu etkisinden dolayı ticari formülasyonlarda kullanılmaktadır. Özellikle, Thymolün *Culex pipiens pallens* türü sivrisinekleri püskürttüğü ve larvaları üzerinde toksik bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Marchese ve ark., 2016). Thymolün suda çözünürlüğünün düşük olduğu ve hoş olmayan tadı ve kokusundan dolayı kötü lezzete sahip olduğu bilinmektedir (Nieddu ve ark., 2014).

Haeseler ve ark. (2002), rodentlerde thymol'ün sikatrizan aktivitesini göstermiş olup ve antiinflamtuvar aktivitesini de doğrulamışlardır. Thymol'ün antiinflamatuvar aktivitesi

(10, 30, 100 mg/kg dozlarda) ödem ve peritonitis modellerinde, myeloperoksidaz (MPO) aktivite değerlendirmesi, toplam hücre sayımı ve histolojik analizlere göre belirlenmiştir. Sonuçlar thymol'ün ödemi önemli ölçüde azalttığını ve MPO aktivite değerlendirmesi, toplam hücre sayımı ve histolojik analizlere göre lökositlerin hasarlı bölgeye göçünü artırdığını göstermektedir. Thymol içeren kollajen film ile kaplanmış yaraların, tedaviden 7 ve 14 gün sonra önemli ölçüde iyileşme ve gelişmiş granülasyon reaksiyonu gösterdiği ortaya koyulmuştur. Thymol'ün inflamatuvar süreçlerin ve yara iyileşmesinin tedavisinde kullanılacak umut verici bir bileşik olduğu sonucuna varıldığı ifade edilmektedir.



Resim 3: Thymol'ün (2-Isopropyl-5-methylphenol, Sigma-Aldrich) toz görünümü

Son zamanlarda, thymol'ün hücre büyümesinin inhibisyonu, apoptozis ve mitokondriyal membran potansiyelinin depolarizasyonu gibi antikanser etki gösterdiği ifade edilmektedir (Kang ve ark., 2015). 100, 200 ve 400 μ M thymol ile 24 saatlik gastrik hücrelerin tedavisi, gastrik hücrelerde alt G1 fazını uzatılmasıyla hücre döngüsüne etki ederek gastrik hücre büyümesinin doza bağlı bir şekilde inhibe edilmesine neden olmuştur. Ayrıca, diğer analizler (Annexin V-FITC ve PI boyama) Thymol'ün apoptozis ile hücre ölümünü indüklediğini göstermiştir. Bir bütün olarak ele alındığında, bu sonuçlar thymol'ün antikanser ajanı olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Kang ve ark., 2015).

Özellikle son 20 yılda birkaç *in vitro* çalışma, thymol'ün antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Yapılan bir çalışmada *Thymus vulgaris* L. elde edilen uçucu yağların Gram-negatif (*Escherichia coli*, *E. coli* O157: H7, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*) ve Gram- pozitif (*Micrococcus spp.*, *Sarcina flava*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus licheniformis*, *B. thuringiensis*, *Listeria innocua*) bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi değerlendirildi. Sonuçlar tüm kekik esansiyel yağlarının yukarıda belirtilen mikroorganizmalara karşı bakteriyostatik etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Marchese ve ark., 2016).

2.5. *Thymus vulgaris* ve Thymol'ün İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Kekik gibi flavonoidler bakımından zengin olan bitkiler C vitaminin aktivitesini artırır, antioksidan görevi görür ve bu nedenle bağışıklık fonksiyonlarını geliştirebilirler (Bagetta ve ark., 2012; Kılıçoğlu ve ark., 2017). Thymol+carvacrol'ün sürekli uygulanması hücrel ve humoral immün yanıtı artırma potansiyeline sahiptir. Thymol+carvacrol (60mg/kg) içeren diyetle beslenen tavuklarda SRBC (Sheep Red Blood Cell) antijenine karşı antikor yanıtı ve IgG miktarının arttığı ifade edilmektedir (Hashemipour ve ark., 2013). Ayrıca, thymol ve kekik esansiyel yağının polifenol fraksiyonunun mononükleer fagositer sistem üzerindeki etkinliğine göre immünstimulant bir aktivitesi olduğu ifade edilmektedir (Hashemipour ve ark., 2013).

Thymol ve carvacrol kulak ödemi, karajenan indüklenmiş pleuritis ve *in vitro* kemotaksis modellerinde çalışılmıştır. Plöritis modelinde *T. vulgaris* esansiyel yağı, carvacrol ve thymol'ün inflamatuvar ödemi önemli ölçüde inhibe ettiği görülmektedir. Ancak sadece *T. vulgaris* esansiyel yağı ve carvacrol'ün lökosit göçünü inhibe ettiği görülmektedir. Kulak ödemi modelinde topikal antiinflamatuvar etki gösteren carvacrol'ün (10mg/kulak) topikal olarak uygulandığında ödem oluşumunu azalttığı, thymol'ün ise histamin ve prostanooid salımına bağlı olarak tahriş edici etkisinin yanı sıra ödem oluşumunu azaltmayıp aksine bir etki gösterdiği görülmektedir. Bu sonuçlar *T. vulgaris* esansiyel yağı ve carvacrol'in antiinflamatuvar etkilerinin inflamatuvar ödem ve lökosit göçünün inhibisyonuna atfedildiğini göstermektedir (Fachini-Queiroz ve ark., 2012).

Her biri geleneksel olarak infeksiyöz ve yangısal hastalıkların tedavisi için kullanılan Labiatae familyasına ait üç bitkinin (*T. vulgaris*, *T. daenensis* ve *Zataria multiflora*) bu etkilerinin yanı sıra, bu bitkilerin ana bileşenlerinden biri olan thymol'ün lenfosit

aktivasyonu üzerindeki potansiyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; thymol konsantrasyona bağlı bir şekilde indüklenebilir lenfosit proliferasyonunu % 62.8'den (50 ug/ml) % 89.8'e (200 ug/ml'de) kadar değişen düzeyde azaltarak inhibe ettiği bildirilmiştir. Propidium iyodür boyama kullanılarak yapılan flow sitometrik analizde, thymol'ün 200 ug/ml'de inhibe edici etkisinin bir sitotoksik aktiviteye bağlı olduğunu gösterilmiştir. Sonuç olarak burada incelenen üç bitkinin (*T. vulgaris*, *T. daenensis* ve *Zataria multiflora*) her biri lenfositlere karşı immünosupresif etki göstermiştir ve bu etkiden sorumlu bileşiğin thymol olmasının muhtemel olduğu ifade edilmektedir (Amirghofran ve ark., 2011).

Thymus vulgaris uçucu yağlarının *in vivo* olarak anti-inflamatuar etkilere sahip olduğu ifade edilmektedir. Bununla birlikte, izole edilen thymol ve carvacrol (CVL) bileşikleri antagonist etkiye sahiptir. Thymol muhtemelen histamin, prostanoidler ve diğer enflamatuar maddeleri içeren irritatif bir etkiye sahiptir. CVL, *in vitro* kemotaksis ile *T. vulgaris* uçucu yağlarının anti-inflamatuar etkilerinden sorumlu bileşik olabilir. Thymol'ün inhibitör etkisine ek olarak, CVL'nin lökosit migrasyonu üzerindeki inhibe edici etkisinin antiinflamatuar etkiye katkıda bulunduğu hipotezini desteklemektedir (Fachini-Queiroz ve ark., 2012).

Thymus vulgaris'in albino ratların büyüme performansı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yem katkı maddesi olarak kullanıldığında oksidatif stres ve dengesizlikleri kontrol altına aldığı ve daha iyi bağışıklık geliştirmeye yardımcı olabilecek antioksidan seviyeyi artırdığı görülmüştür. Bu, *T. vulgaris*'in ratların tüketmesi için güvenli olacağı anlamına gelir ve bu da laboratuvar hayvanının daha sağlıklı ve daha iyi büyüme sergilemesine yardımcı olabilmektedir (Abdel ve Sayed, 2016).

Lenfosit proliferasyonu; inflamasyonun başlaması ve gelişimine sebep olan kritik bir olaydır. Amirghofran ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada; *T. vulgaris* ve *Z. multiflora* karışık lenfosit reaksiyonu üzerindeki inhibe edici etkisine rağmen, her ikisi de dentritik hücrelerde CD40 ekspresyonunu artmıştır. Dentritik hücrelerin bu özütlerle aktifleştirilmesinin IL-10 gibi inhibe edici sitokinlerin salınmasına yol açması mümkündür. Bu sitokin, proliferatif yanıtın yanı sıra saflaştırılmış T hücreleri ve dentritik hücreler arasındaki karışık lenfosit reaksiyonu IFN γ üretimini inhibe edebilir. Bu çalışmanın sonuçları *T. vulgaris* ve *Z. multiflora* özlerinin, dentritik hücrelerde CD40 ekspresyonunu önemli ölçüde artırdığını ve bu hücrelere bir aktivasyon sinyali sağlama

kabiliyetlerini artırdığını göstermiştir. *T. vulgaris* ve *Z. multiflora* hem mitojenik hem de allojenik T hücresi yanıtını inhibe ederken *T. daenensis* sadece mitojenik T hücresi proliferasyonunu etkilemiştir. Bu veriler incelenen bitkilerin immünomodülatör etkilerini göstermektedir (Amirghofran ve ark., 2012).

CCl₄ ile uyarılan hepatotoksisite modelinde, test edilen yağların hepatoprotektif etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonuçları; kekik bitkisinden izole edilen uçucu yağların deneysel olarak uyarılmış karaciğer hasarında gerileme, kemotaksis ve sitokinlerin (IL-1 β , IL-6) üretilmesi üzerine bazı biyolojik aktivitelerinin olduğunu göstermiştir. Bu yağların hücre proliferasyonu veya fagositoz üzerinde etkisi olmamıştır. Aynı zamanda, bu yağların hiçbiri üstün bir etki göstermemiştir. Bir başka popüler doğal immünomodülatör olan B-glucagon ile karşılaştırıldığında biyolojik etkileri çok sınırlıdır. Bu yağların bileşiminde önemli farklılıklar gösterdiğinden, kimyasal bileşim ve biyolojik aktivite arasında bir sonuca ulaşılamamıştır. Elde edilen sonuçlara göre, bu uçucu yağların kullanımı doğal immünomodülatörler olarak sorgulanmaya açıktır (Vetvicka ve Vetvickova, 2016).

Plevral boşlukta eksüdat birikimi ve lökosit göçünün değerlendirildiği plöritis modelinde 250, 500 ve 750 mg/kg'lık dozlarda *Thymus vulgaris* uçucu yağının, inflamatuvar eksüdatı önemli ölçüde azalttığı ifade edilmektedir. 750 mg/kg'lık bir dozda *Thymus vulgaris* uçucu yağı, göç eden hücrelerin sayısını azaltmıştır. Carvacrol ve thymol, plevral inflamatuvar eksüdatların hacmini 400 mg/kg'lık bir dozda sırasıyla % 47.3 ve % 34.2 oranında azaltmıştır (Fachini-Queiroz ve ark., 2012).

Kovac ve ark. (2016), spirulina ve kekik diyet takviyesinin immün yanıt ve antioksidan durum üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmadığı sonucuna varmışlardır. Bu nedenle ilave çalışmaların yapılmasının gerektiğini ve diğer etkilere, yani konsantrasyon ve uygulama süresine odaklanılması gerektiği tavsiyesinde bulunmuşlardır.

Shu ve ark. (2016), tarafından yapılan çalışmanın sonuçları, thymol tedavisinin nematodlardaki *C. albicans* enfeksiyonunu önemli ölçüde ortadan kaldırdığını göstermiştir. Şüphesiz, thymol diğer fenol bileşikleri gibi ağız ve boğazı sterilize etmek için kullanılır ve etkileri diğer genel fenol bileşiklerinden daha üstündür (Şengezer ve Güngör, 2008). Thymol ayrıca; üst solunum yolu, gastrointestinal bozukluklar ve infeksiyöz hastalıklarda da tedavi amacıyla kullanılabilir (Marchese ve ark., 2016). Thymol tedavisinin, nematodlarda *C. albicans* enfeksiyonu tarafından indüklenen

immün-ilişkili genlerin bozulmuş ekspresyonu iyileştirdiği (artırdığı) görülmüştür. Thymol tedavisi, konakçının doğuştan gelen bağışıklık yanıtı üzerindeki etkileri de dâhil olmak üzere, nematodlardaki *C. albicans* enfeksiyonu sırasında yararlı etkiler gözlemlenmesine neden olmuştur. Bu sonuçlar gelecekte thymol'ün antifungal tedavide potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Shu ve ark., 2016).

2.6. Hepatik Lipidozisin İmmun Sistem Üzerine Etkisi

Karaciğerde, hepatositlere ve kolanjiositlere ek olarak lenfosit, monosit, kupffer hücresi, doğal öldürücü ve dendritik hücreleri olmak üzere bağışıklık sistemi ile ilişkili çok sayıda hücre bulunmaktadır. Bu sebeple karaciğer bir bağışıklık organı olarak düşünülebilir. Bu hücrelerin çoğu doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bileşenleridir ve karaciğerin patojenlere yanıt vermesinde önemli bir rol oynamasını sağlar (Meli ve ark., 2014). İlave olarak, karaciğer akut faz proteinleri, sitokinler, kemokinler, lipit habercileri ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi çeşitli proteinlerin sentezinin yapıldığı yerdir (Meli ve ark., 2014). Karaciğerdeki inflamatuvar süreçlerin esas amacı sadece enfeksiyonlarla savaşmak değil aynı zamanda hemodinamik değişiklikler, kılcal damarların geçirgenliği, beyaz kan hücrelerinin dokulara göçü, inflamatuvar mediyatörlerin salgılanması gibi fizyolojik süreçleri teşvik etmektir (Robinson ve ark., 2016). Karaciğer, gastrointestinal sistemden çeşitli immünojenik faktörlere (besinler, peptidoglikanlar, fosfolipidler, lipopolisakkaritler (LPS), lipoproteinler ve yüzey proteinleri) maruz kalan eşsiz bir bağışıklık ortamıdır. Bu faktörlerden herhangi biri varsa, karaciğerin bağışıklık sistemi negatif aktivasyona maruz kalır ve bu da iltihaplı bir durum, hücre hasarı, fibroz, organ disfonksiyonu ve karsinogenez gelişmesine yol açabilmektedir (Seki ve Brenner, 2008). Kupffer hücreleri, pattern tanıma reseptörleri (PRR'ler) yoluyla eksojen substratların varlığını ilk tespit eden ve proinflamatuvar sitokinleri (IL-1, TNF-a, IL-6) ve kemokinleri serbest bırakan hücrelerdir (Cai ve ark., 2018). Akut faz yanıtı; konakçının enfeksiyon, travma ve doku hasarı gibi stimulanlara vermiş olduğu nonspesifik genel bir immun yanıttır. Akut faz yanıtının rolü patojenleri nötralize ve izole etmek, patojenlerin girişini önlemek, onarım süreçlerini teşvik etmektir. Ayrıca, TNF- α , IL-1 ve IL-6 karaciğerde serum amiloid A (SAA) ve haptoglobin gibi çeşitli proteinlerin üretimini teşvik eder (Ametaj, 2005).

Hepatik lipidozis ve immun sistem arasındaki ilişki; ruminantlarda, laboratuvar hayvanlarında ve insanlarda araştırılmıştır (Ametaj, 2005; Meli ve ark., 2014; Cai ve ark., 2018). İmmun sistem, özellikle inflamatuvar yanıt, sığırlarda gebeliğin sonlarına doğru önemli modifikasyonlar göstermektedir (Jahan ve ark., 2015). İnflamasyon ve bozulmuş immun yanıt, geçiş periyodundaki sığırlarda metabolik bozuklukların patobiyolojisinde kayıp halka olarak ileri sürülmüştür. İnflamatuvar mediyatörlerin direkt olarak metabolik bozukluklara yol açtığına dair güçlü kanıtlar da mevcuttur (Esposito ve ark., 2014). Doğum sonrası ortaya çıkan hepatik lipidozis, yüksek verimli ineklerde enfeksiyöz hastalıklara karşı hassasiyeti arttırmakta (Geelen ve Wensing, 2006) ve bu duruma immunsupresyonun neden olabileceği ifade edilmektedir (Alaçam, 2011). İmmunsupresyonun sebepleri tamamen bilinmemektedir fakat sürü yönetimi, beslenme ve hormon seviyeleri gibi çeşitli faktörleri kapsamaktadır. Kuru dönem boyunca sığırların düzgün beslenmesi, laktasyon boyunca performans için anahtar bir role sahiptir. Gebeliğin son dönemlerinde, yanlış diyet yönetimi, hayvanları negatif enerji balansına predispoze hale getirmektedir. Laktasyonun ilk dönemlerinde, hem enfeksiyöz hem de metabolik sağlık problemleri ortaya çıkmaktadır. Aslında laktasyonun ilk dönemindeki negatif enerji balansı (NEB), hepatik lipidozise ve ketozise sebep olabilmektedir. Ayrıca, lökosit fonksiyonlarında negatif bir etkiyi meydana getirerek immunsupresyona neden olmakta ve mastitis gibi enfeksiyöz hastalıklara karşı büyük bir hassasiyet oluşturmaktadır. Buzağılamadan birkaç hafta öncesi ve sonrasında immun yanıtın baskılanması sebebiyle belirgin olarak lökosit sayıları ve fonksiyonları değişmekte ve nötrofil trafiği bozulmaktadır. İlave olarak periparturient dönemde azalmış lenfosit proliferasyonundan dolayı lenfosit sayıları da azalabilmektedir (Meglia ve ark., 2005).

Geçiş periyodu süresince, immun sistem fonksiyonları, dolaşımdaki artmış glukokortikoidler tarafından bozulabileceği iddia edilmektedir. Bu periyotta enfeksiyonlara yatkınlıktaki artış, kısmen bu artış ile açıklanabilir. Fakat çalışmalar NEB'in metabolik komponentlerinin (artmış NEFA ve BHBA) *in vitro* immun sistemin fonksiyonlarında bir eksiklik ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Moyes ve ark., 2010). Doğum sonrası azalan bağışıklık yanıtını kontrol etmek için deney (hepatik lipidozis grubu) ve kontrol grubundaki (sağlıklı) inekler; doğumdan sonra 3. günde tetanoz toksoid aşısı ile aşılanmıştır. Deney grubundaki ineklerin aşılamadan sonra 14. günde kontrol grubundakilere kıyasla humoral ve hücresele immünolojik yanıtlarının azaldığını gösteren

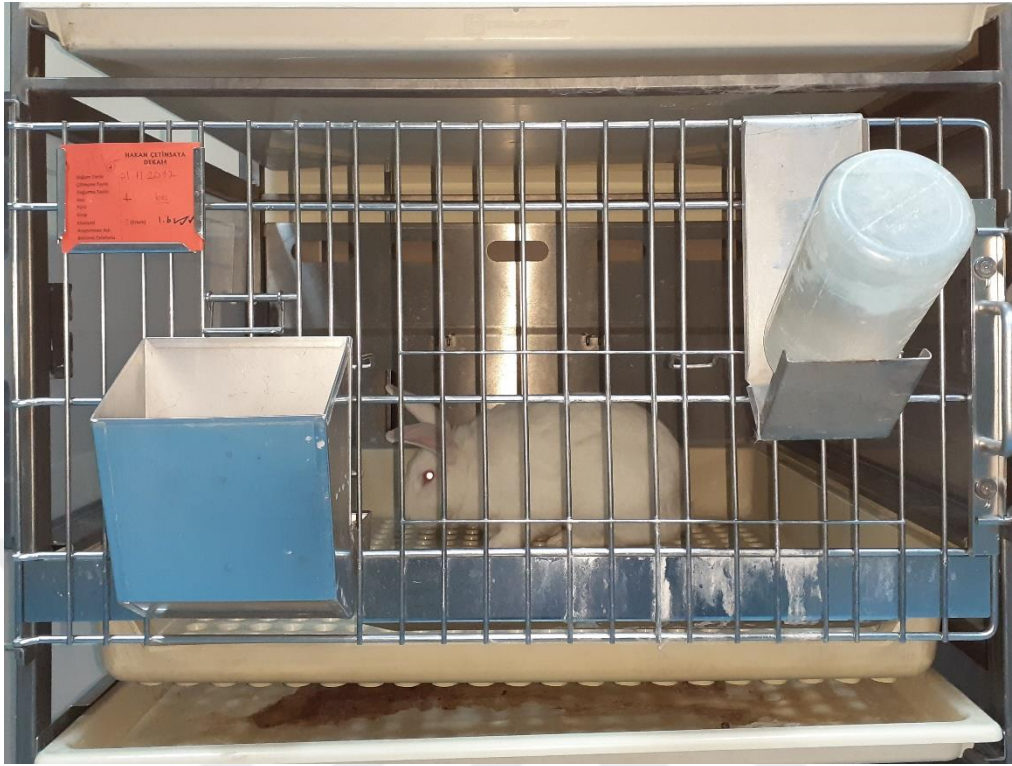
daha düşük tetanoz toksoid spesifik immüoglobulin G titrelerine sahip oldukları ortaya konulmuştur (Geelen ve Wensing, 2006). NEB ve yüksek plazma NEFA konsantrasyonları, pospartum periyotta periparturient immunsupresyonu ve diğer sağlık ile ilgili endişeleri artıran bir faktör olarak yağlı karaciğer sendromunun gelişmesine katkıda bulunabilir. Son çalışmalar inflamatuvar genlerin şiddetli NEB'e maruz kalan sığırlarda hücre reseptör sayılarının arttığını göstermektedir. Ayrıca ketotik sığırlar, pospartum periyot süresince immunsupresedirler. Doğal olarak oluşan ketotik sığırlardan elde edilen lökositler, nonketotik sığırlardan elde edilenlerden daha düşük kemotaktik farklılıklara sahiptirler ve lökositler keton cisimciklerinin bulunduğu bir ortama göç ettiklerinde, kemotaktik kapasiteleri bozulmaktadır (Esposito ve ark., 2014). Yükselmiş plazma serbest yağ asitleri, lenfositlerin proliferasyon ve poliklonal stimülasyona yanıtta interferon gamma ve immüoglobulin M sekrete etme kabiliyetini değiştirmektedir. Ayrıca polimorfonükleer (PMN) hücre canlılığı ve oksidatif yanma reaksiyonlarında etkilemektedir. Plazma NEFA düzeyleri, bozulmuş periparturient immunitenin ve artmış enfeksiyon riskinin diagnostik bir markırı olabilir. Özellikle pre ve pospartum serum NEFA'ların 0.3-0.6 mmol/L den daha yüksek konsantrasyonları; ketozis, abomazum deplasmanı, retensiyon sekondaryum ve metritis oluşma riskinde artış ile ilişkidir (Esposito ve ark., 2014).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında, deneysel hepatik lipidozis oluşturulmuş tavşanlarda bitkisel tedavi amacıyla kullanılan kekik yağı ve thymol'ün metabolik parametrelerle birlikte, muhtemel yangısal sürecin izlenmesi amacıyla akut faz proteini, pro-inflamatuvar sitokinler ve inflamasyonla ilişkili genlerin ekspresyonlarının araştırılması için laboratuvar çalışmaları ve bunlara yönelik analizler gerçekleştirildi. Hepatik lipidozisin belirlenmesi amacıyla nekropsi ve histopatolojik analizler gerçekleştirildi. Ayrıca tavşanların kan biyokimya parametrelerinin analizleri, proinflamatuvar sitokin analizleri, akut faz protein analizi (CRP) yapıldı. İnflamasyonla ilişkili gen analizlerini ortaya koyabilmek için, karaciğerdeki hedef genlerin mRNA ekspresyonlarını gösterildi. Bu amaçla dokudan total RNA izolasyonu, cDNA analizleri ve uygun primerlerle hedeflenen gen bölgelerinin ekspresyon durumlarının analizi için gerekli işlemler gerçekleştirildi. Tez çalışmasında yürütülen tüm prosedür ve analizler aşağıda sırasıyla verilmiştir.

3.1. Araştırmada Kullanılan Hayvanlar, Bakım ve Besleme Koşulları

Araştırmada ortalama 3.41 ± 0.56 g ağırlığındaki 10-12 haftalık ve sağlıklı toplam 48 adet erkek yeni zelandalı ırkı tavşan kullanıldı. Hayvanlar 15 günlük adaptasyon dönemi ve çalışma boyunca Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (DEKAM) 60x60x30 cm boyutlarındaki özel tavşan kafeslerinde barındırıldı. Çalışma süresince her bir hayvanın günlük diyeti çalışma boyunca nihai vücut ağırlıklarını hizalamak için 100 g ile sınırlandırıldı ve *ad-libitum* su verilerek tekli kafeslerde barındırıldı. Tavşanlar deney süresince uygun havalandırma, standart ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık), ısı (22 ± 1 °C) koşullarında tutuldu.



Resim 4: Tavşanların tekli kafeslerde barındırılması

3.2. Hayvanların Gruplara Ayrılması

Adaptasyon dönemi sonunda, her grupta 8 adet tavşan ($n=8$) olmak üzere Tablo 1’de belirtildiği gibi gruplara ayrıldı. Normal diyet grubu araştırma boyunca standart tavşan yemi ile beslenirken, yüksek kolesterol diyet grubu ise % 1 kolesterol ilave edilen standart tavşan yemiyle beslendi. Çalışmada tavşanların rutin klinik kontrolleri çalışma süresince haftalık olarak takip edildi.

Tablo 1: Hayvanların Graplara Ayrılması

DENEK CİNSİ	DAĞILIMI		SAYISI
TAVŞAN	Gruplar	Grup I: ND	8
		Grup II: ND+ Thymol	8
		Grup III: ND+ Kekik Yağı	8
		Grup IV: YKD	8
		Grup V: YKD+ Thymol	8
		Grup VI: YKD+ Kekik Yağı	8

ND: Normal Diyet, **YKD:** Yüksek Kolesterol Diyeti

3.3. Tavşanlara Kekik Yağı ve Thymol Uygulamaları

Normal diyet ve yüksek kolesterol içeren diyetle beslemeyi takiben gruplara tabloda belirtildiği gibi günlük olarak kekik yağı (20 mg/kg, oral) ve thymol (6 mg/kg, oral) 11 hafta süreyle uygun padan ve besleme tüpü ile verildi (Meeren ve Prince, 2012; Placha ve ark., 2013; Yu ve ark., 2016; Hussein ve Mahdi, 2018; Abdel-Wareth ve ark., 2018).

3.4. Yüksek Kolesterol Diyetinin Hazırlanması

Standart tavşan yemi (Optima Besin Maddeleri San. ve Tic. A.Ş, Lüleburgaz/KIRKLARELİ) pelet formundan yem kırma makinası ile toz haline getirildi ve % 1 (ağırlık/ağırlık) oranında kolesterol (\geq 92.5 (GC), toz, (Sigma-Aldrich) ilave edildi ve 15ıl işleme maruz kalmadan tekrar yem peletleme makinası ile pelet formuna getirildi. Tahta ızgara üzerinde nemsiz, serin ve havalandırılabilir depoda muhafaza edildi.



Resim 5: % 1 kolesterol ilave edilmiş standart tavşan pelet yemi (19x6.2 mm)



Resim 6: Standart tavşan pelet yemi (Optima Besin Maddeleri San. ve Tic. A.Ş, Lüleburgaz/ Kırklareli)



Resim 7: Kolestrol (\geq % 92.5 (GC), toz, (Sigma-Aldrich))

Tablo 2. Standart tavşan yemi bileşimi (Optima Besin Maddeleri San. ve Tic. A.Ş., Lüleburgaz/ Kırklareli)

Analitik Bileşenleri	(%)
Ham Protein %	17
Ham Selüloz %	10.5
Ham Yağ %	3.25
Ham Kül %	8.25
Lizin %	0.73
Methionin %	0.48
Kalsiyum %	1.1
Fosfor %	0.64
Sodyum %	0.26
Vitaminler	Normal Diyet (kg başına)
A Vitamini, IU/kg	28000
D3 Vitamini, IU/kg	5040
E Vitamini, mg/kg	70
Kolesterol	0
İz Elementler	Normal Diyet (kg başına)
İyot, mg/kg	0.8
Kobalt, mg/kg	0.15
Bakır, mg/kg	10
Mangan, mg/kg	50
Çinko, mg/kg	50
Selenyum, mg/kg	0.15

3.5. Kan Örneklerinin Alınması

Çalışma süresince 0, 4, 8 ve 11. haftalarda kan örnekleri alındı. Plazma elde edilmesi amacıyla vakumlu sodyum sitratlı (% 3,8) tüplere, serum elde edilmesi amacıyla vakumlu jelli tüplere (sarı kapaklı) kan örnekleri alındı. Çalışma süresince 4 haftada bir kez olmak üzere hayvanların vena auricularis'inden 4'er ml alınan kan örnekleri, +4 °C'de, 3000 rpm'de ve 15 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Elde edilen serum ve plazmalar -20 °C'de donduruldu.

3.6. Canlı Ağırlıkların Tartılması

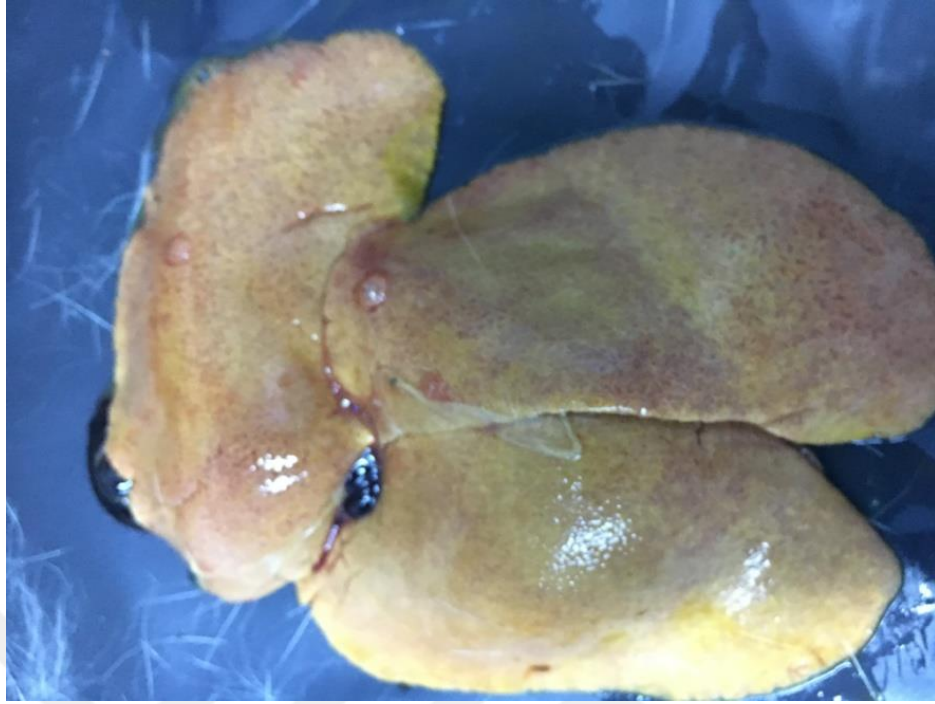
Çalışma süresince 0, 4, 8 ve 11. haftalarda tavşanların canlı ağırlıkları dijital tartı (PLUSMED pM-BS01) ile tartılarak kaydedildi.

3.7. Hayvanların Yaşamlarının Sonlandırılması

Çalışma sonunda tavşanlar gece boyunca aç bırakıldıktan sonra 50 mg/kg dozunda intramusküler yola enjekte edilen pentobarbital sodyum ile ötenezi edildi.

3.8. Karaciğer Doku Örneğinin Alınması

Karaciğerlerin makroskopik değerlendirilmesi yapılarak, fotoğrafları alındı (Resim 14-19). Histopatolojik olarak değerlendirilmesi amacıyla karaciğerlerinin aynı bölgelerinden olmak şartıyla alınan doku örnekleri hacminin 10 katı % 10 Formalin ile tespit edildi ve analizin yapılacağı laboratuara gönderildi.



Resim 8: Ötenazi işlemi sonrası karaciğerin doku örneği alınması amacıyla hazırlanması

3.9. Gen Ekspresyonu İçin Doku Örneğinin Alınması

Total RNA elde edilmesi amacıyla ötenazi edilen tavşanların karaciğerlerinin aynı bölgelerinden olmak şartıyla alınan karaciğer doku örneklerine 500 µl trizol (Qıazol) ilave edilerek -80 °C'de muhafaza edildi.



Resim 9: Karaciğerden total RNA elde edilmesi amacıyla örnek alınması

3.10. Biyokimyasal Analizler

Çalışmanın 0, 4, 8 ve 11. haftalarında kan biyokimya parametrelerinden; glukoz, albumin, AST, ALT, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, trigiliserit, total kolesterol ve C-reaktif protein (CRP-türbidimetrik) seviyeleri hizmet alımı ile Erciyes Üniversitesi, Gülser-Dr. Mustafa Gündoğdu Merkez Laboratuvarında biyokimya cihazı (Cobas c701) ile analiz edildi.

3.11. Sitokin Analizleri

Serum örneklerinden TNF- α , IL-1 β , IL-6 sitokin analizleri; Rabbit (TNF- α) ELISA Kit (201-09-0075), Rabbit (IL-1 β) ELISA Kit (201-09-0075), Rabbit (IL-6) ELISA Kit (201-09-0020) ticari test kitleri kullanılarak ve sandwich ELISA yöntemiyle test prosedürüne uygun olarak yapıldı ve sonuçlar Biotek ELx800 ELISA cihazında 450 nm’de okundu.

3.11.1. TNF- α Analizi

Standart Solüsyonlarının Hazırlanması: Standart solüsyonu hazırlamak için original standart solüsyonundan 120 μ l alınıp üzerine 120 μ l standart dilüent ilave edilerek seri dilüyonlarla final konsantrasyonu 50 pg/ml’e ayarlandı.

Tablo 3. TNF- α standart solüsyonların hazırlanması

800 pg/ml	Stand. No. 5	120 μ l Original Standart+120 μ l Standart Dilüent
400 pg/ml	Stand. No. 4	120 μ l Original Standart No.5+120 μ l Standart Dilüent
200 pg/ml	Stand. No. 3	120 μ l Original Standart No.4+120 μ l Standart Dilüent
100 pg/ml	Stand. No. 2	120 μ l Original Standart No.3+120 μ l Standart Dilüent
50 pg/ml	Stand. No. 1	120 μ l Original Standart No.2+120 μ l Standart Dilüent

Testin Yapılışı:

1. Blank Well: Chromagen solüsyon A 50 μ l, chromagen solüsyon B 50 μ l ve stop solüsyonu 50 μ l eklendi.
2. Standart Well: Standart 50 μ l, streptavidin-HRP 50 μ l eklendi.

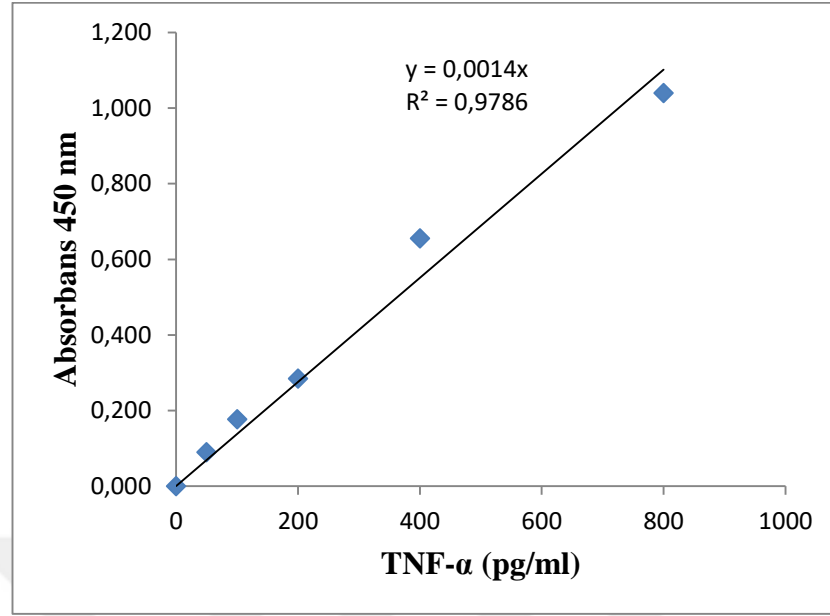
3. Test Well: Örnek 40 µl, TNF- α antikor 10 µl ve streptavidin-HRP 50 µl eklendi. üzeri kapatılarak hafifçe karıştırıldı. 37 °C’de 60 dakika süreyle inkübe edildi.
4. Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat dilüe edilerek hazırlandı ve pleyt 5 kez yıkandı.
5. Chromagen Solüsyon A 50 µl, chromagen solüsyon B 50 µl her bir well’e eklendi, hafifçe karıştırıldı, ışısız ortamda 37 °C’de 10 dakika süreyle inkübe edildi.
6. Reaksiyonu durdurmak için her bir well’e 50 µl stop solüsyonu eklendi.
7. 10 dakika içinde ELISA okuyucu (BioTek ELX800) ile 450 nm’de blank, standart ve örneklerin absorbans değerleri okutuldu.



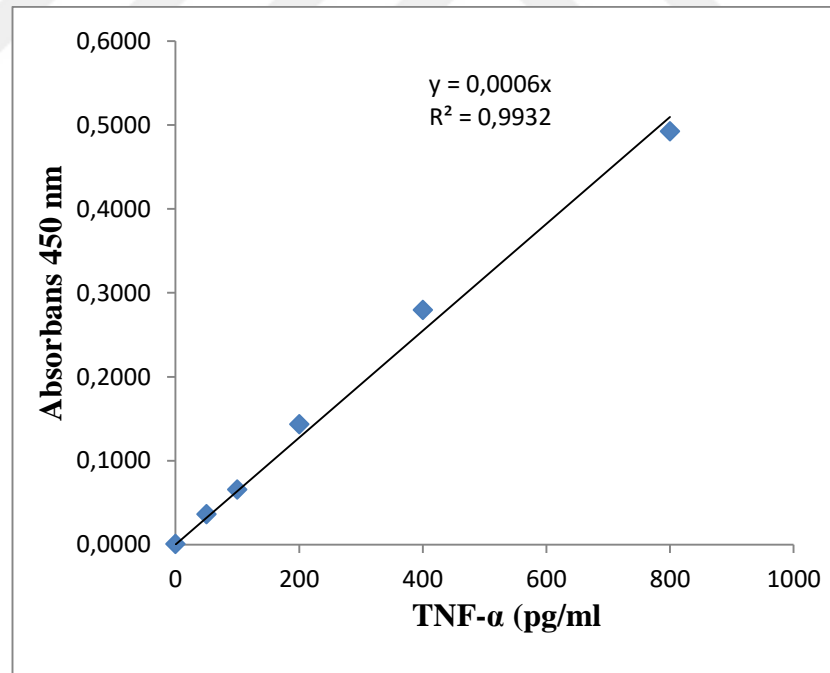
Resim 10: Pleytlerin ELISA okuyucu (BioTek ELx800) ile okunması.

TNF- α Konsantrasyonunun Hesaplanması

Standartların konsantrasyonu yatay olarak ve absorbans değerleri dikey olarak alındı. Standart eğri çizildi. Örnek eğrisi ile örnek absorbans değerine göre karşılık gelen konsantrasyon bulundu.



Şekil 2: Normal diyet ile beslenen tavşanlarda TNF- α standart eğrisinin oluşturulması



Şekil 3: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda TNF- α standart eğrisinin oluşturulması

3.11.2. IL-1 β Analizi

Standart Solüsyonlarının Hazırlanması: Standart solüsyonu hazırlamak için original standart solüsyonundan 120 μ l alınıp üzerine 120 μ l standart dilüent ilave edilerek seri dilüyonlarla final konsantrasyonu 25 pg/ml'e ayarlandı.

Tablo 4. IL-1 β standart solüsyonların hazırlanması

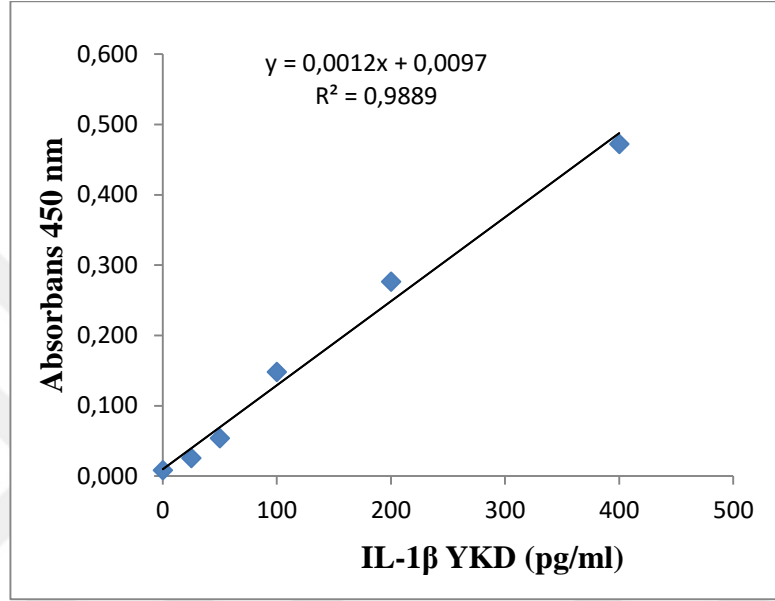
400 pg/ml	Stand. No. 5	120 μ l Original Standart+120 μ l Standart Dilüent
200 pg/ml	Stand. No. 4	120 μ l Original Standart No.5 +120 μ l Standart Dilüent
100 pg/ml	Stand. No. 3	120 μ l Original Standart No.4+120 μ l Standart Dilüent
50 pg/ml	Stand. No. 2	120 μ l Original Standart No.3+120 μ l Standart Dilüent
25 pg/ml	Stand. No. 1	120 μ l Original Standart No.2+120 μ l Standart Dilüent

Testin Yapılışı:

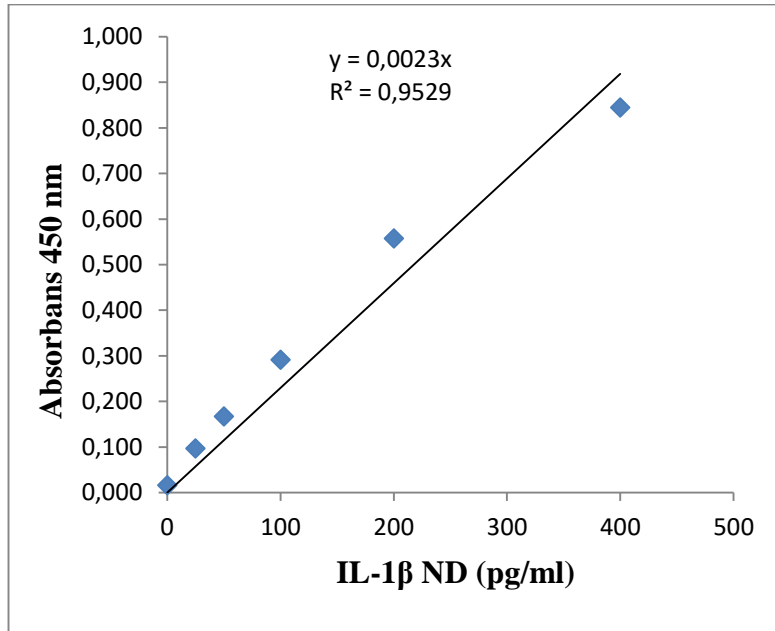
1. Blank Well: Chromagen solüsyon A 50 μ l, chromagen solüsyon B 50 μ l ve stop solüsyon 50 μ l eklendi.
2. Standart Well: Standart 50 μ l, streptavidin-HRP 50 μ l eklendi.
3. Test Well: Örnek 40 μ l, IL-1 β antikor 10 μ l ve streptavidin-HRP 50 μ l eklendi. Üzeri kapatılarak hafifçe karıştırıldı. 37 °C'de 60 dakika süreyle inkübe edildi.
4. Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat dilüe edilerek hazırlandı ve pleyt 5 kez yıkandı.
5. Chromagen solüsyon A 50 μ l, chromagen solüsyon B 50 μ l her bir well'e eklendi, hafifçe karıştırıldı, ışıksız ortamda 37 °C'de 10 dakika süreyle inkübe edildi.
6. Reaksiyonu durdurmak için her bir well'e 50 μ l stop solüsyonu eklendi.
7. 10 dakika içinde ELISA okuyucu (BioTek ELX800) ile 450 nm'de blank, standart ve örneklerin absorbans degerleri okutuldu.

IL-1 β Konsantrasyonunun Hesaplanması

Standartların konsantrasyonu yatay olarak ve absorbands değerleri dikey olarak alındı. Standart eğri çizildi. Örnek eğrisi ile örnek absorbands değerine göre karşılık gelen konsantrasyon bulundu.



Şekil 4: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-1 β standart eğrisinin oluşturulması



Şekil 5: Normal diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-1 β standart eğrisinin oluşturulması

3.11.3. IL-6 Analizi

Standart Solüsyonlarının Hazırlanması: Standart solüsyonu hazırlamak için original standart solüsyonundan 120 µl alınıp üzerine 120 µl standart dilüent ilave edilerek seri dilüyonlarla final konsantrasyonu 50 pg/ml'e ayarlandı.

Tablo 5. IL-6 Standart solüsyonların hazırlanması

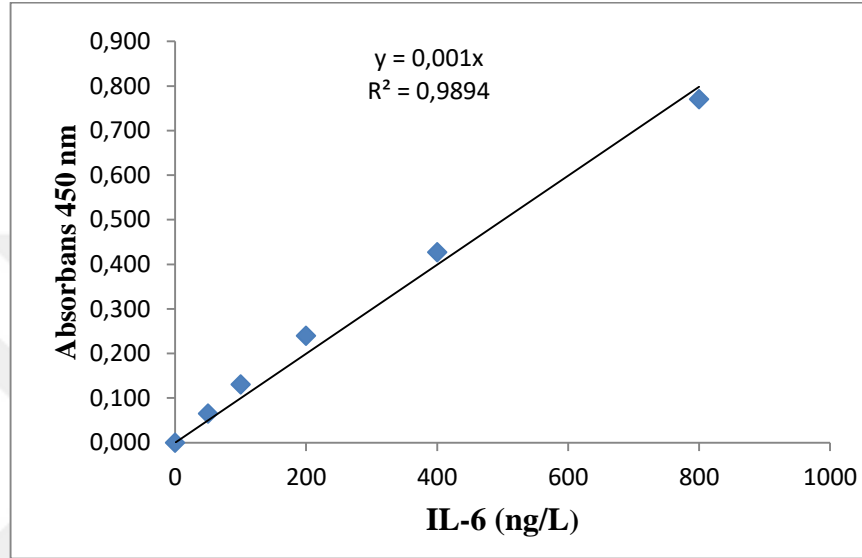
800 ng/L	Standart No. 5	120 µl Original Standart +120 µl Standart Dilüent
400 ng/L	Standart No. 4	120 µl Original Standart No.5+120 µl Standart Dilüent
200 ng/L	Standart No. 3	120 µl Original Standart No.4+120 µl Standart Dilüent
100 ng/L	Standart No. 2	120 µl Original Standart No.3+120 µl Standart Dilüent
50 ng/L	Standart No. 1	120 µl Original Standart No.2+120 µl Standart Dilüent

Testin Yapılışı:

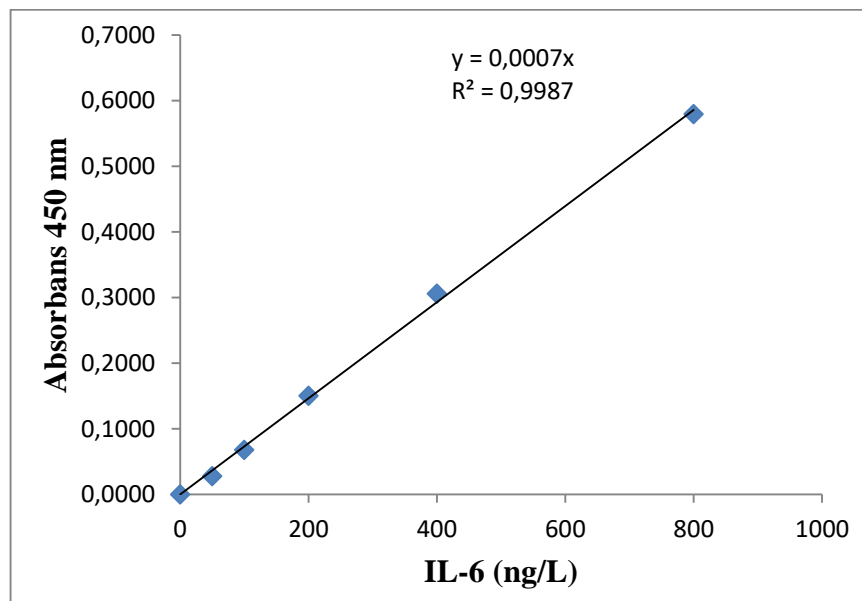
1. Blank Well: Chromagen solüsyon A 50 µl, chromagen solüsyon B 50 µl ve stop solüsyonu 50µl eklendi.
2. Standart Well: Standart 50 µl, streptavidin-HRP 50 µl eklendi.
3. Test Well: Örnek 40 µl, IL-6 antikor 10 µl ve streptavidin-HRP 50 µl eklendi. Üzeri kapatılarak hafifçe karıştırıldı. 37 °C'de 60 dakika süreyle inkübe edildi
4. Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat dilüe edilerek hazırlandı ve pleyt 5 kez yıkandı.
5. Chromagen solüsyon A 50 µl, chromagen solüsyon B 50 µl her bir well'e eklendi, hafifce karıştırıldı, ışısız ortamda 37 °C'de 10 dakika süreyle inkübe edildi.
6. Reaksiyonu durdurmak için her bir well'e 50 µl stop solüsyonu eklendi.
7. 10 dakika içinde ELISA okuyucu (BioTek ELX800) ile 450 nm'de blank, standart ve örneklerin absorbans degerleri okutuldu.

IL-6 Konsantrasyonunun Hesaplanması

Standartların konsantrasyonu yatay olarak ve absorbans değerleri dikey olarak alındı. Standart eğri çizildi. Örnek eğrisi ile örnek absorbans değerine göre karşılık gelen konsantrasyon bulundu.



Şekil 6: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-6 standart eğrisinin oluşturulması



Şekil 7: Normal diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-6 standart eğrisinin oluşturulması

3.12. Histopatolojik Analizler

Çalışmada kullanılan tavşanlardan alınan karaciğer örnekleri Erciyes Üniversitesi, Gülser - Dr. Mustafa Gündoğdu Merkez Laboratuvarında % 10'luk formalin solüsyonunda 1 saat bekletilerek tespit edildi. Dokular rutin yöntemle takip edildikten sonra 3-5 µm kalınlığında kesitler alınarak ve hematoksilen-eozin (HxE) ile boyanarak ışık mikroskopunda histopatolojik yönden incelendi. Histopatolojik karaciğer değerlendirmeleri ve raporlandırması buradaki teknisyen ve öğretim üyeleri tarafından gerçekleştirildi.

3.13. Gen Ekspresyonu Analizleri

Karaciğer doku örneklerinden total RNA izolasyonu, Real-Time PCR ve gen ekspresyonu analizleri Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde (GENKÖK) yapıldı.

3.13.1. Dokuların Elde Edilmesi

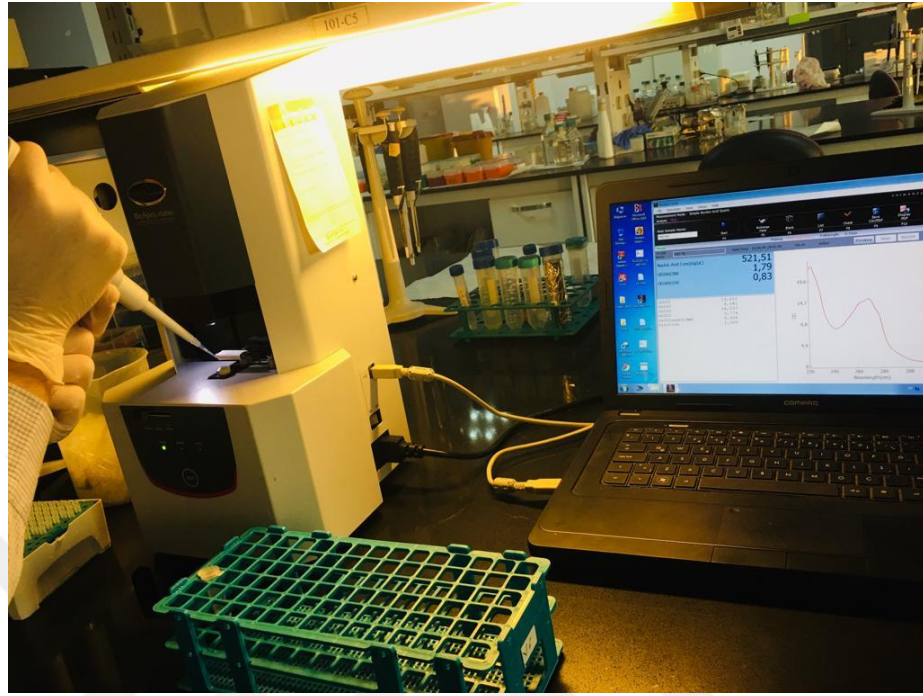
11. haftada ötanazi edilen tavşanların karaciğer dokusu örnekleri mRNA izolasyonu amacı ile eppendorf içinde 300 µl trizol (Qıazol) eklenerek -80 °C'de saklandı.



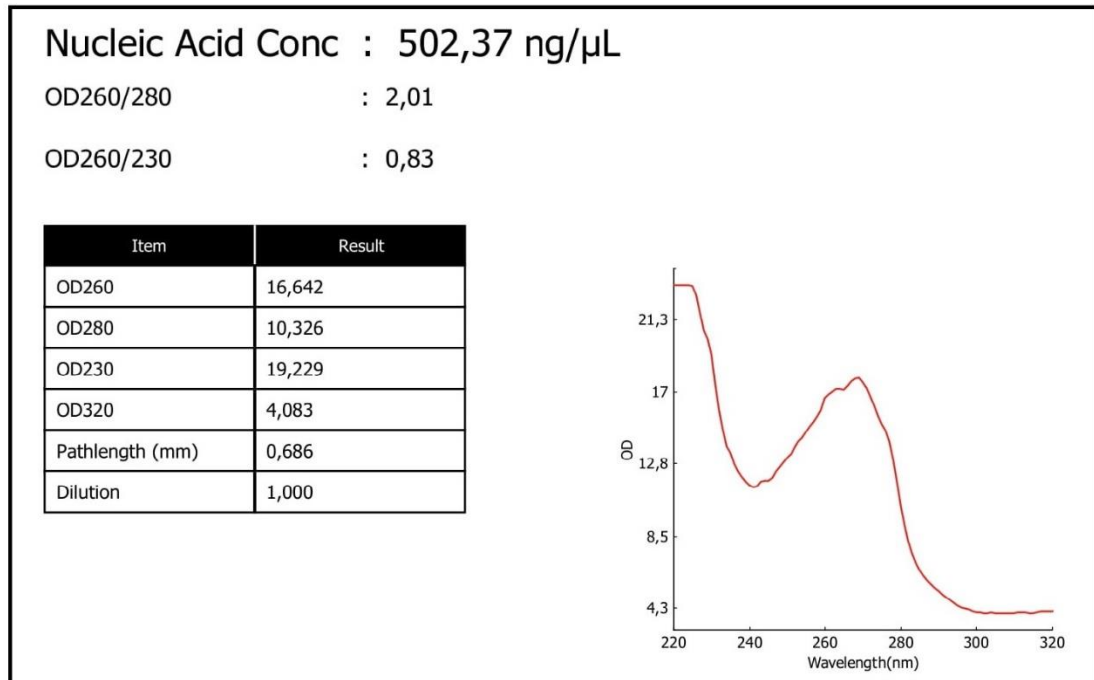
Resim 11: Karaciğer doku örneğinin homojenizatör ile parçalanması

3.13.2. Total RNA izolasyonu ve RNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Trizol (Qıazol) ile total RNA ekstraksiyon prosedürüne uygun mRNA izolasyonu yapıldı. Dokular çözdürüldükten sonra homojenizatör (Scilogex D-160, Malaysia) ile doku parçalandı. Üzerinde 200 µl kloroform eklendi. 12.000 g'de +4 °C'de 15 dk süreyle santrifüj edildi. Üst faz yeni tüpe alındı. Üzerine 200 µl izopropanol (1:1 oranında) ilave edildi. 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. 12.000 g'de +4 °C'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı. Etanolden 1000 µl eklenerek 7500 g' de +4 °C'de 5 dk süreyle santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı ve 10 dk süreyle kurumaya bırakıldı. 50 µl nücleas free su eklenerek çözdürüldü. Nanodrop spektrofotometre ile RNA ölçümleri yapıldı.



Resim 12: Nanodrop spektrofotometre ile total RNA ölçme işlemi



Resim 13: Total RNA miktarı (ng/μl)

3.13.3. c-DNA Sentezi

c-DNA sentezi high-Capacity cDNA reverse transcription kit (Thermo Fisher Scientific) protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Karışım Hazırlanması: Bu basamakda 0.2 µl'lik ependorf tüp içinde, bir örnek için aşağıdaki miktarlarda karışım hazırlandı. Bu karışımın üzerine izole edilen RNA'lardan 500 ng/µl ilave edilerek Qiagen termal cycler cihazında inkübe edildi.

Tablo 6. cDNA reverse transcription reaksiyon bileşimi

Malzeme	Miktar (µl)
10X RT Buffer	2.0
25X dNTP Mix (100 mM)	0.8
10X RT Random Primers	2.0
MultiScribe™ Reverse Transcriptase	1.0
Nuclease-free H ₂ O	4.2
RNA	10
Total Reaksiyon	20.0

Tablo 7. Termal Cycler Programı

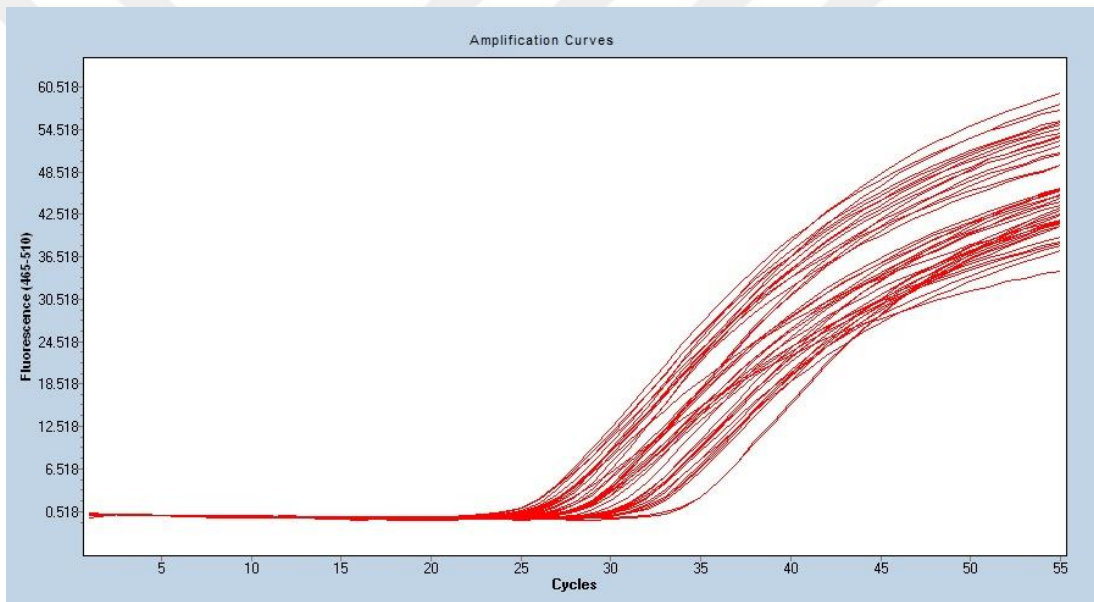
	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Temp.	25 °C	37 °C	85 °C	4 °C
Time	10 dk	120 dk	5 dk	∞

3.13.4. Real Time- Ekspresyon Aşaması

Çalışmanın Real-Time ekspresyon aşaması Light Cycler Nano (Roche Ltd., Mannheim, Germany) Real-Time PCR cihazı ve SYBR Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak gerçekleştirildi. c-DNA sentezi yapılan örnekler çalışmadan 10 dakika önce +4 °C'deki blok üzerine alınarak bir süre bekletildi. Çalışmada Hprt1 geni kontrol (housekeeping) geni olarak kullanıldı. Çalışılacak hedef ve kontrol genleri için iki ayrı çalışma karışımı hazırlandı. SYBR Green Master Mix, Primer F, Primer R, PCR Grade H₂O ve c-DNA bir örnek için aşağıdaki miktarlarda 96'lı pleyte alındı. Light Cycler Nano (Roche) Real-Time PCR cihazı ile örnekler: 95 °C'de 10 dakika; 95 °C'de

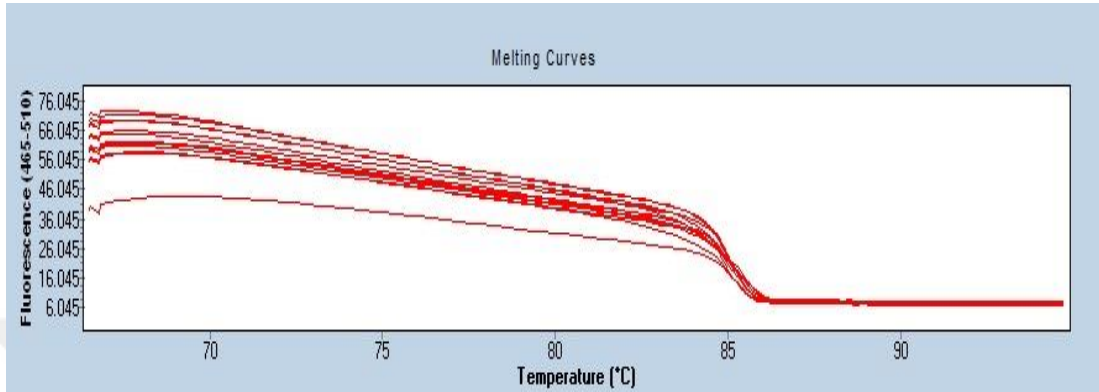
10 saniye, 60 °C'de 10 saniye, 72 °C'de 10 saniye 45 döngü, 95 °C'de 30 saniye inkübe edildi. Erime ısısı ise; 65 °C ve 95 °C arasındaki sıcaklıklarda, ısı miktarı saniyede 0.1 °C artırılarak ve bu süre içerisinde zamana bağlı olarak oluşan floresan miktarının erime eğrisi analizi yapıldı. Her bir örnek için genlere ait veriler Hprt1 geniyle normalize edildi.

RT-PCR (qPCR) sonucunun kinetiğinin ve kalitesinin değerlendirilmesi amacıyla amplifikasyon eğrilerine bakıldı (Şekil 9).



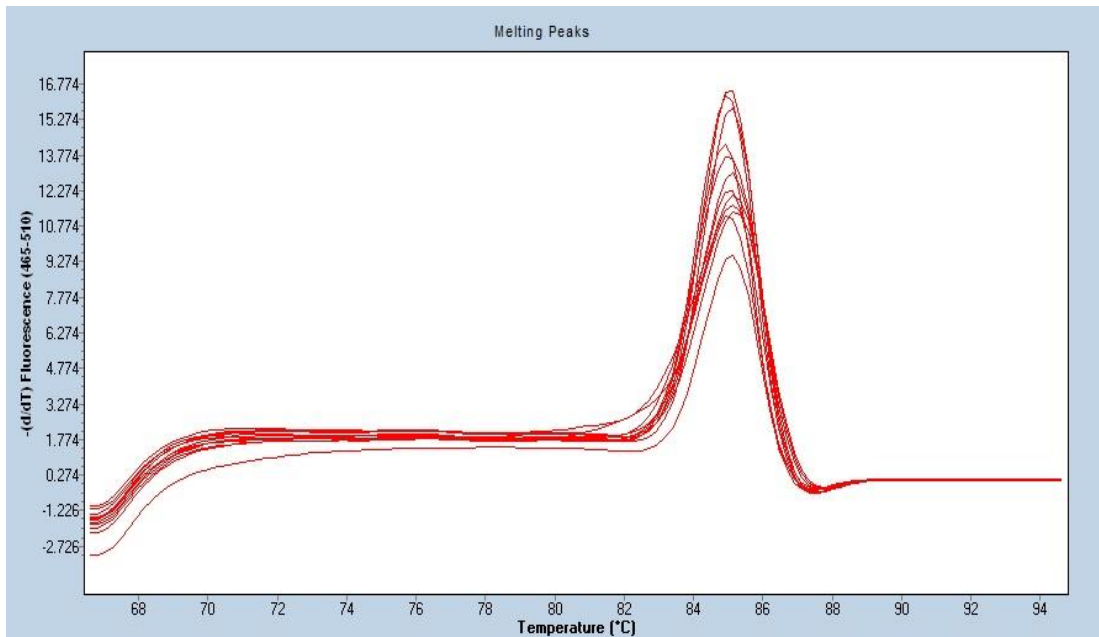
Şekil 8: IL-13, IL-17, Gata3 ve Hprt1 genine ait amplifikasyon eğrileri

qPCR döngüsünde çalışmanın özgüllüğünü ve ısıtma işlemi sırasında çift sarmallı DNA'nın ayrışma özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla ekspresyon çalışmalarına erime eğrisi analizi yapıldı (Şekil 10).



Şekil 9: IL-9 gen ekspresyonu erime eğrisi grafiğine bir örnek

qPCR döngüsünde çoğaltılmış çift sarmallı DNA ürünlerinin tek bir ayrık tür olduğunu göstermek amacıyla erime pik grafiği analizi yapıldı (Şekil 11).



Şekil 10: YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarının IL-9 genine ait erime pik grafiği.

Tablo 8. Ekspresyon aşamasında kullanılan malzemeler

Ekspresyon aşamasında kullanılan malzemeler	Miktar (µl)
SYBR Green PCR Master Mix (10X):	10
Primer F (10 pM):	0.12
Primer R (10 pM):	0.12
Nuclease-Free H ₂ O:	7.76
c-DNA (500ng / µl):	2

Spesifik primerler NCBI GenBank'ta (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) mevcut olan tavşan sekansları üzerinde dizayn edildi.

Tablo 9. Tavşan örneklerinde kantitatif RT-PCR için primer dizileri (NCBI)

Gen Adı	Primer Sekansı
STAT4	F: 5'-CAGATCATAACAGCCAATGTGC-3' R: 5'-GGTTGAGGTTTTTGC GGAGT-3'
IFN γ	F: 5'-TGCCAGGACACACTAACCAGAG-3' R: 5'-TGTCACTCTCCTCTTTCCAATTCC-3'
Tbet (tbx)	F: 5'-CCTTCCAAGAGACGCAGTTC-3' R: 5'-AGGAAGCTCGGGGTAGAAAC-3'
IL-4	F: 5'-CGACATCATCCTACCCGAAGTC-3' R: 5'-CCTCTCTCTCGGTTGTGTTCTTG-3'
IL-5	F: 5'-AGACCCTGACACTGCTCTCA-3' R: 5'-AGGTGATGATTTTTATGGACCGGA-3'
IL-13	F: 5'-TCATCGAGGAGCTGGTCAAC-3' R: 5'-AGCCTTGTCTGTGCAGAGTC-3'
Gata3	F: 5'-AGGCAGGGAGTGTGTGAACT-3' R: 5'-CGTCGTGGTCTGACAGTTTG-3'
IL-17A	F: 5'-CCAGCAAGAGATCCTGGTCCTA-3' R: 5'-ATGGATGATGGGGGTTACACAG-3'
GMCSF	F: 5'-TTCCTCCTAGGCAGTGTGGT-3' R: 5'-TCTACCATTTTCGCCAGCAC-3'
ROR γ (RORC)	F: 5'-GGGCTTCATAACCACCTTGAA-3' R: 5'-GTGCTCTGGGCCTATCTCTG-3'

IL-9	F: 5'-ATCCCGTCTGACAACTGCAC3' R: 5'-GGCTTCCACCGTTCTTCTCA3'
IL-10	F: 5'-CTTTGGCAGGGTGAAGACTTTC-3' R: 5'-AACTGGATCATCTCCGACAAGG-3'
IL-18	F: 5'-ACCAAGGACAGCAACCTGTGTT-3' R: 5'-ACAGAGAGGCTTACAGCCATGC-3'
Foxp3	F: 5'-CACAGTGCCCCTAGTCATGG-3' R: 5'-CTGAGAGCTGGTGCATGAAGT-3'
IL-8	F: 5'-CCACACCTTTCATCCCAAAT-3' R: 5'-CTTCTGCACCCACTTTTCCTTG-3'
Hprt1	F: 5'-GCAGACCTTGCTTTCCTTGGT-3' R: 5'-GCAGGCTTGCGACCTTGAC-3'

IFN γ : Interferon gamma, IL-8: Interleukin 8, Foxp3: Forkhead box P3, IL-18: Interleukin-18, IL-10: Interleukin 10, IL-9: Interleukin 9, ROR γ (RORC): RAR-related orphan receptor gamma, GMCSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, IL-17A: Interleukin-17A, Gata3: GATA Binding Protein 3, IL-13: Interleukin 13, IL-4: Interleukin-4, Tbet: T-box transcription factor, STAT4: Signal transducer and activator of transcription 4, Hprt1: Hypoxanthine phosphoribosyltransferase, F: Forward, R: Reverse.

Ekspresyon çalışmasında tek örnek olarak çalışılan STAT4, IFN γ , Tbet (tbx), IL-4, IL-5, IL-13, Gata3, IL-17A, GMCSF, ROR γ (RORC), IL-9, IL-10, IL-18, Foxp3, IL-8 genlerine ait olan Ct ortalamaları, Hprt1 genine ait olan Ct ortalamalarından çıkarıldı (**Delta Ct**: Ct (Kontrol Geni)-Ct (Hedef Geni)) ve veriler normalize edildi. **Power** (KUVVET(2; Δ Ct)) formülü ile hesaplandı ve power değerlerinin Log10'u alınarak istatistik çalışmasına uygun hale getirildi.

3.14. İstatistiksel Analizler

Bu tez çalışmasının istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp. Armonk, New York, USA) paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu histogram, Q-Q grafikleri ve shapiro-wilk testi ile değerlendirildi. Veriler zaman içinde tekrarlayan ölçümler için 2 yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Çoklu karşılaştırmalarda ise dunn bonferroni ve tukey testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak değerlendirildi. Veriler tablolarda ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Muayene Bulguları

Normal diyet grubundaki tavşanların yem alımlarının canlı ağırlık artışına paralel olarak kademeli bir şekilde arttığı, sağlıklı, hareketli, tüylerin canlı ve parlak olduğu ve çevreye karşı ilgili oldukları, kafes altında bulunan ızgaralarda günlük olarak idrar ve yeterli sayıda ve boyutta dışkı peleti görüldü. Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlar da ise 2. haftadan itibaren iştahlarında kademeli bir azalmayla birlikte yem tüketiminde azalma, bazal seviyeye göre canlı ağırlıkta azalma, dışkılama sayısının ve büyüklüğünün azaldığı ve depresif bir görünümde oldukları belirlendi. Çalışmanın 8. haftasında klinik bulguların şiddetinde artış ve ilave olarak dışkı peletinde azalma, yüksek kolesterol diyet grubundaki tavşanlardan 2 tanesinde ise yukarıda ifade edilen bulgulara ilave olarak tüylerde matlaşma, sarılık ve hafif derecede dehidrasyon görüldü. Yukarıda ifade edilen klinik bulguların şiddetinin 11. hafta sonunda daha da artması ve tavşanların durgunlaşması, hareket etmede isteksiz olmaları, yem tüketiminin daha da azalması, ikterus şiddetinde artış olması ve yüksek kolesterol diyet grubundan 2 adet tavşanın ölmesiyle deneye son verildi.

4.2. Serum Biyokimya Bulguları

Bu çalışmada; normal diyet ve yüksek kolesterol içeren diyetle beslemeyi takiben thymol ve kekik yağı uygulamalarından önce 0. haftada ve sonraki 4, 8 ve 11. haftalarda

tavşanlardan alınan kan örneklerinden yapılan analiz sonucunda elde edilen biyokimyasal parametrelerin ortalama konsantrasyonları ortalama±standart sapma olarak Tablo 10-18’de gösterildi. Ayrıca her bir parametredeki değişimler Şekil 11’den Şekil 28’e kadar grafikler ile gösterildi.

CRP düzeylerinin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ($p < 0.001$) ve gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

CRP düzeylerinin 0, 4, 8 ve 11. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlendi. 0. haftada ND, ND-T, ND-K grubunun CRP konsantrasyonu; YKD, YKD-T gruplarından anlamlı derecede düşük, YKD-K grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu. YKD ve YKD-T grubunun CRP konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu. 4. haftadaki YKD grubunun ortalama CRP konsantrasyonu ND, ND-T ve ND-K anlamlı düzeyde yüksek bulundu. YKD-T grubunun ortalama CRP konsantrasyonu ND, ND-T ve ND-K gruplarından, YKD-K grubunun CRP konsantrasyonu ND, ND-T ve ND-K gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. 8. haftadaki YKD-K grubunun ortalama CRP konsantrasyonu ND, ND-T, ND-K ve YKD-T gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. YKD-K grubunun ortalama CRP konsantrasyonu; ND, ND-T, ND-K gruplarından anlamlı düzeyde yüksek, YKD-T grubundan ise anlamlı düzeyde düşük bulundu. 11. haftada YKD-K grubunun ortalama CRP konsantrasyonu ND, ND-T, YKD ve YKD-T gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

CRP değerlerinde ND, ND-K, YKD-T ve YKD-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. 0. hafta CRP konsantrasyonu 4 ve 8. haftalardan anlamlı düzeyde yüksek, 4. hafta CRP konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde düşük, 8. hafta CRP konsantrasyonu 0, 4 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde yüksekti. ND-K grubunda; 0. hafta ile 4 ve 11. haftalar arasında, 4. hafta ile 8 ve 11. haftalar arasında istatistiksel olarak anlamlılık ($p < 0.001$) gösterdi. 0. hafta CRP konsantrasyonu 4 ve 11. haftalardan, 4. hafta CRP konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde yüksekti.

YKD-T grubunda; 0. hafta ile 8 ve 11. haftalar arasında, 4. hafta ile 8 ve 11. haftalar arasında istatistiksel olarak anlamlılık ($p < 0.001$) göstermektedir. 0. hafta CRP

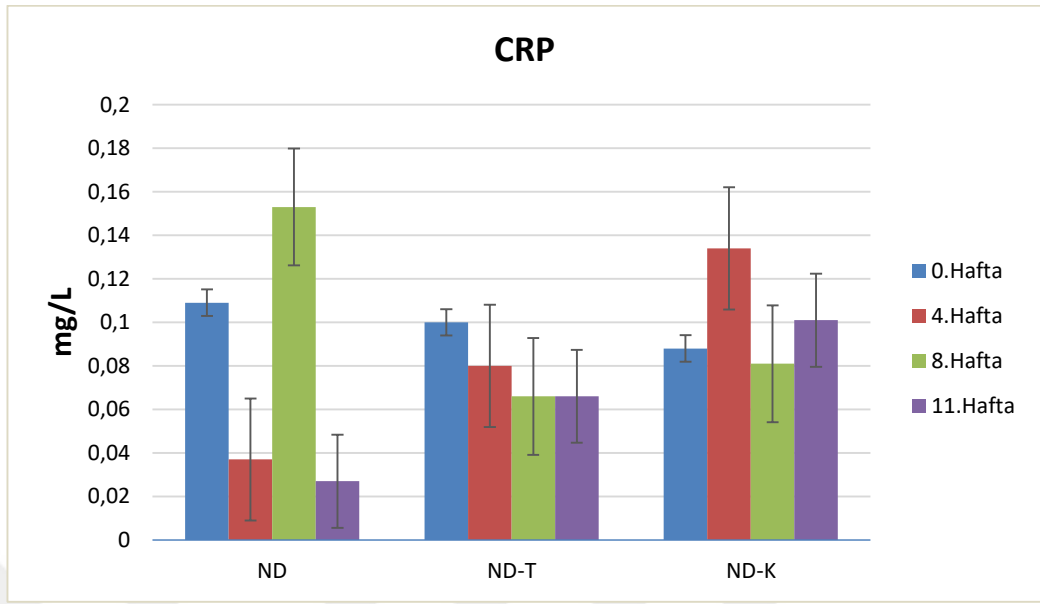
konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde düşük ve 11. haftadan anlamlı düzeyde yüksek, 4. hafta CRP konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde düşük ve 11. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. YKD-K grubunda 0. hafta ile 4. haftalar arasında istatistiksel olarak anlamlılık ($p=0.026$) gösterdi. 0. hafta CRP konsantrasyonu 4. haftadan anlamlı düzeyde düşük bulundu.



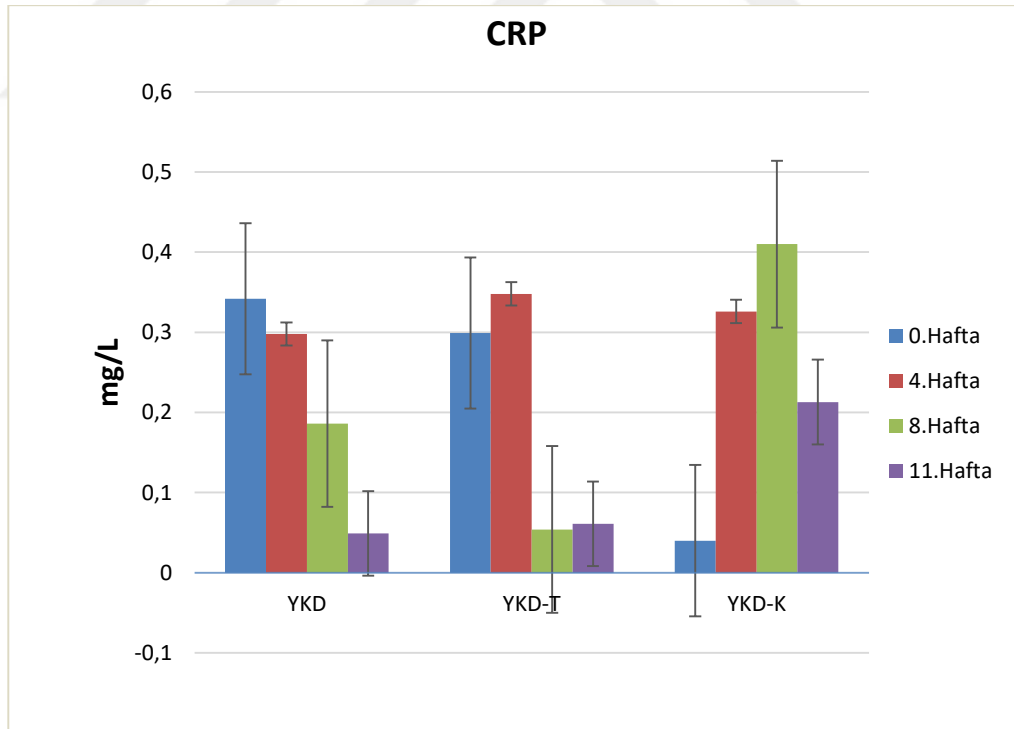
Tablo 10: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre CRP (mg/L) konsantrasyonları

CRP (mg/L)	GRUPLAR						Toplam	p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)		
0.Hafta	0.11±0.01 a.A	0.10±0.042 a	0.09±0.02 a.A	0.34±0.05 ^b	0.30±0.02 bA	0.04±0.02 cA	0.17±0.1 2A	<0.001
4.Hafta	0.04±0.07 a.B	0.08±0.06 a	0.13±0.06 a.B	0.30±0.02 ^b	0.35±0.10 bA	0.33±0.13 bB	0.20±0.1 4B	<0.001
8.Hafta	0.15±0.01 a.C	0.06±0.05 a	0.09±0.01 a.AC	0.19±0.21 ^{ab}	0.05±0.07 aB	0.41±0.28 bAB	0.15±0.1 8ABC	0.001
11.Hafta	0.02±0.04 a.AB	0.06±0.04 a	0.10±0.03 ab.C	0.05±0.04 ^a	0.06±0.02 aB	0.21±0.16 bAB	0.08±0.0 9 ^C	0.001
Toplam	0.08±0.03a	0.07±0.02a	0.10±0.02a	0.22±0.02b	0.20±0.02 b	0.25±0.03 b		
p* değeri	<0.001	0.337	<0.001	0.080	<0.001	0.026		
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup <0.001, Grup zaman etkileşimi <0.001								

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 11: Normal diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre CRP düzeylerinin grafik ile gösterimi

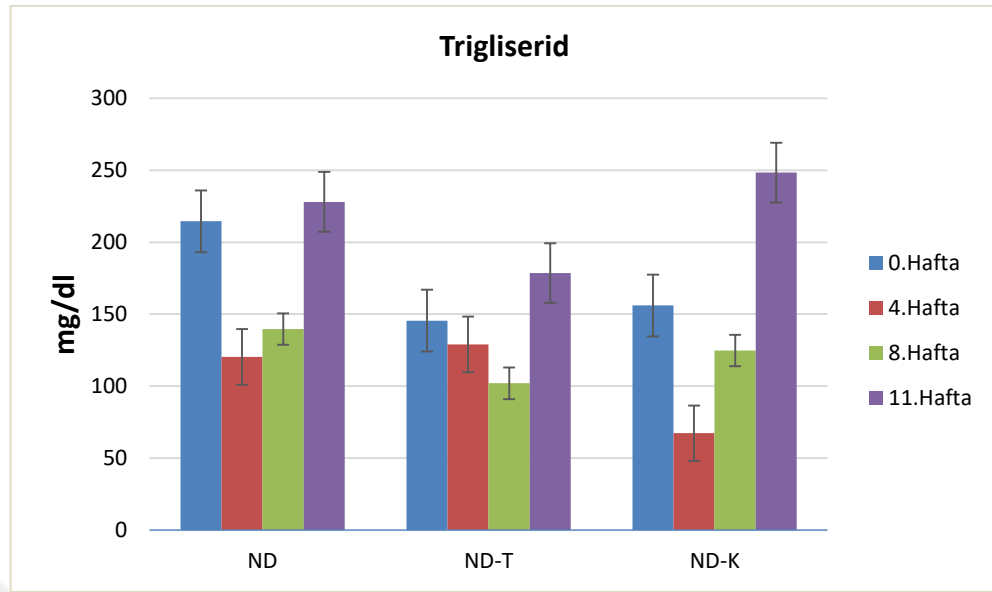


Şekil 12: Yüksek kolesterol diyeti beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre CRP düzeylerinin grafik ile gösterimi

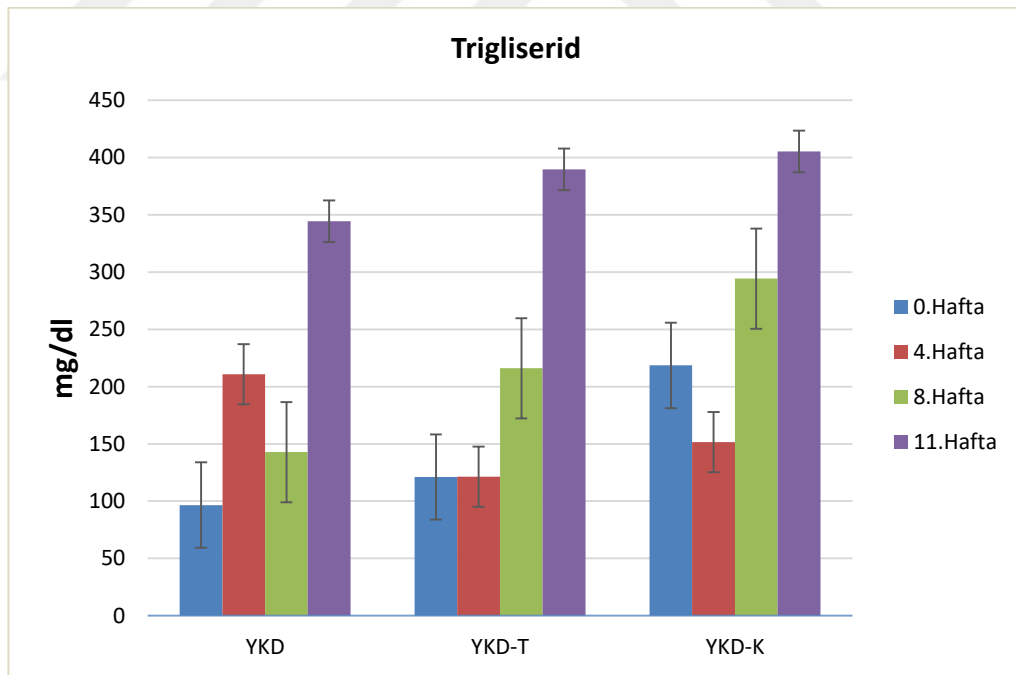
Tablo 11: Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre trigliserid (mg/dl) konsantrasyonları

Trigliserid (mg/dl)	GRUPLAR							Toplam	p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)			
0.Hafta	214.50±32.15 aA	145.50±19.78 bcA	156.00±48.64 bAC	96.57±6.95 cd	121.14±6.69 bc	218.50±50.94 a	155.56±5 3.32	<0.001	
4.Hafta	120.33±47.51 abAB	129.00±5.35 abA	67.29±9.62 aB	210.86±133.6 3 ^b	121.43±29.90 ab	151.50±34.57 ab	133.17±7 1.95	0.005	
8.Hafta	139.67±22.21 abAB	102.00±17.10 aB	124.71±2.14 aC	142.86±73.66 ab	216.00±202.1 3 ^{ab}	294.33±92.27 b	165.98±1 11.10	0.009	
11.Hafta	228.00±35.63 B	178.50±35.81 C	248.29±28.33 A	344.43±393.5 8	389.71±212.2 8	405.33±500.9 2	295.24±2 63.55	0.518	
Toplam	175.62±27.23	138.75±23.59	149.07±25.21	198.68±25.21	212.07±267.4 2	267.41±27.23			
p* değeri	0.001	<0.001	<0.001	0.182	0.081	0.393			
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup <0.001, Grup zaman etkileşimi <0.001									

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 13: Normal diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre trigliserid düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 14: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre trigliserid düzeylerinin grafik ile gösterimi

Trigliserid değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p = 0.466$).

Trigliserid değişkeninin 0, 4 ve 8. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık ($p < 0.001$) belirlendi. Bu farklılık 0. haftada; ND ve YKD-K grubu ile ND-T, ND-K, YKD, YKD-T grupları arasındadır. ND ve YKD-K grubunun trigliserid konsantrasyonu diğer gruplardan anlamlı düzeyde yüksek bulundu. ND grubu ile YKD-K arasında istatistiksel farklılık yoktur. 4. haftada; YKD grubunun trigliserid konsantrasyonu ND-K grubundan anlamlı derecede yüksektir. 8. haftada; YKD-K grubunun trigliserid konsantrasyonu ND-T ve ND-K gruplarından anlamlı derecede yüksektir.

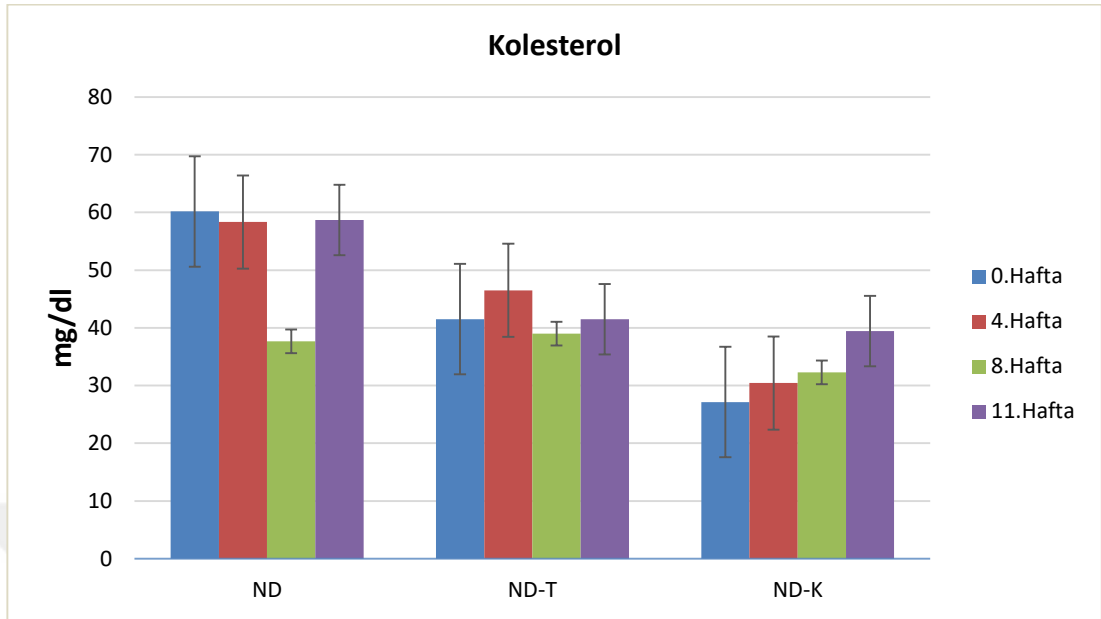
Trigliserid değişkeninin ND, ND-T, ND-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık ($p < 0.001$) belirlendi. ND grubunun 11. hafta Trigliserid konsantrasyonu 0. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. ND-T grubunun 8. hafta trigliserid konsantrasyonu 0 ve 4. haftalardan anlamlı derecede yüksektir. 11. hafta trigliserid konsantrasyonu 0, 4 ve 8. haftalardan anlamlı derecede yüksektir.

Tablo 12: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre kolesterol (mg/dl) konsantrasyonları

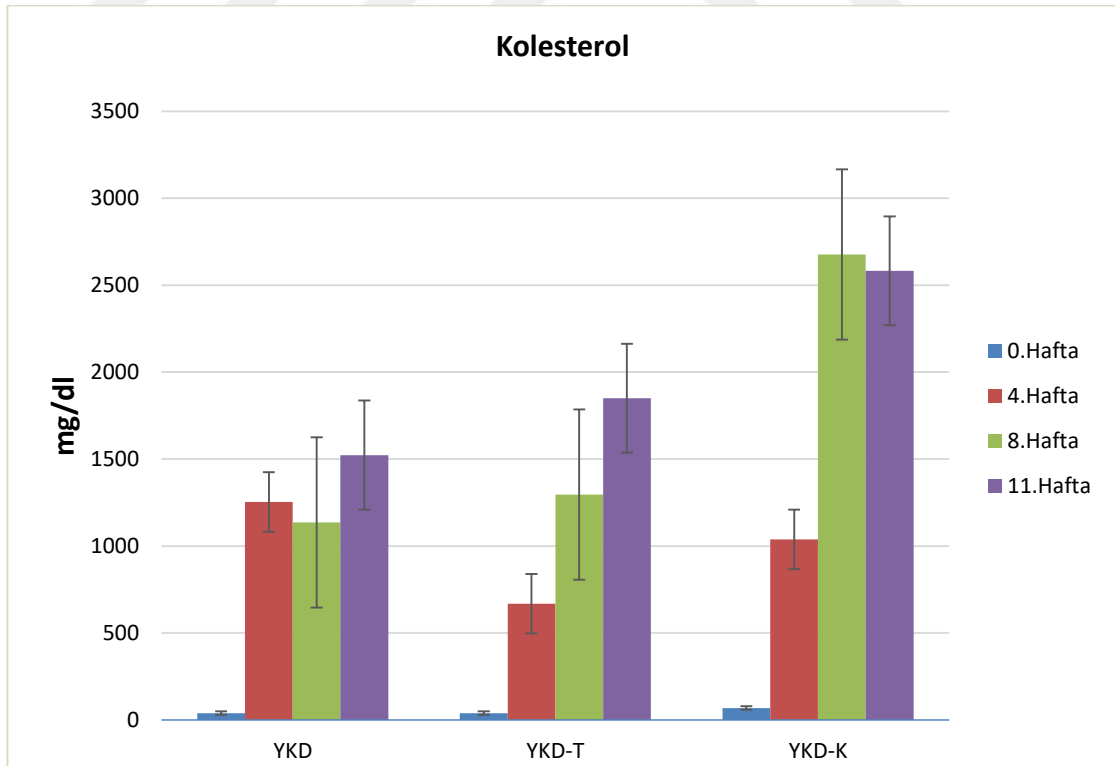
Kolesterol (mg/dl)	GRUPLAR							Toplam	p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)			
0.Hafta	60.17±42.4 g ab	41.50±9.09 abA	27.14±1.07 aA	38.57±15.50 ^{ab} A	38.86±12.86 abA	68.00±29.58 bcA	44.71±24.41	0.018	
4.Hafta	58.33±14.9 g ^a	46.50±11.22 aB	30.43±3.21 aB	1253.57±535.5 g bB	668.00±52.38 cB	1037.50±53.13 bcB	502.71±548.15	<0.001	
8.Hafta	37.67±8.26 a	39.00±10.69 aC	32.29±5.88 aAB	1135.71±802.3 1 ^{bb}	1295.14±373.3 8 ^{bc}	2677.00±756.21 cC	825.41±1041.90	<0.001	
11.Hafta	58.67±9.81 a	41.50±5.88 aABC	39.43±10.69 aABC	1522.71±995.0 7 ^{bb}	1850.00±389.8 0 ^{bcC}	2583.17±691.28 cC	977.27±1122.00	<0.001	
Toplam	53.71±87.1 6	42.13±75.49	32.32±80.68	987.64±80.70	963.00±80.90	1591.42±87.16			
P* değeri	0.440	<0.001	<0.001	0.002	<0.001	<0.001			

İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup= <0.001, Grup zaman etkileşimi= <0.001

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 15: Normal diyet grubunda kan serumunda kolesterol düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 16: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda kolesterol düzeylerinin grafik ile gösterimi

Kolesterol değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ($p < 0.001$) ve gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Kolesterol değişkeninin 0, 4 ve 8. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık ($p=0.018$) belirlendi. 0. haftada; ND-K grubunun kolesterol konsantrasyonu YKD grubundan anlamlı düzeyde düşüktür. 4. haftada; ND, ND-T ve ND-K gruplarının kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T, YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşük, YKD grubunun kolesterol konsantrasyonu YKD-T grubundan anlamlı düzeyde yüksek, YKD-T grubunun kolesterol konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı düzeyde yüksektir. 8. haftada; ND, ND-T, ND-K gruplarının kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşük, YKD ve YKD-T grubunun kolesterol konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı düzeyde düşüktür. 11. haftada; ND, ND-T, ND-K gruplarının kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K ve gruplarından anlamlı düzeyde düşük, YKD grubunun kolesterol konsantrasyonu YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşüktür.

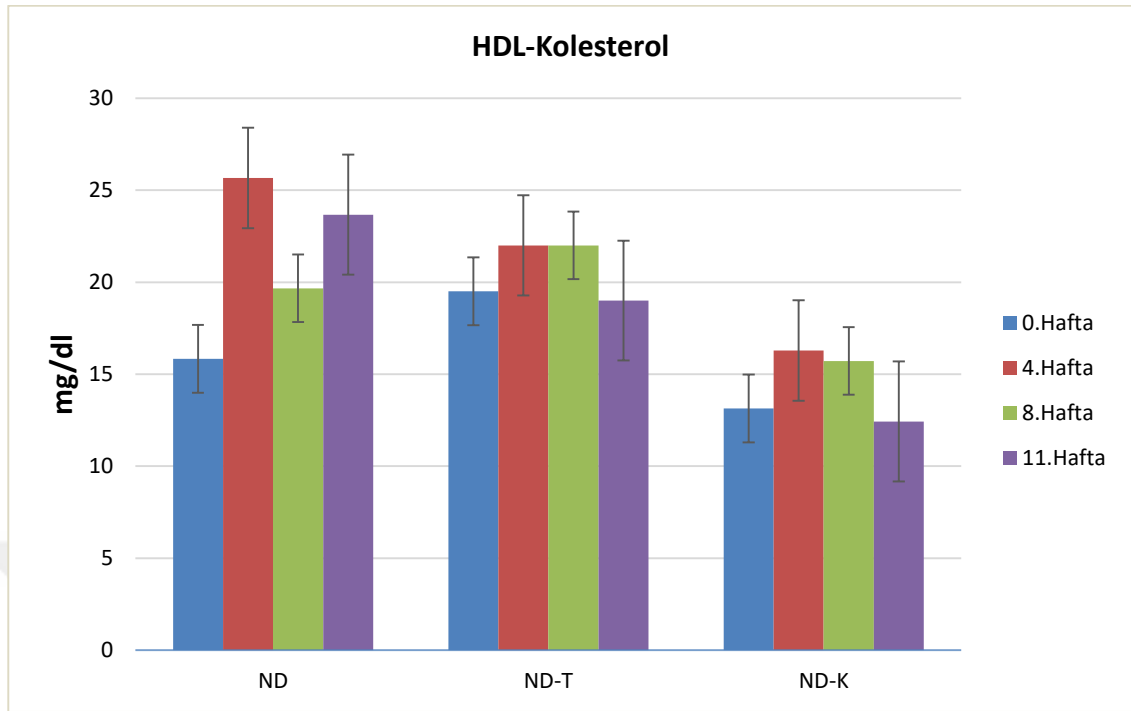
Kolesterol değişkeninin ND-T, ND-K, YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. ND-T grubunda; 4. hafta kolesterol konsantrasyonu 0. haftadan anlamlı düzeyde yüksek, 8. hafta kolesterol konsantrasyonu 0 ve 4. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. ND-K grubunda; 0. hafta kolesterol konsantrasyonu 4. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD grubunda; 0. hafta kolesterol konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD-T grubunda; 0. hafta kolesterol konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşük, 4. hafta kolesterol konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD-K grubunda; 0. hafta kolesterol konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. 4. hafta kolesterol konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür.

Tablo 13: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre HDL kolesterol (mg/dl) konsantrasyonları

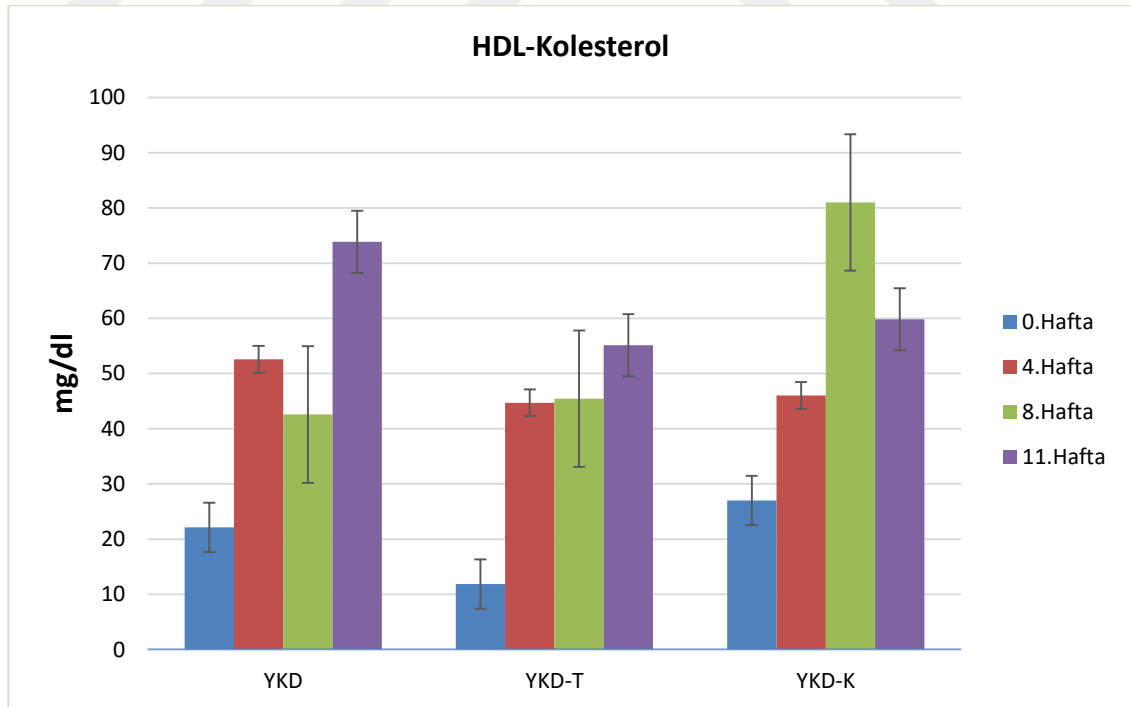
HDL kolesterol (mg/dl)	GRUPLAR							p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)	Toplam	
0.Hafta	15.83±3.25 aAD	19.50±5.88 aA	13.14±4.81 aAD	22.14±12.29 aA	11.86±1.46 aA	27.00±15.34 ^b A	18.12±9.50	0.024
4.Hafta	25.67±2.07 aB	22.00±6.41 abB	16.29±2.14 bAC	52.57±3.21 cB	44.71±5.35 cB	46.00±7.67 ^{cA} C	34.17±14.76	<0.001
8.Hafta	19.67±3.61 aAC	22.00±8.55 aAB	15.71±5.35 aBC	42.57±18.82 bAB	45.43±8.12 bB	81.00±6.75 ^{cB}	36.73±23.77	<0.001
11.Hafta	23.67±5.16 aBD	19.00±4.28 aA	12.43±3.21 aD	73.86±30.56 ^b B	55.14±20.13 bB	59.83±12.21 ^b C	40.07±28.08	<0.001
Toplam	21.21±2.63	20.63±2.28	14.40±2.43	47.79±2.43	39.29±2.43	53.46±2.63		
P* değeri	0.001	0.003	<0.001	0.001	<0.001	<0.001		

İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=<0.001, Grup zaman etkileşimi=<0.001

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 17: Normal diyetle beslenen ve thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre HDL-kolesterol (mg/dl) konsantrasyonlarının grafik ile gösterimi



Şekil 18: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda HDL-kolesterol düzeylerinin grafik ile gösterimi

HDL-kolesterol değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ($p < 0.001$) ve gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

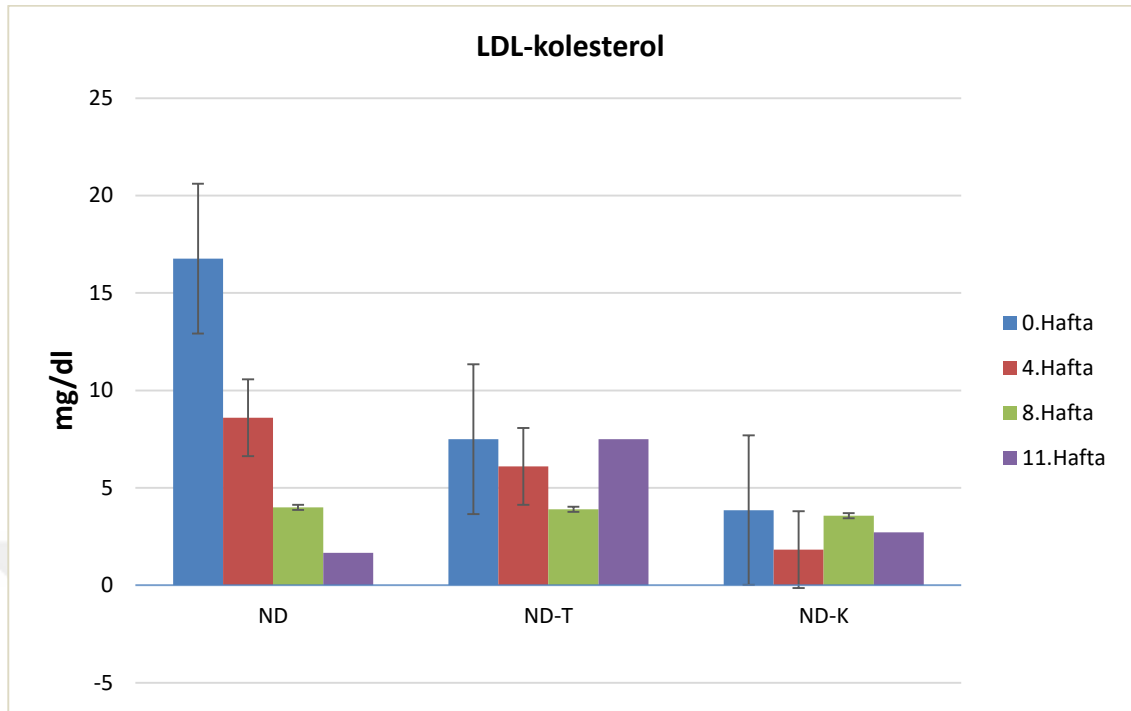
HDL-kolesterol değişkeninin 0, 4, 8 ve 11. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık ($p < 0.05$) belirlendi. 0. haftada; YKD-K grubunun HDL-kolesterol konsantrasyonu diğer gruplardan anlamlı derecede yüksektir. 4. haftada; ND grubunun HDL-kolesterol konsantrasyonu ND-K grubundan anlamlı derecede yüksek, YKD, YKD-T, YKD-K gruplarından anlamlı derecede düşüktür. ND-T grubunun HDL-kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T, YKD-K gruplarından anlamlı derecede düşüktür. ND-K grubunun HDL-kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T, YKD-K gruplarından anlamlı derecede düşüktür. 8. haftada; ND, ND-T ve ND-K grubunun HDL-kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T, YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşük, YKD ve YKD-T grubunun HDL-kolesterol konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı düzeyde düşüktür. 11. haftada; ND, ND-T ve ND-K grubunun HDL-kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T, YKD-K gruplarından, YKD ve YKD-T grubunun HDL-kolesterol konsantrasyonu YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşüktür.

HDL-kolesterol değişkeninin ND, ND-T, ND-K, YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. ND grubunda; 0. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu 4. haftadan anlamlı düzeyde düşük, 4. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu 8. haftadan, 11. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu ise 8. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. ND-T grubunda; 0. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu 4. haftadan anlamlı düzeyde düşük, 4. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu 11. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. ND-K grubunda; 0. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde düşük, 4 ve 8. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu ise 11. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. YKD grubunda; 0. hafta HDL-Kolesterol konsantrasyonu 4 ve 11. haftalarda anlamlı düzeyde düşüktür. YKD-T grubunda; 0. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD-K grubunda; 0. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan, 4. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür. 8. hafta HDL-kolesterol konsantrasyonu ise 11. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir.

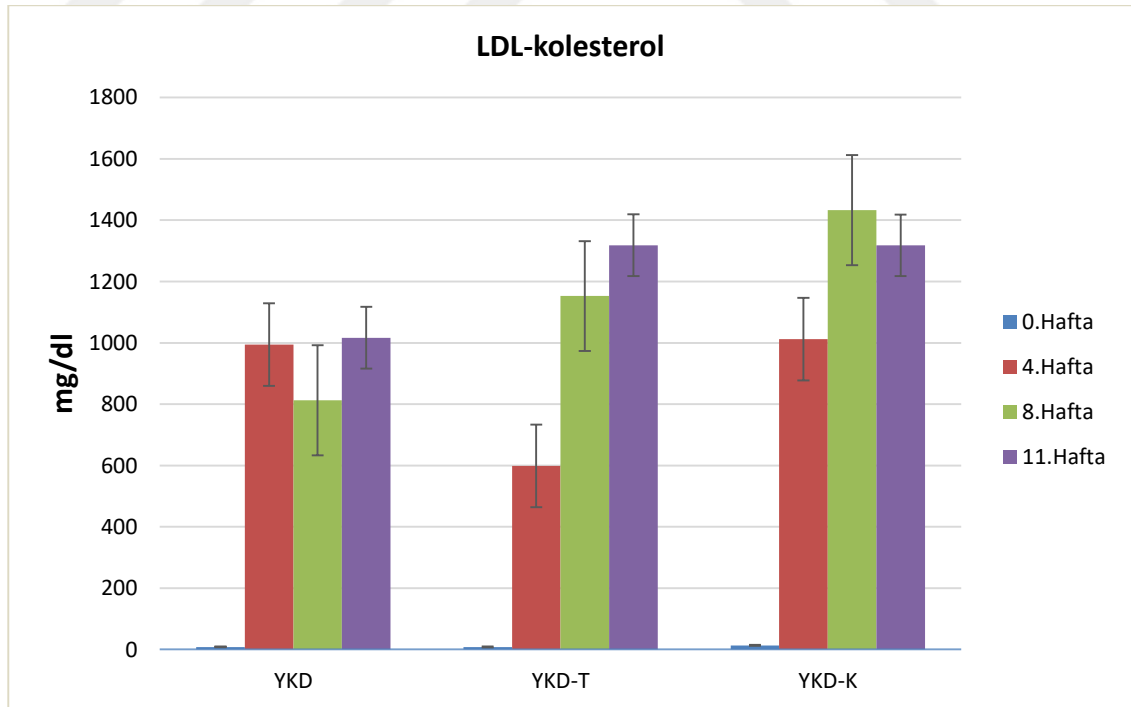
Tablo 14: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre LDL kolesterol (mg/dl) konsantrasyonları

LDL kolesterol (mg/dl)	GRUPLAR							P değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)	Toplam	
0.Hafta	16.77±20.9 4	7.50±1.60	3.86±2.67 AB	8.14±4.81 A	7.60±4.01 A	13.50±4.93 ^A	9.24±9.10	0.122
4.Hafta	8.60±3.41 a	6.10±2.03 a	1.83±0.21 aA	994.03±357.91 bB	599.00±63.61 cB	1011.00±27.39 bB	422.69±4 75.21	<0.001
8.Hafta	4.00±1.55 a	3.90±2.24 a	3.57±0.53 aB	812.69±335.59 bB	1152.57±261.3 5 ^{cC}	1432.67±88.39 cC	547.15±6 14.18	<0.001
11.Hafta	1.67±0.517 a	7.50±4.81 a	2.71±1.60 aAB	1016.77±501.1 8 ^{bB}	1318.46±50.48 bC	1318.07±144.3 2 ^{bC}	593.76±6 51.96	<0.001
Toplam	7.76±38.72	6.25±33.53	2.99±35.85	707.91±35.85	769.41±35.85	943.81±38.72		
P* değeri	0.133	0.137	0.013	<0.001	<0.001	<0.001		
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup= <0.001, Grup zaman etkileşimi= <0.001								

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 19: Normal diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre LDL-kolesterol (mg/dl) konsantrasyonlarının grafik ile gösterimi



Şekil 20: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen ve thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre LDL-kolesterol (mg/dl) konsantrasyonlarının grafik ile gösterimi

LDL-kolesterol değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ve ($p < 0.001$) gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

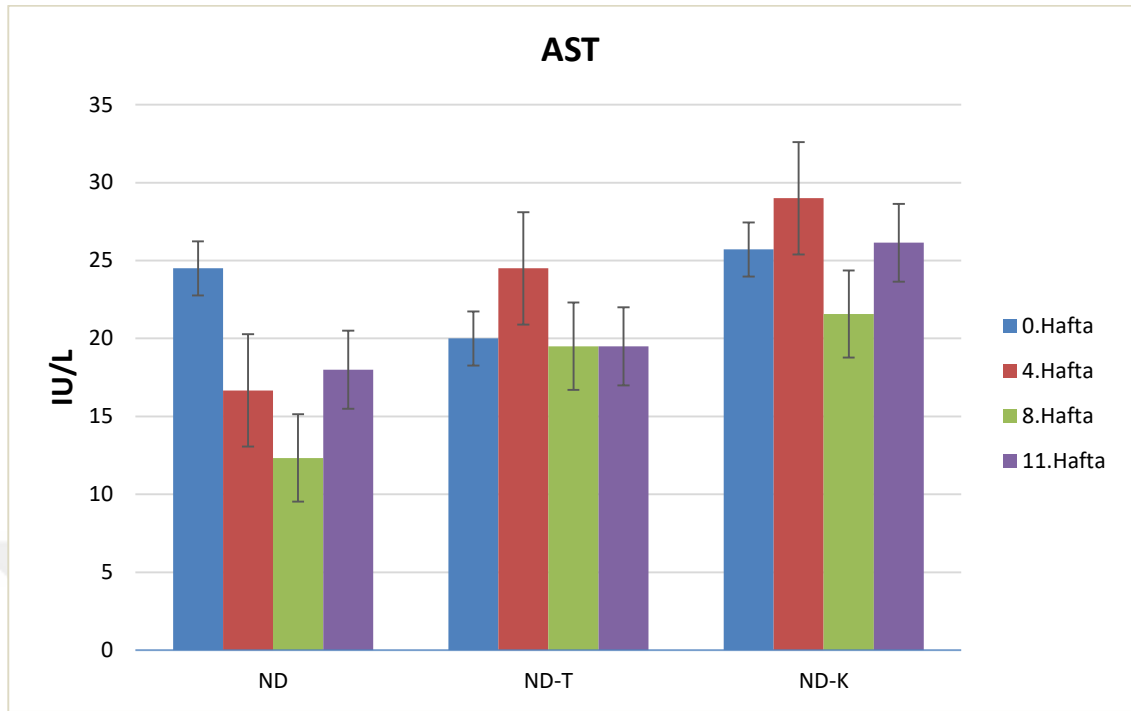
LDL-kolesterol değişkeninin 4, 8 ve 11. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık ($p < 0.001$) belirlendi. 4. haftada; ND, ND-T ve ND-K grubunun LDL-kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından, YKD grubunun LDL-kolesterol konsantrasyonu YKD-T grubundan, YKD-T grubunun LDL-kolesterol konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı derecede düşüktür. 8. haftada; ND, ND-T ve ND-K grubunun LDL-kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından, YKD grubunun LDL-Kolesterol konsantrasyonu YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşüktür. 11. haftada; ND, ND-T ve ND-K grubunun LDL-kolesterol konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından, YKD grubunun LDL-kolesterol konsantrasyonu YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşüktür.

LDL-kolesterol değişkeninin ND-K, YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. ND-K grubunda; 4. hafta LDL-kolesterol konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD grubunda; 0. hafta LDL-kolesterol konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD-T grubunda; 0. hafta LDL-kolesterol konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. 4. hafta LDL-kolesterol konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD-K grubunda; 0. hafta LDL-kolesterol konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. 4. hafta LDL-kolesterol konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür.

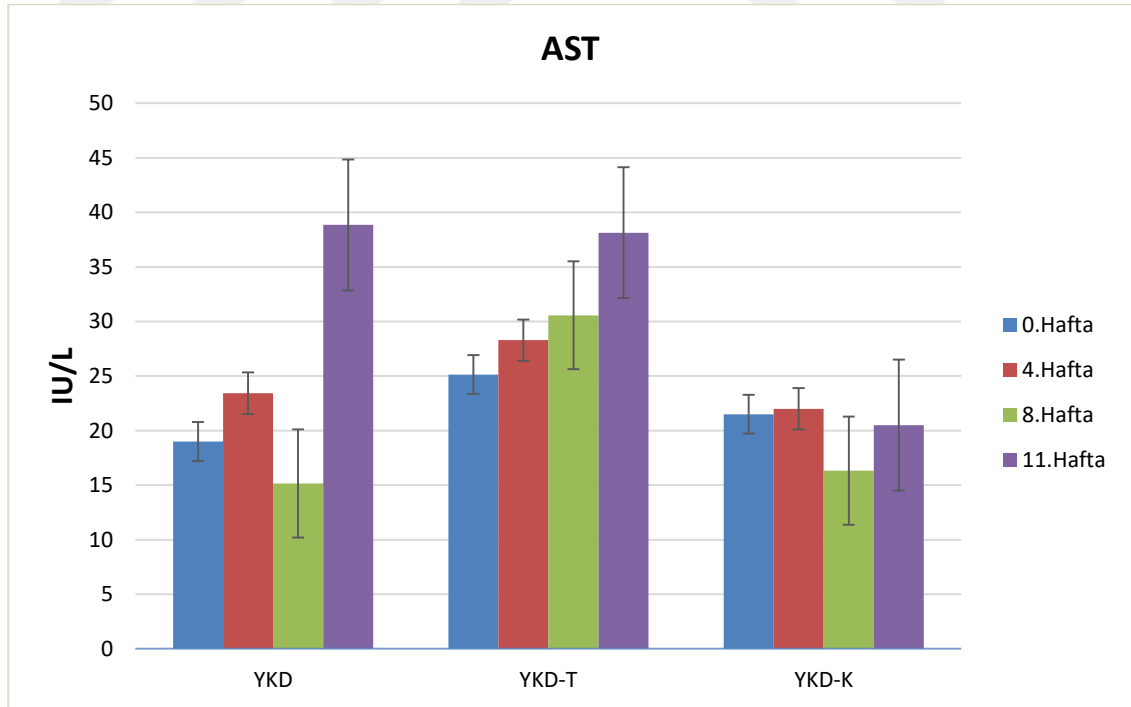
Tablo 15: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre AST (IU/L) konsantrasyonları

AST (IU/L)	GRUPLAR							p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)	Toplam	
0.Hafta	24.50±0.55 abA	20.00±3.21 acAB	25.71±1.60 bA	19.00±3.74 a	25.14±5.34 bc	21.50±4.93 ^{ab}	22.56±4.33	0.004
4.Hafta	16.67±0.52 aB	24.50±2.67 bdA	29.00±3.74 cAB	23.43±3.21 d	28.29±2.14 bc	22.00±2.19 ^d	24.22±4.75	<0.001
8.Hafta	12.33±1.03 C	19.50±1.60 B	21.57±4.28 B	15.14±9.15	30.57±18.19	16.33±18.38	19.49±11.94	0.070
11.Hafta	18.00±0.00 D	19.50±3.74 AB	26.14±1.07 AB	38.86±39.4 6	38.14±14.67	20.50±16.36	27.05±19.45	0.145
Toplam	17.88±1.85	20.88±1.60	25.61±1.71	24.11±1.71	30.54±1.71	20.08±1.85		
p* değeri	<0.001	0.015	0.006	0.206	0.313	0.879		
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=0.034, Grup zaman etkileşimi=0.229								

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 21: Normal diyet grubunda kan serumunda AST düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 22: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda AST düzeylerinin grafik ile gösterimi

AST değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ve ($p=0.034$) gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.229$).

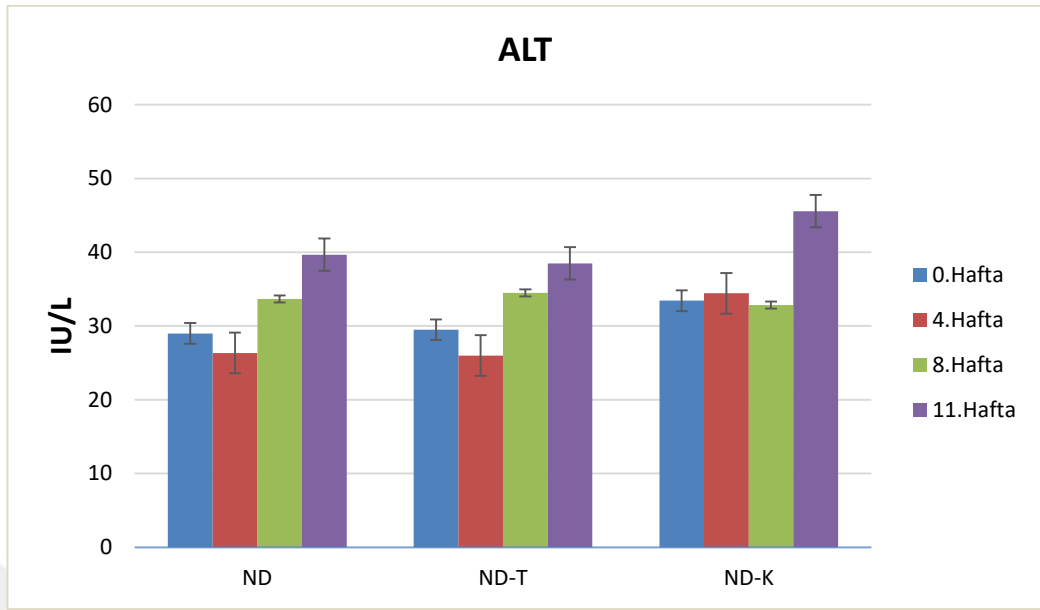
AST değişkeninin 0 ve 4. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlendi. 0. haftada; ND-T grubunun AST konsantrasyonu ND-K grubundan anlamlı düzeyde düşük, ND-K grubunun AST konsantrasyonu YKD grubundan anlamlı düzeyde yüksek, YKD grubunun AST konsantrasyonu ise YKD-T grubundan anlamlı düzeyde düşüktür. 4. haftada; ND grubunun AST konsantrasyonu diğer gruplardan, ND-T grubunun AST konsantrasyonu ND-K grubundan anlamlı düzeyde düşüktür. ND-K grubunun AST konsantrasyonu YKD ve YKD-K grubundan anlamlı düzeyde yüksektir. YKD grubunun AST konsantrasyonu YKD-T grubundan anlamlı düzeyde düşük, YKD-T grubunun AST konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı düzeyde yüksektir.

AST değişkeninin ND, ND-T, ND-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. ND grubunda; 0. hafta AST konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan, 4. hafta AST konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde yüksek, ayrıca 4 ve 8. hafta AST konsantrasyonu 11. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür.

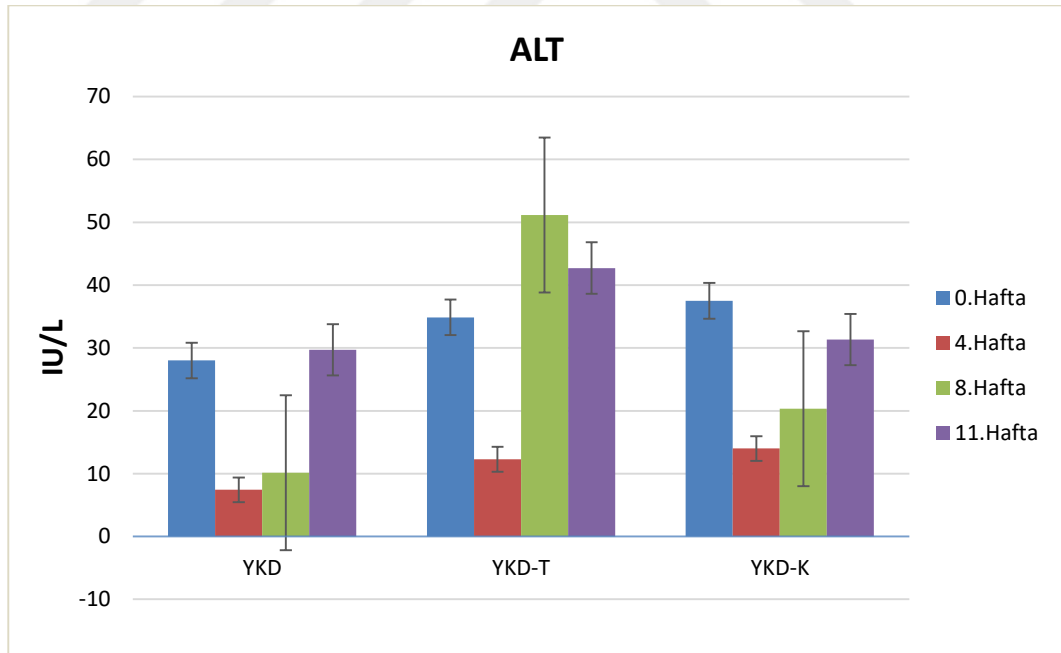
Tablo 16: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre ALT (IU/L) konsantrasyonları

ALT (IU/L)	GRUPLAR							Toplam	P değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)			
0.Hafta	29.00±6.20 abAB	29.50±0.53 abA	33.430±0.53 abcA	28.00±3.74 b	34.86±6.62 acAC	37.50±2.74c	31.93±5.12	0.001	
4.Hafta	26.33±4.13 aB	26.00±0.00 aB	34.430±0.53 bA	7.43±4.28 c	12.29±2.14 dB	14.00±1.10 ^d	20.22±9.94	<0.001	
8.Hafta	33.67±0.52 abcAC	34.50±2.67 acC	32.86±2.67 abcA	10.14±4.56 b	51.14±31.05 acCB	20.33±19.44 ^b	30.71±19.12	<0.001	
11.Hafta	39.67±0.52 C	38.50±3.74 D	45.58±3.21 B	29.71±37.86	42.71±22.18 AB	31.33±53.75	38.05±26.21	0.876	
Toplam	32.17±3.09	32.13±2.68	36.57±2.86	18.82±2.86	35.26±2.86	25.79±3.09			
P* değeri	<0.001	<0.001	<0.001	0.060	0.013	0.537			
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=<0.001, Grup zaman etkileşimi=0.089									

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 23: Normal diyet grubunda kan serumunda ALT düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 24: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda ALT düzeylerinin grafik ile gösterimi

ALT değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.089$).

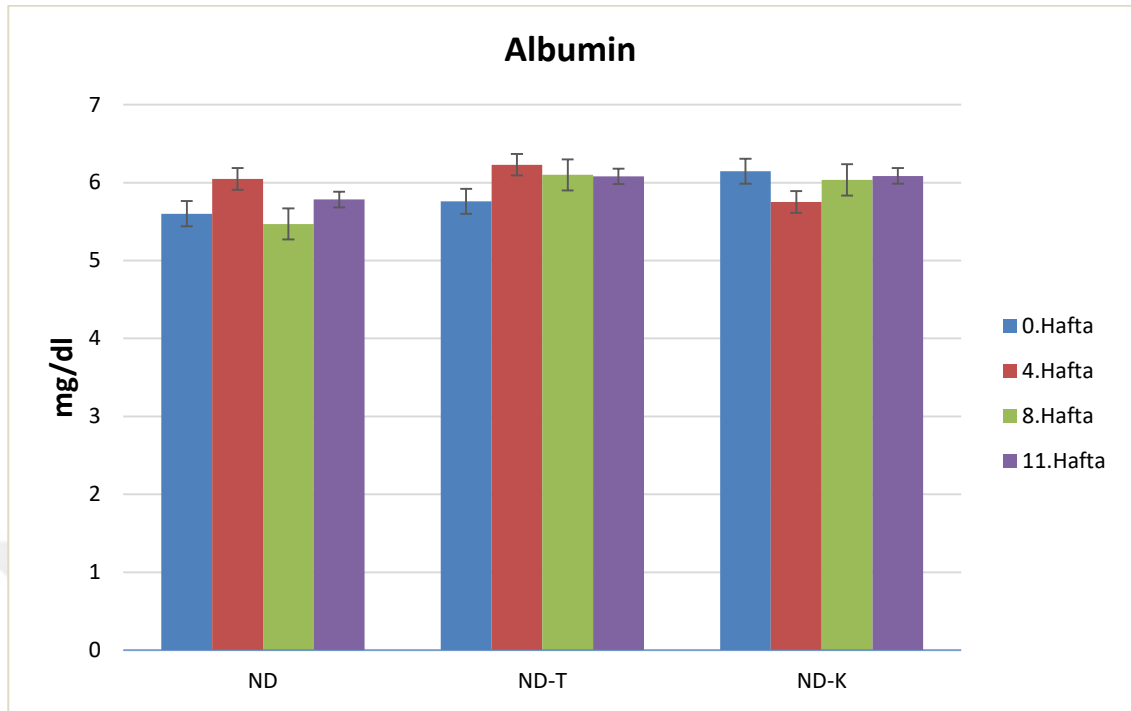
ALT değişkeninin 0, 4 ve 8. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlendi. 0. haftada; ND ve ND-T grubunun ALT konsantrasyonu YKD-K grubundan, YKD grubunun ALT konsantrasyonu YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşüktür. 4. haftada; ND ve ND-T grubunun ALT konsantrasyonu ND-K grubundan anlamlı düzeyde düşük, YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından ise anlamlı düzeyde yüksektir. ND-K grubunun ALT konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde yüksektir. YKD grubunun ALT konsantrasyonu YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde düşüktür. 8. haftada; ND-T grubunun ALT konsantrasyonu YKD ve YKD-K gruplarından anlamlı düzeyde yüksek, YKD grubunun ALT konsantrasyonu YKD-T grubundan anlamlı düzeyde düşüktür.

ALT değişkeninin ND, ND-T, ND-K, YKD-T gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. ND grubunda; 0. hafta ALT konsantrasyonu 11. hafta anlamlı düzeyde yüksek, 4. hafta ALT konsantrasyonu 8 ve 11. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür. ND-T grubunda; 0. hafta ALT konsantrasyonu 4. haftadan anlamlı düzeyde yüksek, 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. 4. hafta ALT konsantrasyonu 8 ve 11. haftadan, 8. hafta ALT konsantrasyonu 11. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür. ND-K grubunda; 0, 4 ve 8. hafta ALT konsantrasyonu 11. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD-T grubunda; 0. hafta ALT konsantrasyonu 4. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir.

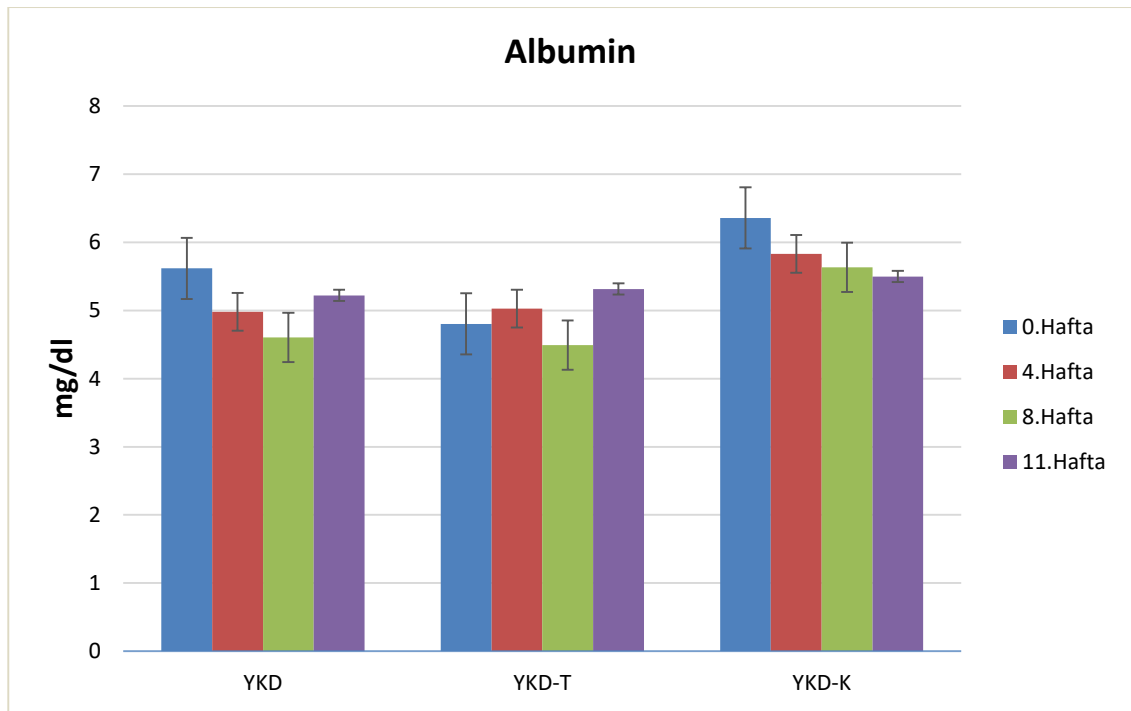
Tablo 17: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre albumin (mg/dl) konsantrasyonları

Albumin (mg/dl)	GRUPLAR							P değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)	Toplam	
0.Hafta	5.60±0.51 a	5.76±0.15 aA	6.17±0.19 acAC	5.62±0.18 aA	4.80±0.22 bA	6.36±0.60 c	5.70±0.59	<0.001
4.Hafta	6.05±0.14 a	6.23±0.29 aB	5.75±0.13 aB	4.98±0.45 bAB	5.03±0.27 bB	5.83±0.47 ac	5.64±0.58	<0.001
8.Hafta	5.47±0.26 ad	6.10±0.21 bC	6.04±0.08 bC	4.60±0.20 cB	4.49±0.11 cC	5.63±0.09 d	5.40±0.68	<0.001
11.Hafta	5.78±0.56 ab	6.08±0.58 aABC	6.09±0.11 aBC	5.22±0.69 bAB	5.31±0.65 abABC	5.50±0.77 ab	5.674±0.70	0.027
Toplam	5.73±0.08	6.04±0.07	6.01±0.07	5.11±0.07	4.91±0.07	5.83±0.08		
P* değeri	0.211	0.001	<0.001	0.003	0.010	0.114		
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=0.001, Grup zaman etkileşimi=<0.001								

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 25: Normal diyet grubunda kan serumunda albumin düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 26: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda albumin düzeylerinin grafik ile gösterimi

Albumin değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ($p < 0.001$) ve gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

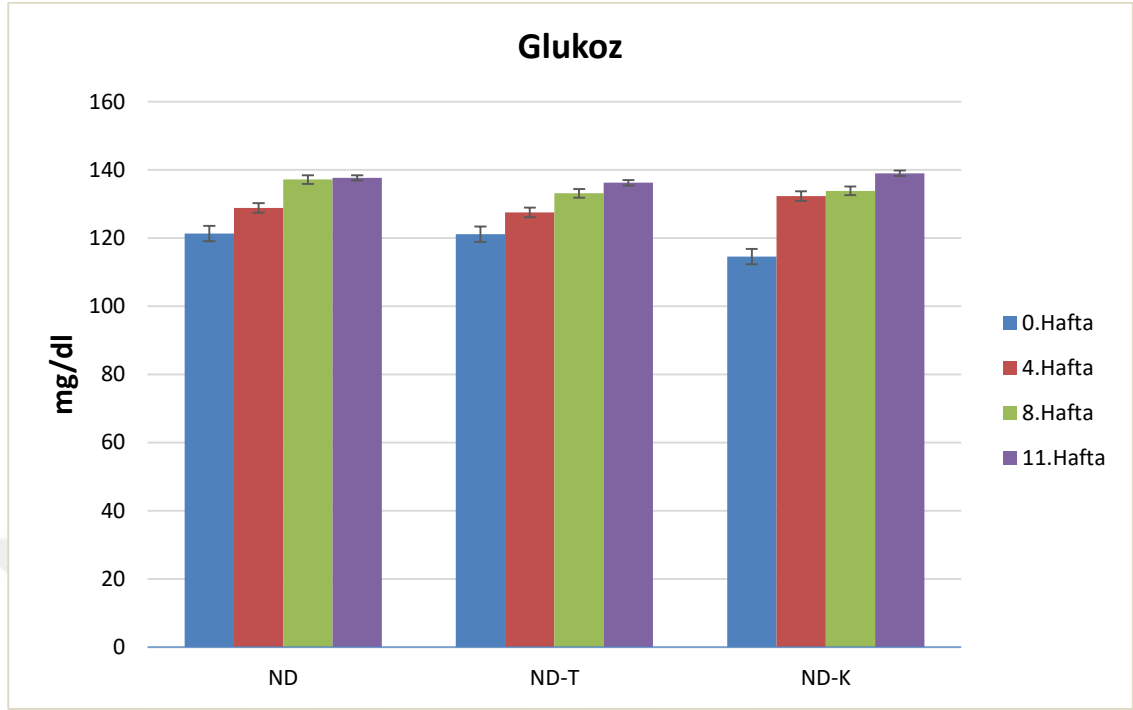
Albumin değişkeninin 0, 4, 8 ve 11. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlendi. 0. haftada; ND ve ND-T grubunun Albumin konsantrasyonu YKD-T grubundan anlamlı derecede yüksek ve YKD-K grubundan, anlamlı düzeyde düşük, ND-K grubunun ALT konsantrasyonu YKD-T grubundan anlamlı düzeyde yüksek, YKD grubunun ALT konsantrasyonu YKD-T ve YKD-K grubundan, YKD-T grubunun ALT konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı düzeyde düşüktür. 4. haftada; ND, ND-T ve ND-K grubunun albumin konsantrasyonu YKD, YKD-T gruplarından anlamlı derecede yüksek, YKD ve YKD-T gruplarının albumin konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı derecede düşüktür. 8. haftada; ND grubunun albumin konsantrasyonu ND-T ve ND-K gruplarından anlamlı derecede düşük, YKD ve YKD-T grubundan anlamlı derecede yüksektir. ND-T ve ND-K grubunun albumin konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı derecede yüksektir. YKD ve YKD-T gruplarının albumin konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı derecede düşüktür. 11. haftada; ND-T ve ND-K grubunun albumin konsantrasyonu YKD grubundan anlamlı derecede yüksektir.

Albumin değişkeninin ND-T, ND-K, YKD, YKD-T gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. ND-T grubunda; 0. hafta Albumin konsantrasyonu 4 ve 8. haftalardan anlamlı düzeyde düşük, 4. hafta Albumin konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. ND-K grubunda; 0. hafta albumin konsantrasyonu 4. haftadan anlamlı düzeyde yüksek, 4. hafta albumin konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD grubunda; 0. hafta albumin konsantrasyonu 8. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. YKD-T grubunda; 0. hafta albumin konsantrasyonu 4. haftadan anlamlı düzeyde düşük, 8. haftadan ise anlamlı düzeyde yüksektir.

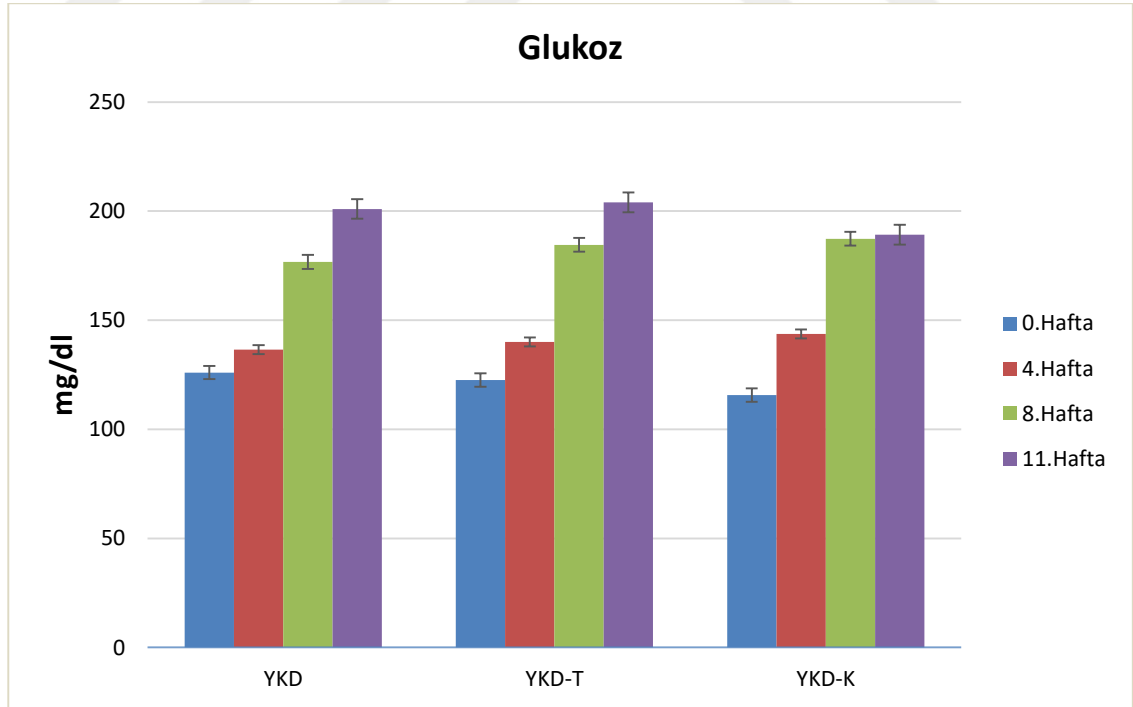
Tablo 18: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre glukoz (mg/dl) konsantrasyonları

Glukoz (mg/dl)	GRUPLAR							Toplam	P değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)			
0.Hafta	121.33±2.2 5 ^{acA}	121.12±4.29 aA	114.57±1.51 bA	126.00±1.91 ^{cA}	122.57±1.72 acA	115.67±4.84 bA	120.32±4.90	<0.001	
4.Hafta	128.83±2.2 3 ^{aB}	127.50±4.17 aAB	132.29±1.38 abB	136.57±5.65 bcB	140.00±2.38 cdB	143.67±1.97 dB	134.56±6.65	<0.001	
8.Hafta	137.17±2.7 1 ^{aC}	133.12±3.80 aBC	133.86±3.53 aBC	176.71±2.43 ^{bc}	184.57±5.06 cdC	187.33±5.39 dC	158.00±24.87	<0.001	
11.Hafta	137.67±3.4 4 ^{aC}	136.25±6.09 aC	139.00±2.83 aC	201.00±4.76 ^{bd}	204.00±11.62 bd	189.17±6.40 ^{cC}	167.29±31.76	<0.001	
Toplam	131.25±0.5	129.50±0.82	129.93±0.88	160.07±0.88	162.79±0.88	158.96±0.95			
P* değeri	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001			
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=<0.001, Grup zaman etkileşimi=<0.001									

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 27: Normal diyet grubunda kan serumunda glukoz düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 28: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda glukoz düzeylerinin grafik ile gösterimi

Glukoz değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ($p<0.001$) ve gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$).

Glukoz değişkeninin 0, 4, 8 ve 11. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksek farklılık belirlendi. 0. haftada; ND ve ND-T grubunun glukoz konsantrasyonu ND-K, YKD-K grubundan, YKD ve YKD-T grubunun glukoz konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı derecede yüksek, ND-T grubunun glukoz konsantrasyonu YKD grubundan, ND-K grubunun glukoz konsantrasyonu YKD ve YKD-T gruplarından anlamlı derecede düşüktür. 4. haftada; ND ve ND-T grubunun glukoz konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından, ND-K grubunun glukoz konsantrasyonu YKD-T ve YKD-K gruplarından, YKD grubunun glukoz konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı derecede düşüktür. 8. haftada; ND, ND-T ve ND-K grubunun glukoz konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından, YKD grubunun glukoz konsantrasyonu YKD-T ve YKD-K grubundan anlamlı derecede düşüktür. 11. haftada; ND, ND-T ve ND-K grubunun glukoz konsantrasyonu YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı derecede düşük, YKD, YKD-T grubunun glukoz konsantrasyonu YKD-K grubundan anlamlı derecede yüksektir.

Glukoz değişkeninin ND, ND-T, ND-K, YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksek farklılık belirlendi. ND grubunda; 0. hafta glukoz konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan, 4. hafta glukoz konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. ND-T grubunda; 0. hafta glukoz konsantrasyonu 11. haftadan 4. hafta glukoz konsantrasyonu 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. ND-K grubunda; 0. hafta glukoz konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan, 4. hafta glukoz konsantrasyonu 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD ve YKD-T grubunda; 0. hafta glukoz konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan, 4. hafta glukoz konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan, 8. hafta glukoz konsantrasyonu 11. haftadan anlamlı düzeyde düşüktür. YKD-K grubunda; 0. hafta glukoz konsantrasyonu 4, 8 ve 11. haftalardan, 4. hafta glukoz konsantrasyonu 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde düşüktür.

4.3. Canlı Ağırlık Bulguları

Bu çalışmada; 0. haftada ve normal diyet ve yüksek kolesterol içeren diyetle beslemeyi takiben thymol ve kekik yağı uygulamalarından sonra (4, 8 ve 11. haftalarda) tavşanların tartılmasından elde edilen ortalama canlı ağırlıklar Tablo 19’da gösterildi. Ayrıca canlı ağırlıktaki değişimler Şekil 29-30’da grafik ile gösterildi.

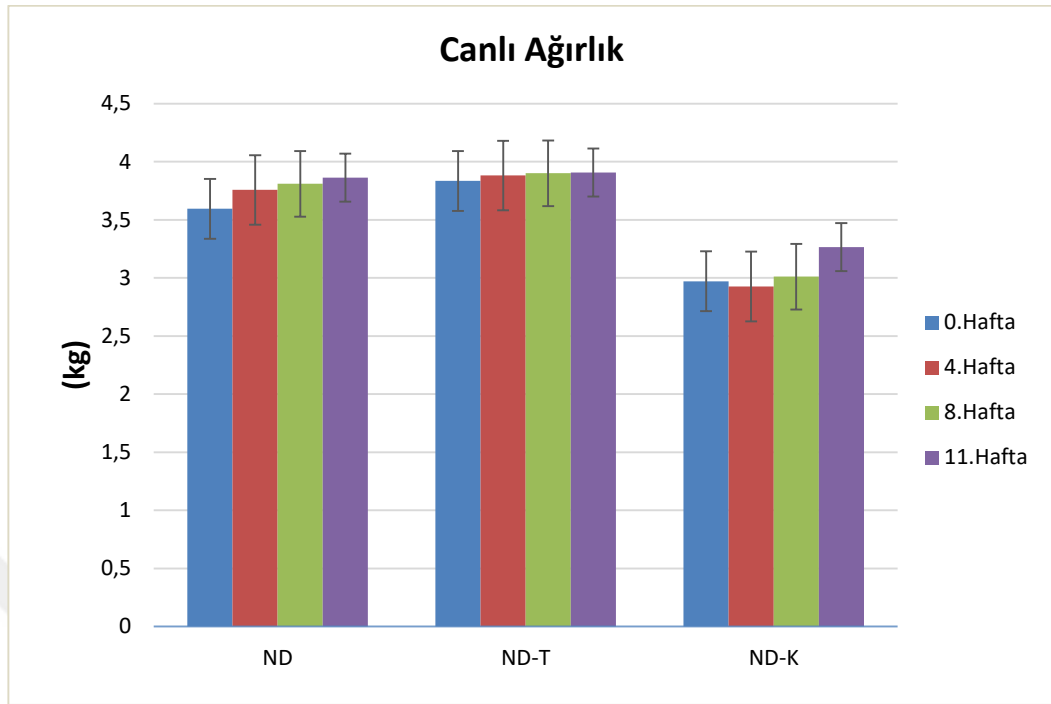
Canlı ağırlık değişkeninin 0, 4, 8 ve 11. haftalarda yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlendi. 0. haftada; ND-T grubunun canlı ağırlığı ND-K grubundan anlamlı derecede düşüktür. 4. haftada; ND grubunun canlı ağırlığı YKD-K grubundan, ND-T grubunun canlı ağırlığı ND-K ve YKD-K grubundan, YKD-T grubunun canlı ağırlığı YKD-K grubundan anlamlı düzeyde yüksektir. 8. haftada; ND-T grubunun canlı ağırlığı ND-K ve YKD-K grubundan anlamlı düzeyde yüksektir. 11. haftada; ND ve ND-T grubunun canlı ağırlığı YKD-T ve YKD-K grubundan anlamlı düzeyde yüksektir.

Canlı ağırlık değişkeninin YKD-T ve YKD-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. YKD-T grubunda; 0 ve 4. hafta canlı ağırlık ölçümü 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde yüksektir. YKD-K grubunda; 0. hafta canlı ağırlık ölçümü 4, 8 ve 11. haftalardan, 4. hafta canlı ağırlık ölçümü 8 ve 11. haftalardan anlamlı düzeyde yüksektir.

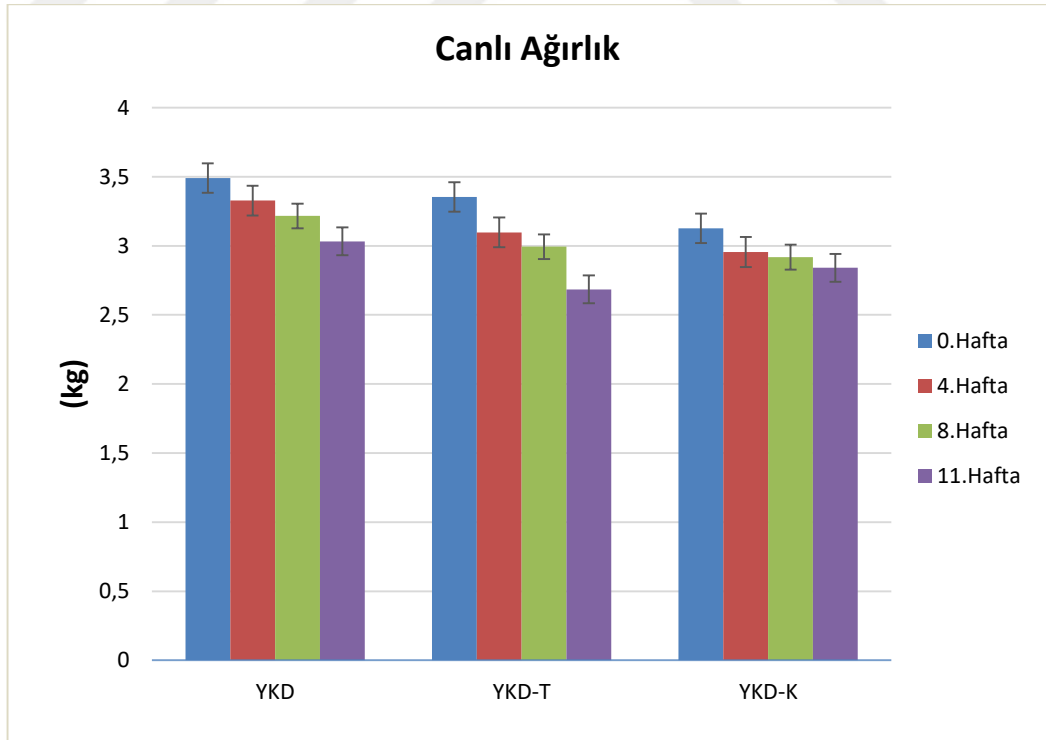
Tablo 19: Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre canlı ağırlık (kg) ölçümleri

Canlı Ağırlık (kg)	GRUPLAR							Toplam	p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)			
0.Hafta	3.60±0.70 ^{ab}	3.84±0.57 _b	2.98±0.38 ^a	3.49±0.45 ^{ab}	3.35±0.53 ^{abA}	3.13±0.31 ^{abA}	3.41±0.56	0.034	
4.Hafta	3.76±0.67 ^{ac}	3.88±0.54 _a	2.92±0.50 ^{bc}	3.32±0.42 ^{ab} _c	3.10±0.40 ^{acA}	2.96±0.37 ^{bc}	3.33±0.60	0.002	
8.Hafta	3.81±0.66 ^{ab}	3.90±0.55 _a	3.01±0.58 ^b	3.21±0.53 ^{ab}	2.99±0.42 _{abB}	2.92±0.42 ^{Bb}	3.32±0.64	0.002	
11.Hafta	3.87±0.72 ^a	3.91±0.56 _a	3.27±0.35 ^{ab}	3.03±0.72 ^{ab}	2.68±0.47 _{bB}	2.84±0.50 ^{bB}	3.28±0.72	0.001	
Toplam	3.76±0.20	3.89±0.17	3.04±0.18	3.26±0.18	3.03±0.18	2.96±0.20			
p* değeri	0.138	0.684	0.168	0.136	<0.001	0.001			
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=0.088, Grup zaman etkileşimi=<0.001									

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.



Şekil 29: Normal diyet grubundaki tavşanlara ait canlı ağırlık değişkeninin grafik ile gösterimi



Şekil 30: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruptaki tavşanlara ait canlı ağırlık değişkeninin grafik ile gösterimi

4.4. IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ELISA Bulguları

Bu çalışmada; 0. haftada ve normal diyet ve yüksek kolesterol içeren diyetle beslemeyi takiben thymol ve kekik yağı uygulamalarından sonra (4, 8 ve 11. haftalarda) tavşanlardan alınan kan örneklerinden yapılan ELISA analizi sonucunda elde edilen sitokinlerin (IL-1 β , IL-6 ve TNF- α) ortalama konsantrasyonları Tablo 20-20'de gösterildi. Ayrıca herbir parametredeki değişimler Şekil 31'den Şekil 36'ya kadar grafikler ile gösterildi.

IL-1 β değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ($p=0.088$) ve gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.506$).

IL-1 β değişkeninin 11. hafta yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlendi. 11. haftada; ND-K grubunun IL-1 β konsantrasyonu YKD ve YKD grubundan anlamlı derecede yüksektir. Diğer gruplar arasından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

IL-1 β değişkeninin ND, ND-T, ND-K, YKD, YKD-T, YKD-K gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık saptanmadı ($p >0.05$).

IL-6 değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ($p=0.496$) ve gruplar ile zaman etkileşimi anlamlı bulunmadı ($p=0.043$).

IL-6 değişkeninin 0, 4, 8 ve 11. hafta yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmadı ($p >0.05$).

IL-6 değişkeninin ND-T grubunda 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksel farklılık belirlendi. ND-T grubunda; 4. hafta IL-6 konsantrasyonu 11. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. Diğer haftalar arası ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

TNF- α değişkeninin iki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucuna göre; grupların ana etkileri arasındaki fark ($p=0.316$) ve gruplar ile zaman etkileşimi arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.869$).

TNF- α değişkeninin 0, 4, 8 ve 11. hafta yapılan ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksek farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

TNF- α değişkeninin YKD-T gruplarında 0, 4, 8 ve 11. haftalar arası ölçümlerinde istatistiksek farklılık belirlendi. YKD-T grubunda; 0. hafta TNF- α konsantrasyonu 11. haftadan anlamlı düzeyde yüksektir. Bu grupta 11. haftada thymol verilenlerde TNF- α düzeyinde belirgin ve önemli azalma meydana geldi.



Tablo 20: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre IL-1 β (pg/ml) konsantrasyonları

IL-1 β (pg/ml)	GRUPLAR							p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)	Toplam	
0.Hafta	164.29 \pm 22.1 4	171.58 \pm 50.9 8	202.11 \pm 129.19	125.70 \pm 22.5 6	145.69 \pm 28.1 1	125.68 \pm 19.25	156.75 \pm 63.31	0.185
4.Hafta	123.33 \pm 13.5 3	160.39 \pm 46.4 7	162.51 \pm 46.20	130.97 \pm 28.4 1	133.72 \pm 8.96	134.34 \pm 8.09	141.94 \pm 33.13	0.117
8.Hafta	173.6 \pm 74.37	153.44 \pm 32.0 3	180.52 \pm 142.01	142.47 \pm 44.0 1	152.40 \pm 12.5 0	141.19 \pm 17.33	157.18 \pm 66.83	0.872
11.Hafta	166.58 \pm 41.8 7 ^{ab}	162.24 \pm 15.9 7 ^{ab}	261.30 \pm 173.27 a	141.61 \pm 13.1 2 ^b	151.66 \pm 20.2 2 ^{ab}	138.52 \pm 42.73 ^b	170.99 \pm 83.09	0.048
Toplam	156.97 \pm 18.0 4	161.91 \pm 15.6 2	201.61 \pm 16.70	135.19 \pm 16.7 0	145.87 \pm 16.7 0	134.93 \pm 18.04		
p* değeri	0.199	0.854	0.288	0.662	0.222	0.714		
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=0.088, Grup zaman etkileşimi=0.506								

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.

Tablo 21: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre IL-6 (ng/L) konsantrasyonları

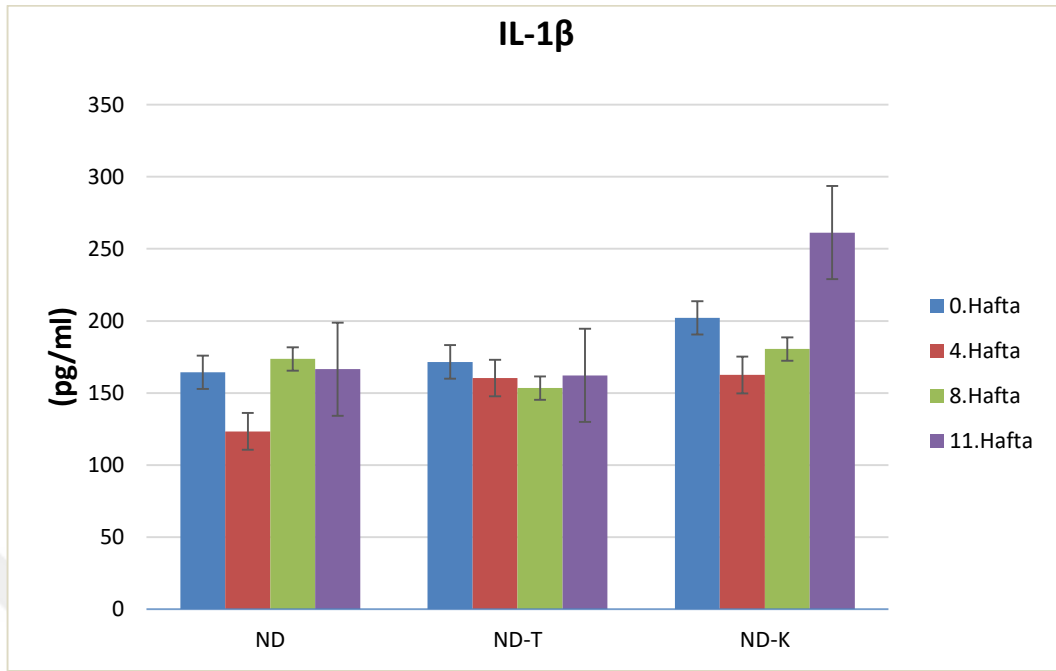
IL-6 (ng/L)	GRUPLAR							p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)	Toplam	
0.Hafta	209.26±44.81	248.05±36.3 2 ^{AB}	241.46±44.3 3	229.27±43.39	238.11±42.25	229.63±38.0 4	233.65±40. 72	0.627
4.Hafta	235.39±39.99	287.20±68.8 0 ^A	284.93±40.3 9	237.43±61.65	240.74±33.94	242.10±31.2 4	256.20±51. 70	0.149
8.Hafta	340.11±207.94	245.56±54.5 8 ^{AB}	202.56±34.1 1	219.94±29.52	248.32±35.86	229.63±26.7 7	245.82±91. 28	0.110
11.Hafta	278.67±112.47	215.30±43.0 4 ^B	360.93±282. 10	242.51±27.91	228.15±40.72	217.95±26.9 0	256.66±13 0.45	0.274
Toplam	265.86±19.82	249.02±17.1 6	272.47±18.3 5	232.29±18.35	238.83±18.35	229.83±19.8 2		
p* değeri	0.247	0.019	0.218	0.703	0.796	0.576		
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=0.496, Grup zaman etkileşimi=0.043								

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. ND: Normal Diyet, ND-T: Normal Diyet+Thymol, ND-K: Normal Diyet+ Kekik Yağı, YKD: Yüksek Kolesterol Diyeti, YKD-T: Yüksek Kolesterol Diyeti + Thymol, YKD-K: Yüksek Kolesterol Diyeti + Kekik Yağı.

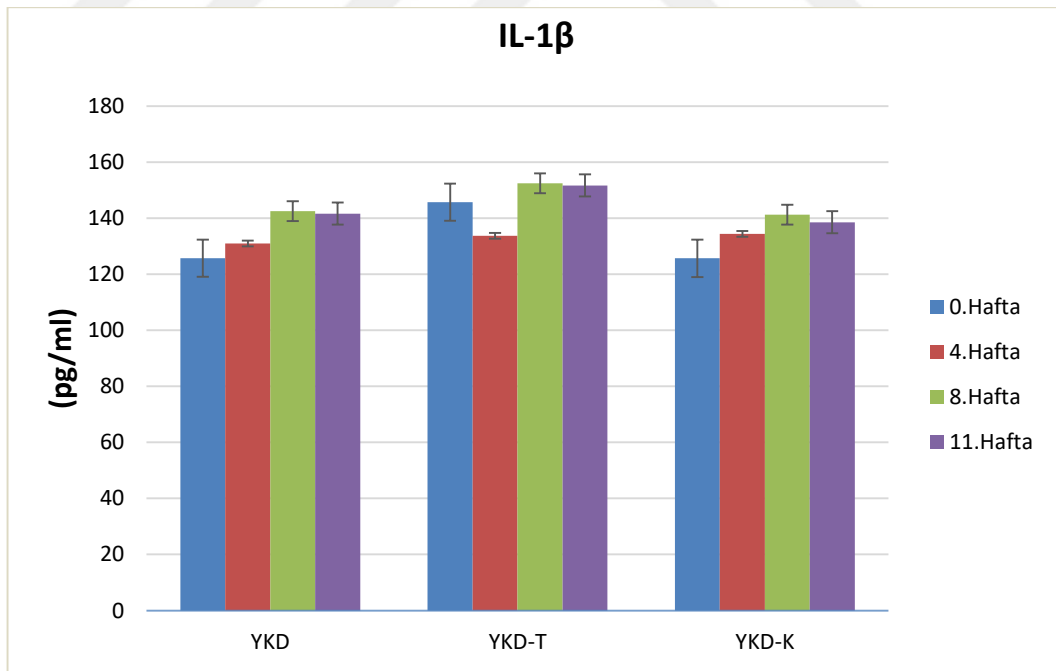
Tablo 22: Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre TNF- α (pg/ml) konsantrasyonları

TNF- α (pg/ml)	GRUPLAR							p değeri
	ND (n=8)	ND-T (n=8)	ND-K (n=8)	YKD (n=8)	YKD-T (n=8)	YKD-K (n=8)	Toplam	
0.Hafta	241.75±42.39	239.71±88.2 5	292.31±258.96	268.36±18.7 1	299.14±29.14 A	249.14±77.29	265.41±114.7 0	0.895
4.Hafta	494.26±710.95	212.34±59.3 6	278.25±262.44	266.50±64.3 4	270.70±43.46 AB	270.93±35.38	292.64±287.9 0	0.615
8.Hafta	299.85±152.28	226.68±46.0 7	308.48±250.27	247.58±60.7 0	230.53±70.23 AB	217.54±32.98	254.24±124.0 2	0.671
11.Hafta	301.15±185.52	223.91±72.6 8	240.44±60.11	211.70±44.0 3	221.70±42.31 B	207.29±44.30	233.14±86.59	0.441
Toplam	334.25±45.72	225.66±39.6 0	279.87±42.33	248.53±42.3 3	255.52±42.33	236.23±45.72		
p* değeri	0.649	0.772	0.871	0.088	0.023	0.225		
İki yönlü tekrarlı ölçümlerde varyans analizi; Grup=0.316, Grup zaman etkileşimi=0.869								

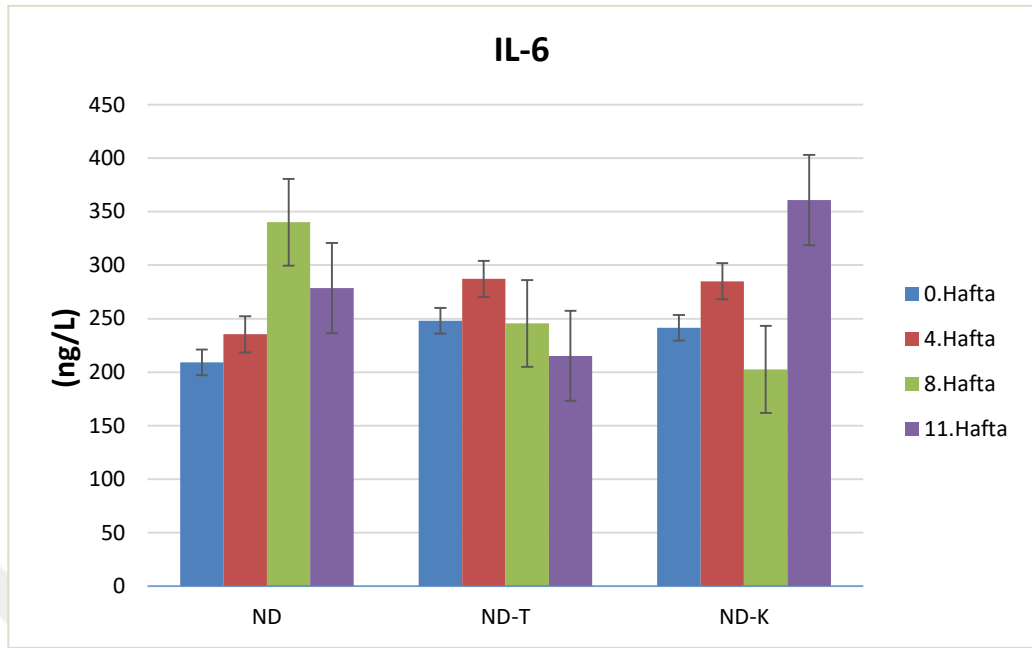
Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan aynı büyük harfler zamanlar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir. p*: Zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir.



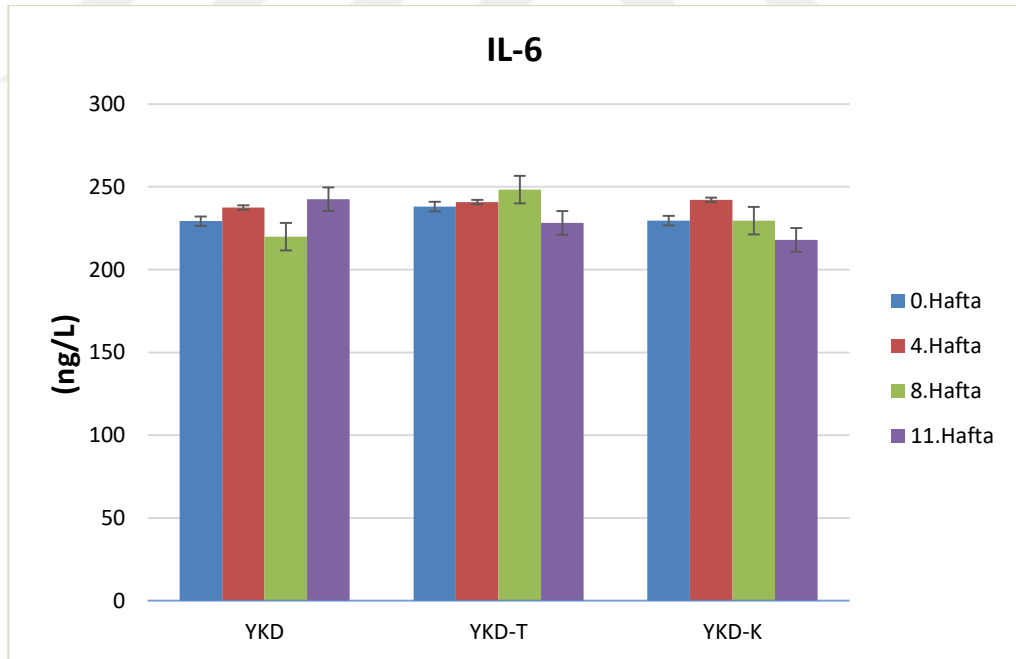
Şekil 31: Normal diyet grubunda kan serumunda IL-1 β düzeylerinin grafik ile gösterimi



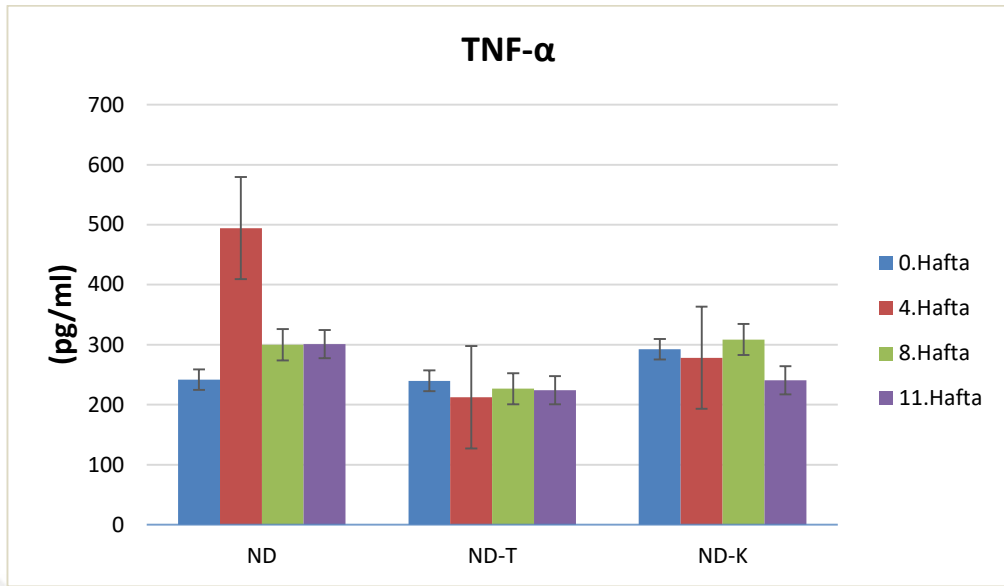
Şekil 32: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda IL-1 β düzeylerinin grafik ile gösterimi



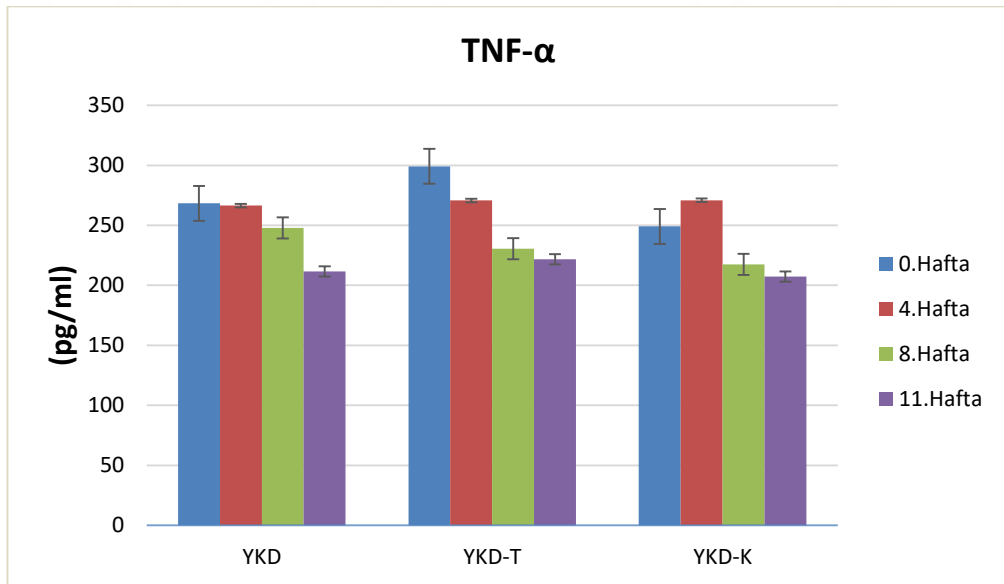
Şekil 33: Normal diyet grubunda kan serumunda IL-6 düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 34: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda IL-6 düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 35: Normal diyet grubunda kan serumunda TNF- α düzeylerinin grafik ile gösterimi



Şekil 36: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda TNF- α düzeylerinin grafik ile gösterimi

4.5. Gen Ekspresyonu Bulguları

Bu çalışmada; normal diyet ve yüksek kolesterol içeren diyetle beslemeyi takiben thymol ve kekik yağı uygulamalarından sonra 11. haftada ötanazi edilen tavşanlardan alınan karaciğer örneklerinden qPCR analizi sonucunda hedef genlere ait mRNA ekspresyon düzeyleri Tablo 23 ve 24’de gösterildi. Ayrıca her bir parametredeki değişimler Şekil 37’den Şekil 64’e kadar grafikler ile ifade edildi.

INF γ geninin ifade düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksek farklılık belirlendi ($p < 0.001$). INF γ geninin ND-T, ND-K, YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarının rölatif gen ifade düzeyinin ND (kontrol) grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi.

IL-4 geninin ifade düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksek farklılık belirlendi ($p=0.006$). IL 4 geninin ND-T grubundaki rölatif gen ifade düzeyi YKD ve YKD-K gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görülmedi.

Tbet geninin ifade düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksek farklılık belirlendi ($p < 0.001$). Tbet geninin ND ve ND-T grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin ND-K grubundan anlamlı derecede düşük olduğu, ND-K grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin ise YKD ve YKD-K grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi.

Gata3 geninin ifade düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksek farklılık belirlendi ($p < 0.001$). Gata3 geninin ND grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin ND-T ve ND-K gruplarından anlamlı derecede düşük olduğu belirlendi. ND-T grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin ND-K grubundan anlamlı derecede düşük olduğu, YKD ve YKD-T grubundan ise anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. ND-K grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin ND-K grubundan anlamlı derecede düşük olduğu, YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından ise anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü.

IL-17 geninin ifade düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksek farklılık belirlendi ($p=0.002$). IL 17 geninin ND grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin ND-T grubundan anlamlı derecede düşük olduğu, ND-T grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin YKD, YKD-T ve YKD-K gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü.

IL-18 geninin ifade düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksek farklılık belirlendi ($p=0.041$). IL 18 geninin YKD-T grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin ND grubundan

anlamli derecede yuiksek olduğu görüldü. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamli düzeyde bir fark görülmedi.

IL-8 geninin ifade düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlendi ($p=0.016$). IL 8 geninin YKD-T grubundaki rölatif gen ifade düzeyinin YKD ve YKD-K grubundan anlamli derecede yuiksek olduğu görüldü. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamli düzeyde bir fark görülmedi.



Tablo 23: Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası gen ekspresyonu değerlerinin (kontrol grubuna göre) karşılaştırılması

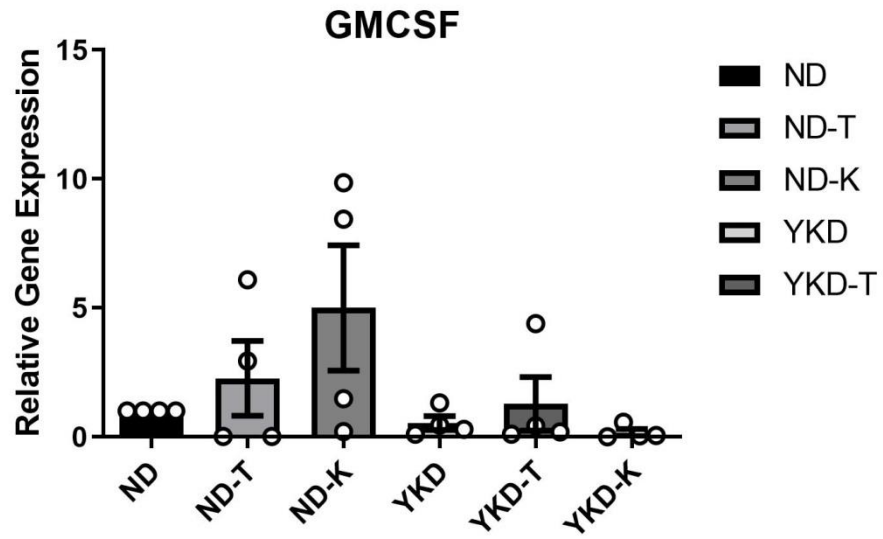
Gen Adı	GRUPLAR						P değeri
	ND (n=4)	ND-T (n=4)	ND-K (n=4)	YKD (n=4)	YKD-T (n=)	YKD-K (n=4)	
GMSCF	1.00±0.00	2.27±2.90	5.00±4.87	0.54±0.54	1.28±2.08	0.16±0.27	0.122
RORγ	1.00±0.00	2.233±1.35	2.23±1.36	3.41±2.94	2.37±0.90	2.28±3.55	0.740
IL9	1.00±0.00	3.413±0.53	0.63±1.14	2.23±2.90	0.49±0.40	1.78±3.51	0.296
IL10	1.00±0.00	1.599±1.37	1.03±1.12	0.81±0.33	1.30±0.37	1.44±1.11	0.797
INFγ	1.00±0.00 a	0.45±.26 b	0.27±.51 b	0.04±0.01 b	0.05±0.03 b	0.04±0.04 b	<0.001
IL4	1.00±0.00 ab	1.66±1.51 a	2.76±2.92 ab	0.04±0.04 b	0.28±0.13 ab	0.11±0.08 b	0.006
Tbet	1.00±0.00 a	1.90±2.41 a	7.27±1.05 b	1.12±1.05 a	3.76±3.16 ab	0.83±0.71 a	<0.001

Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir.

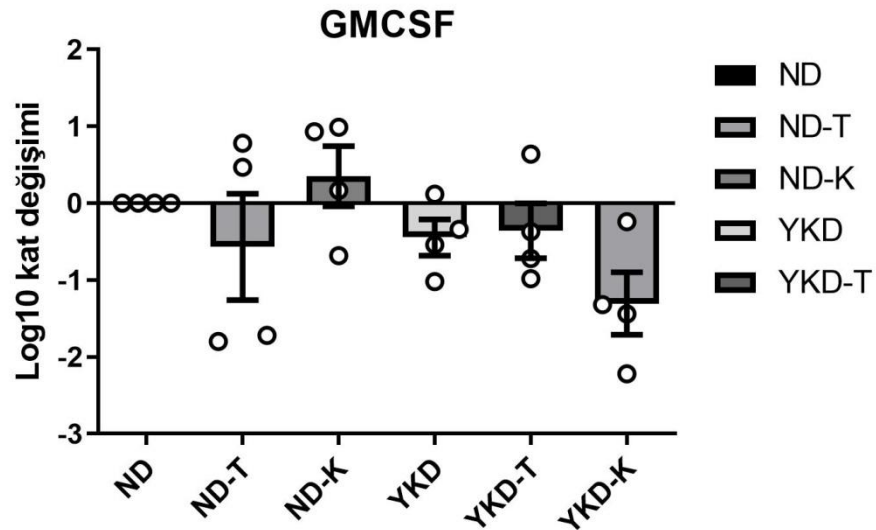
Tablo 24: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen, thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası gen ekspresyonu değerlerinin (kontrol grubuna göre) karşılaştırılması

Gen Adı	GRUPLAR						p değeri
	ND (n=4)	ND-T (n=4)	ND-K (n=4)	YKD (n=4)	YKD-T (n=)	YKD-K (n=4)	
IL13	1.00±0.00	11.34±11.38	19.24±19.05	5.61±3.55	5.96±7.52	5.27±6.15	0.202
Gata3	1.00±0.00 a	2.11±0.45 b	5.55±0.72 c	0.57±0.37 a	0.76±0.12 a	1.28±0.70 ab	<0.001
IL17	1.00±0.00 a	3.44±1.41 b	1.18±2.04 ab	0.07±0.06 a	0.53±0.29 a	0.09±0.17 a	0.002
IL18	1.00±0.00 a	6.69±2.18 ab	2.96±3.24 ab	2.36±3.17 ab	8.28±4.76 b	4.14±3.78 ab	0.041
Foxp3	1.00±0.00	1.97±1.10	1.13±1.27	1.81±1.17	0.66±0.39	1.56±2.93	0.785
IL8	Çalışmadı	Çalışmadı	Çalışmadı	1.00±0.00 a	16.51±11.66 b	1.52±0.57 a	0.016
STAT4	Çalışmadı	Çalışmadı	Çalışmadı	1.00±0.00	2.75±2.26	0.38±0.24	0.074

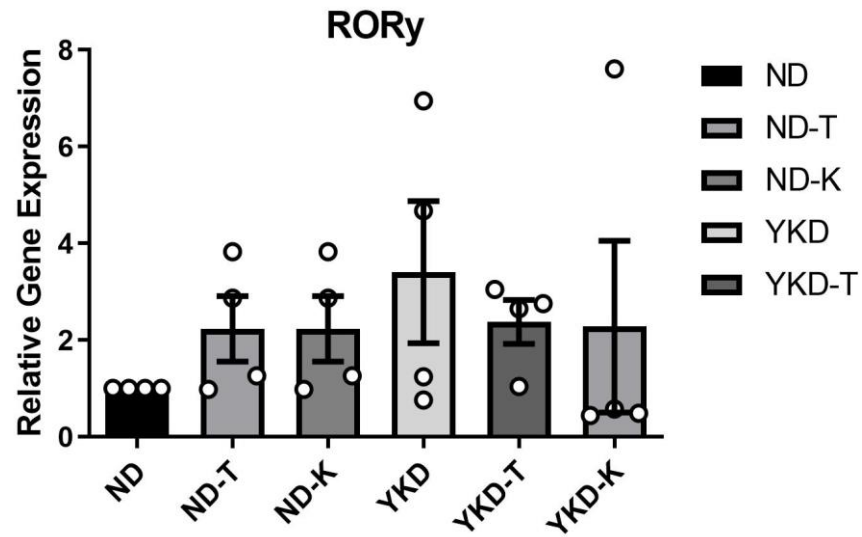
Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir. p: Gruplar arası farklılığın anlamlılığını göstermektedir.



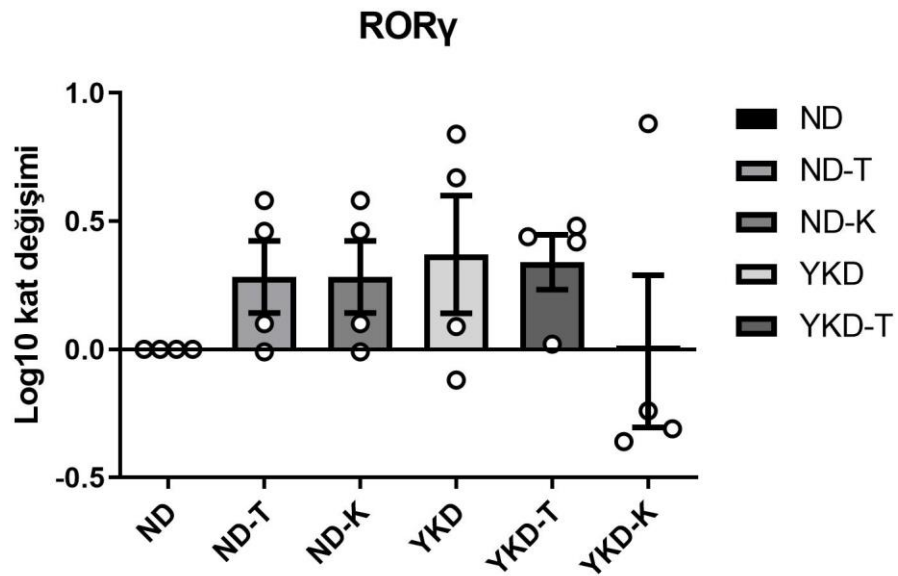
Şekil 37: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda GMCSF geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



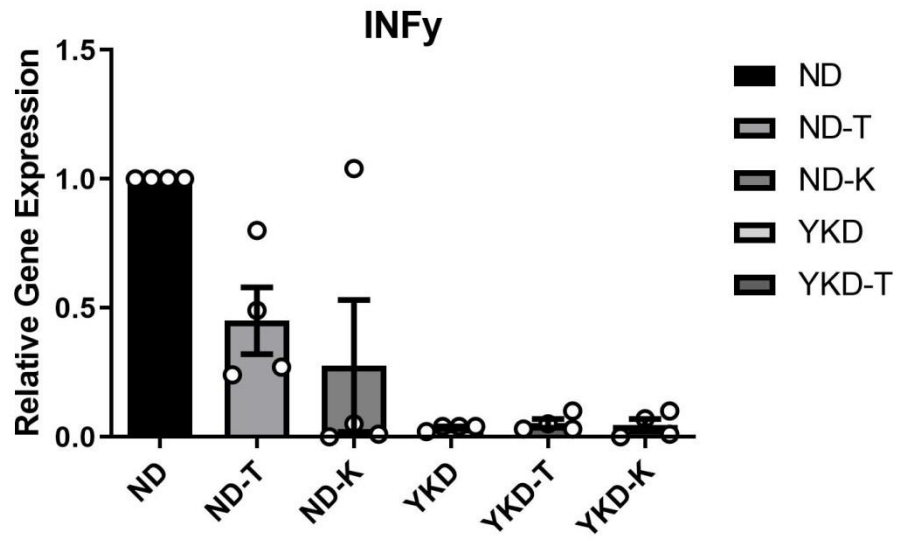
Şekil 38: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda GMCSF genine ait Log10 kat değişikliği



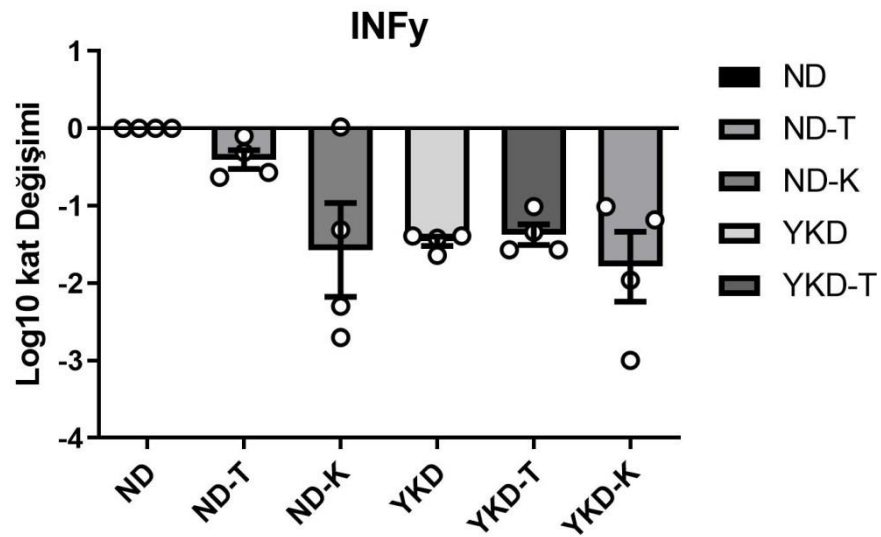
Şekil 39: Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda ROR γ geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



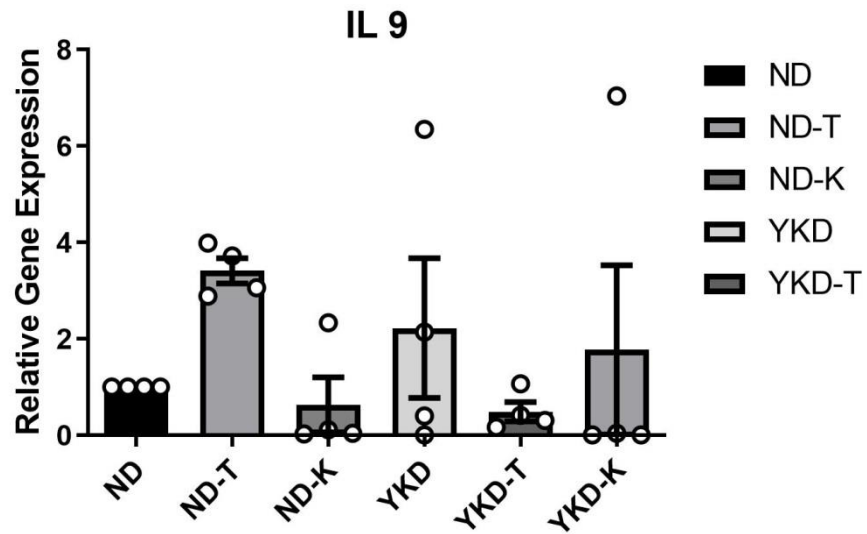
Şekil 40: Normal ve yüksek kolesterollü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda ROR γ genine ait Log10 kat değışikliği



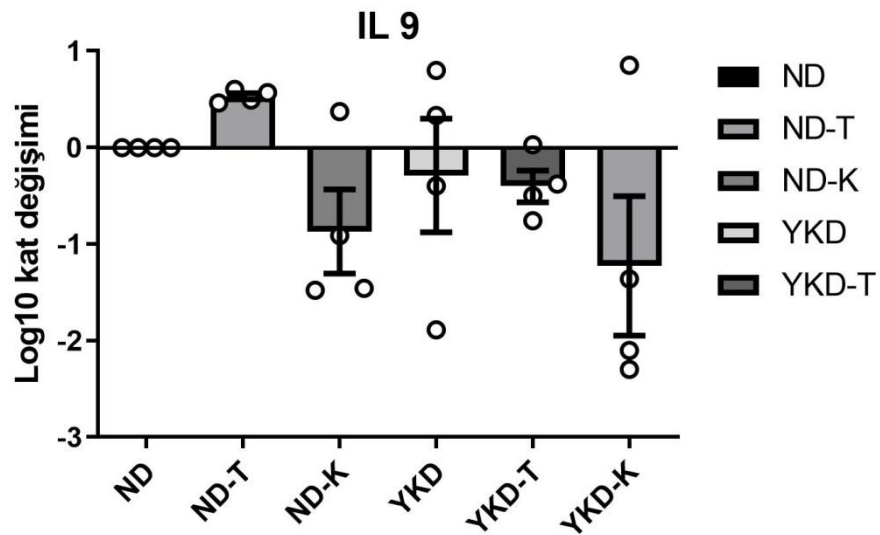
Şekil 41: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda INF γ geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



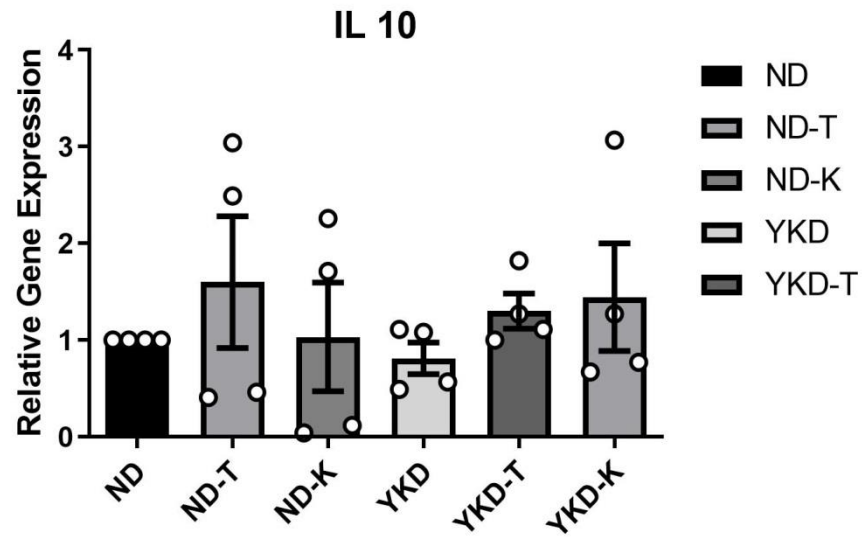
Şekil 42: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda INF γ genine ait Log10 kat değişikliği



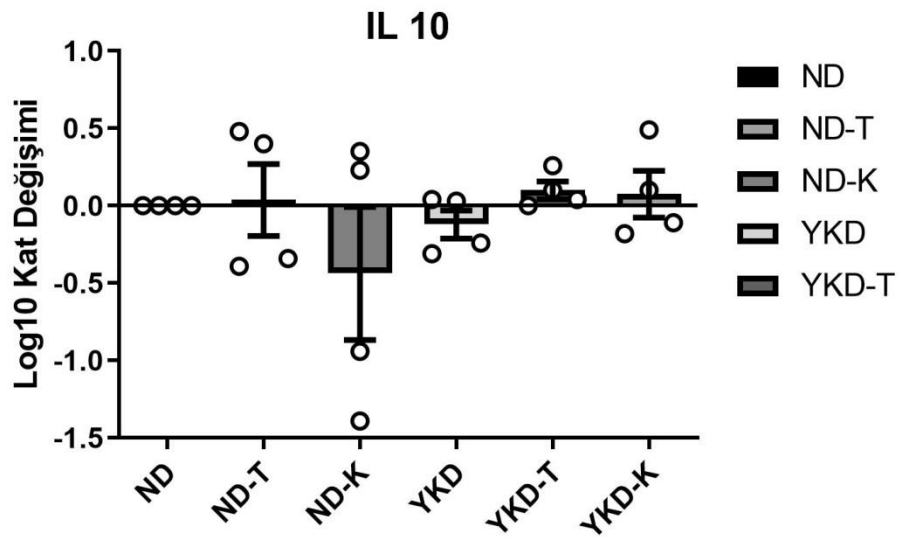
Şekil 43: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-9 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



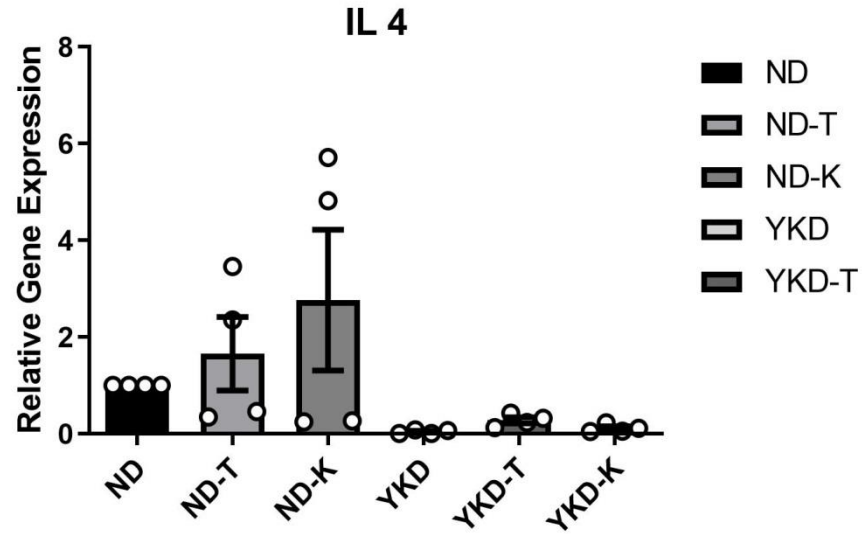
Şekil 44: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-9 genine ait Log10 kat değişikliği



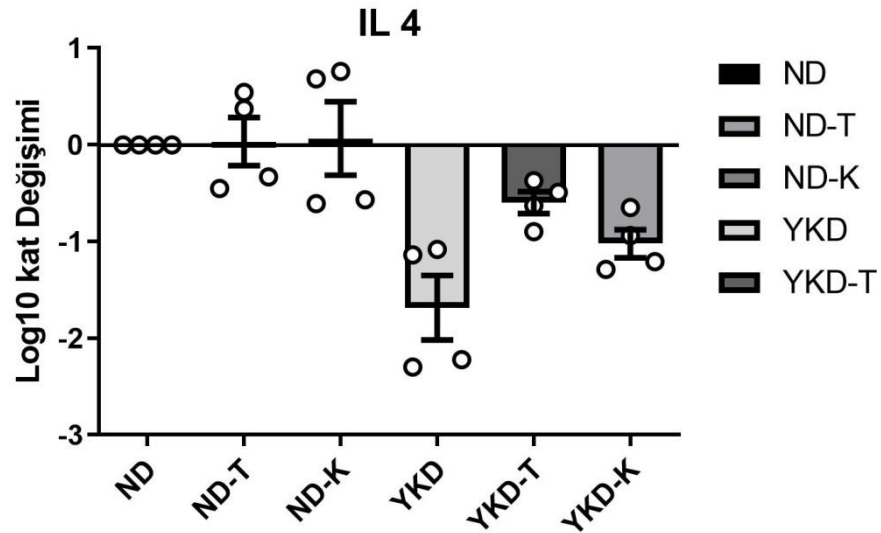
Şekil 45: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-10 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



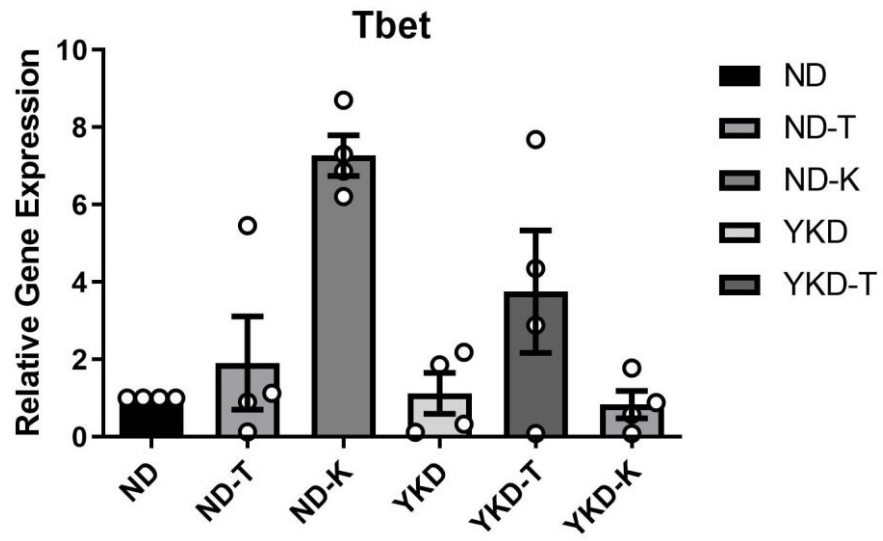
Şekil 46: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-10 genine ait Log10 kat değişikliği



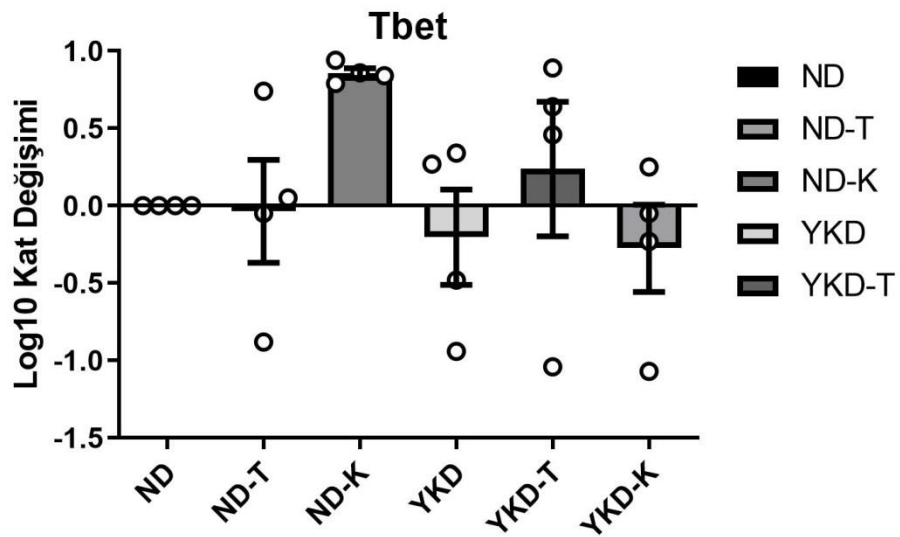
Şekil 47: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-4 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



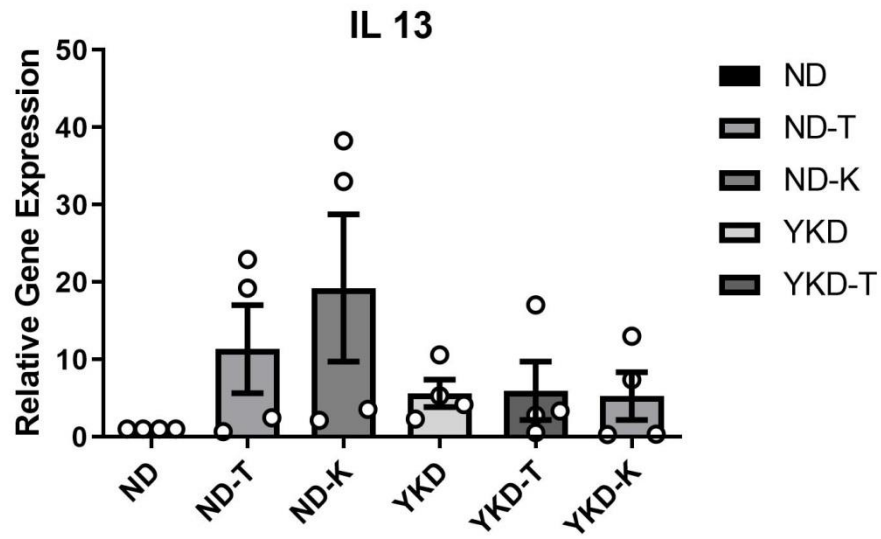
Şekil 48: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-4 genine ait Log10 kat değişikliği



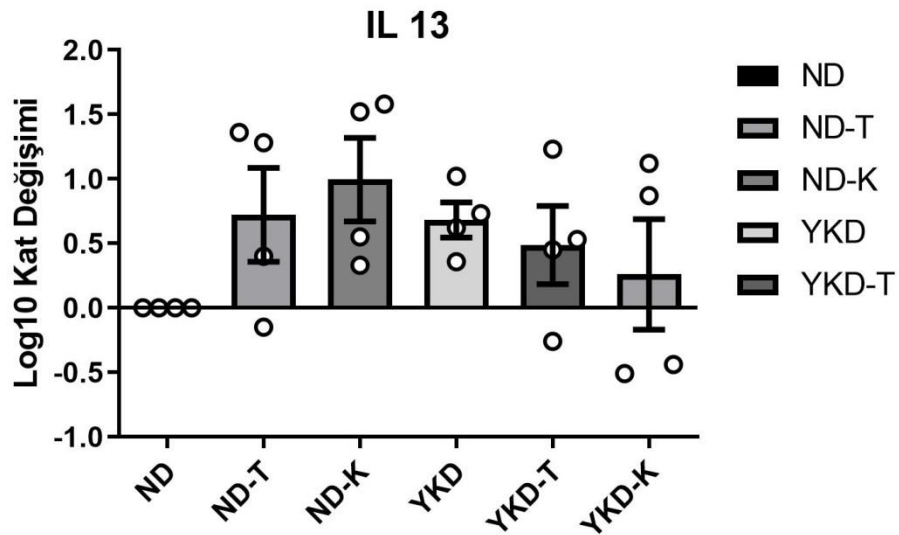
Şekil 49: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Tbet geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



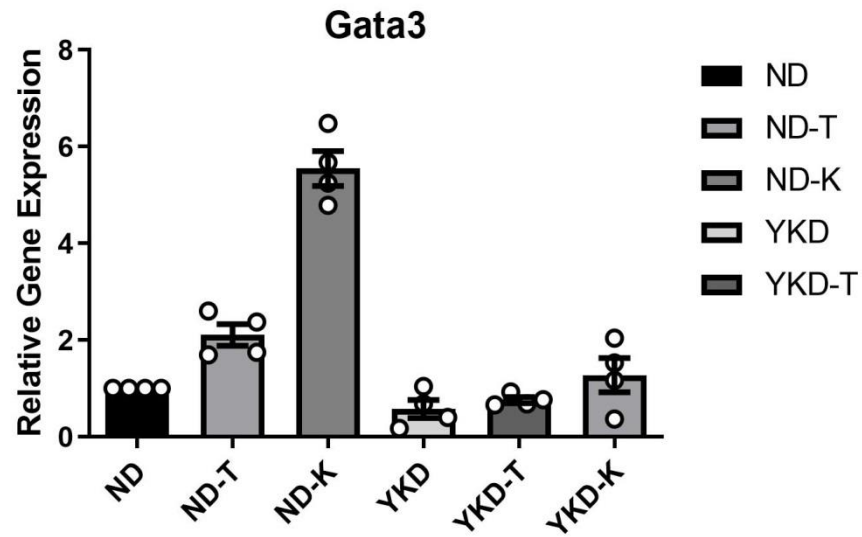
Şekil 50: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Tbet genine ait Log10 kat değişikliği



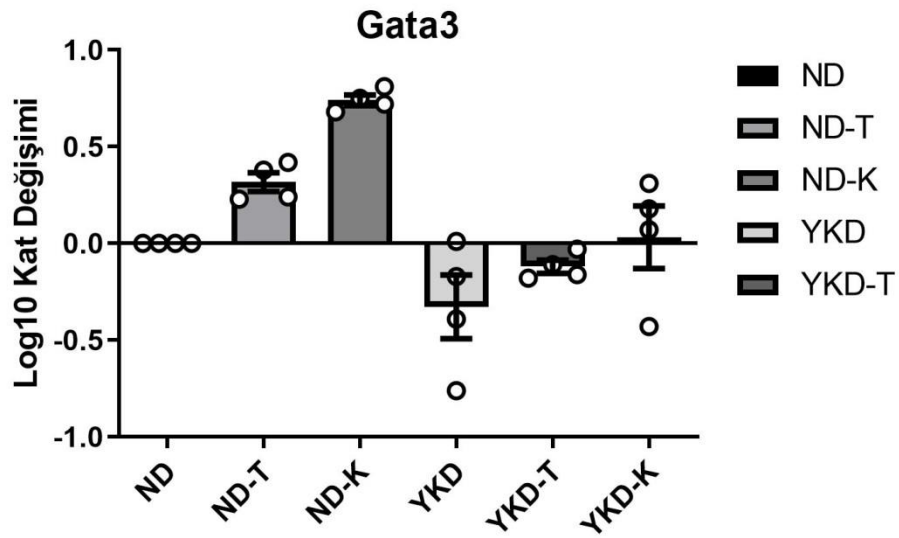
Şekil 51: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-13 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



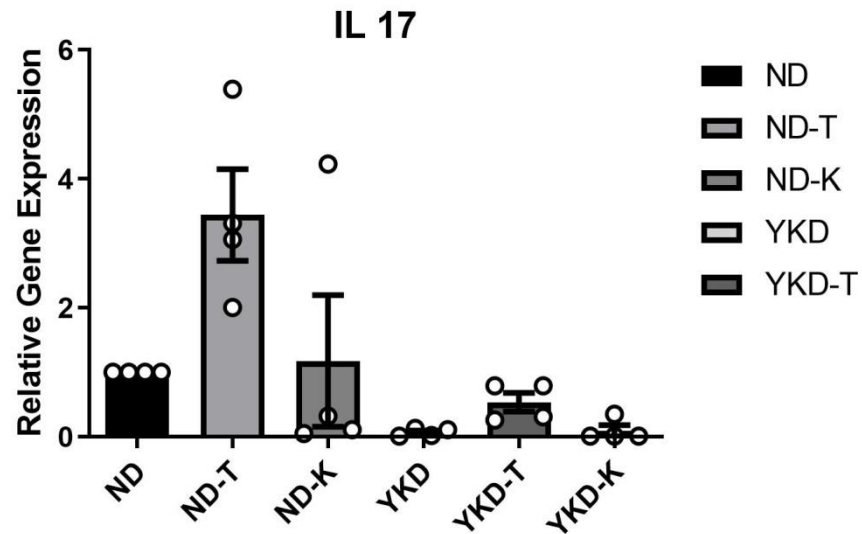
Şekil 52: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-13 genine ait Log10 kat değişikliği



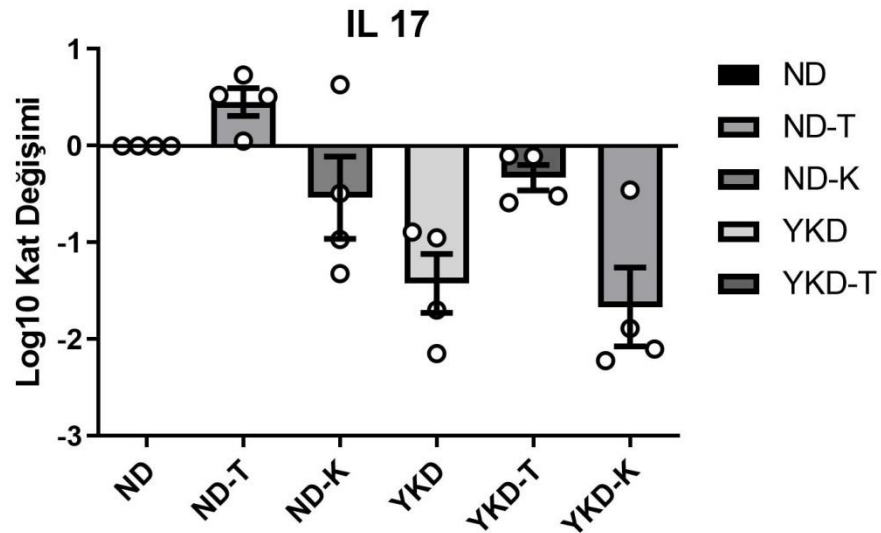
Şekil 53: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Gata3 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



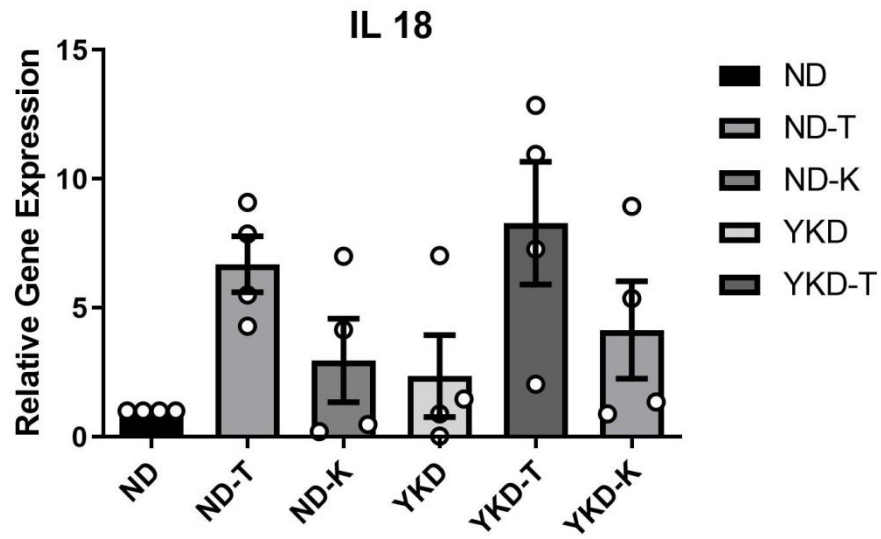
Şekil 54: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Gata3 genine ait Log10 kat değişikliği



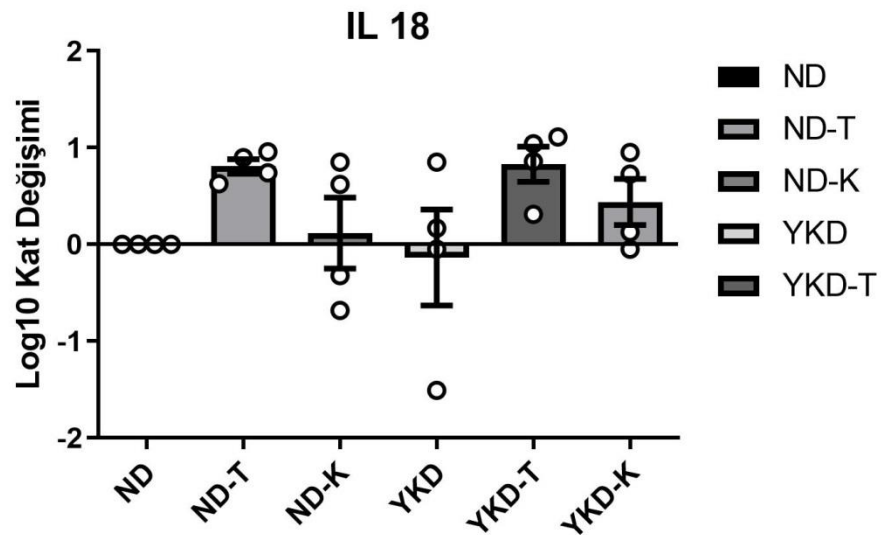
Şekil 55: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-17 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



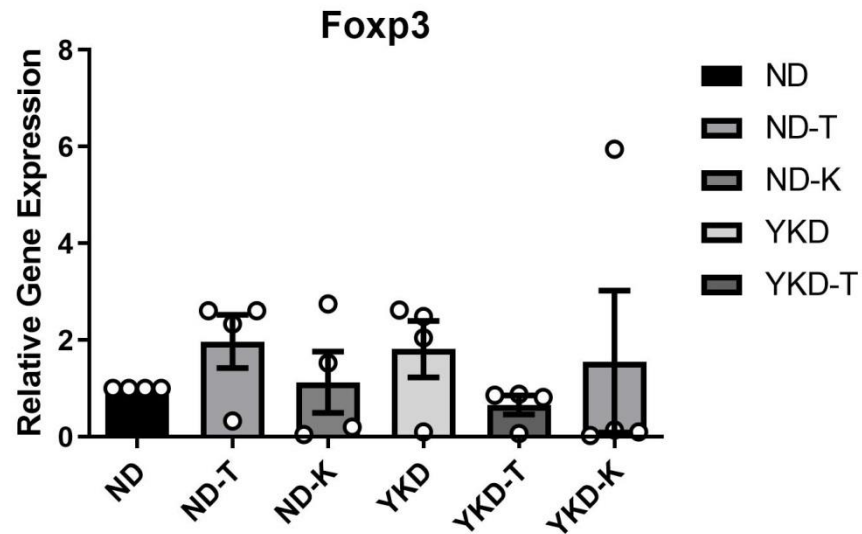
Şekil 56: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-17 genine ait Log10 kat değişikliği



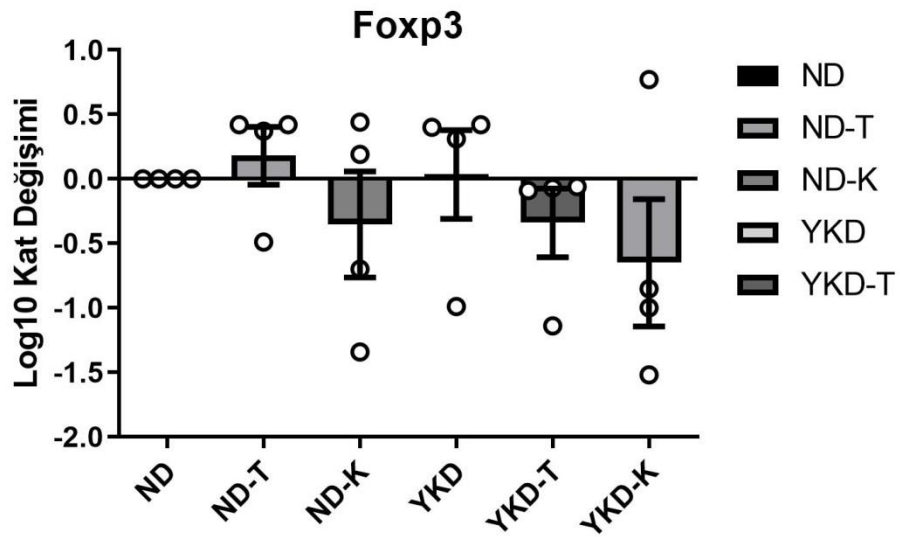
Şekil 57: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-18 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



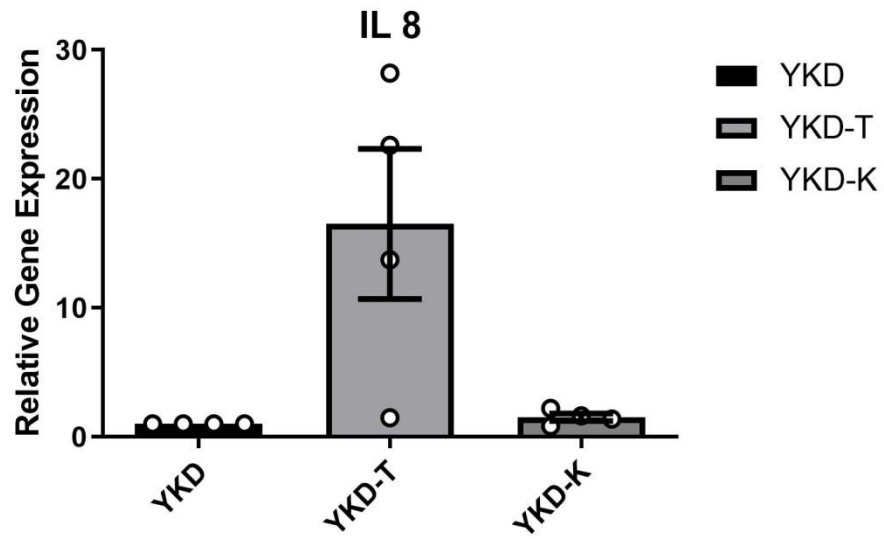
Şekil 58: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-18 genine ait Log10 kat değişikliği



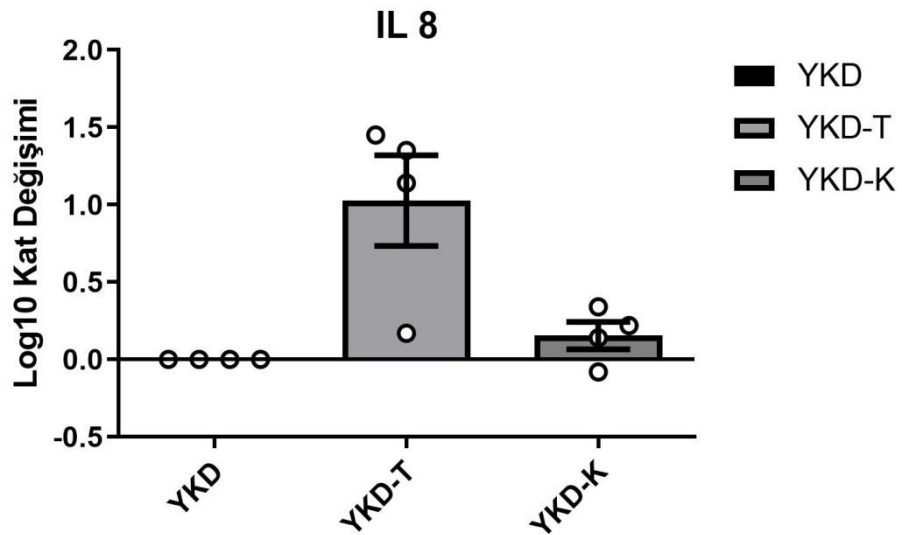
Şekil 59: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Foxp3 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



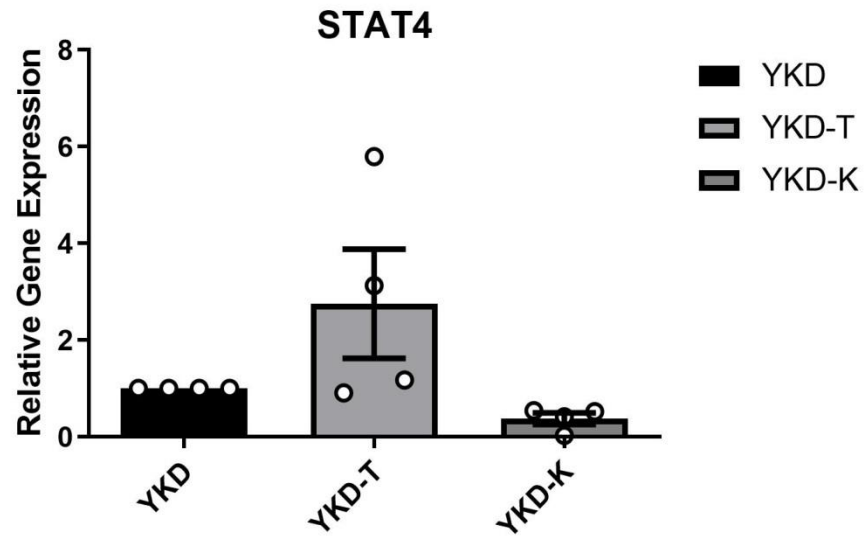
Şekil 60: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda Foxp3 genine ait Log10 kat değişikliği



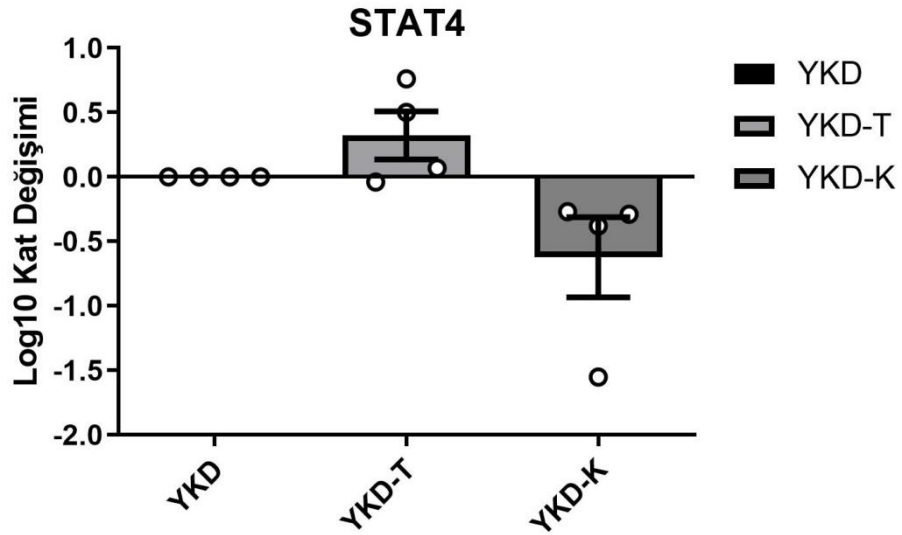
Şekil 61: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-8 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



Şekil 62: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda IL-8 genine ait Log10 kat değişikliği



Şekil 63: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda STAT4 geninin rölatif gen ekspresyon düzeyi



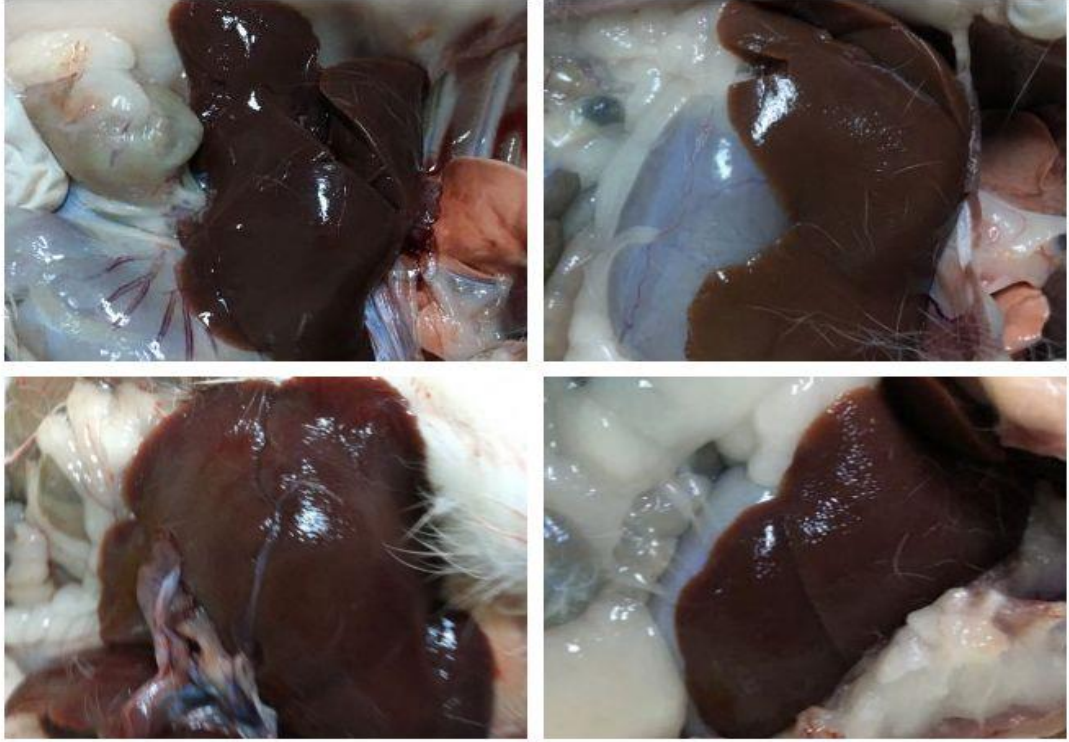
Şekil 64: Normal ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda karaciğer dokusunda STAT4 genine ait Log10 kat değişikliği

4.6. Karaciğerin Makroskopik Görünümü

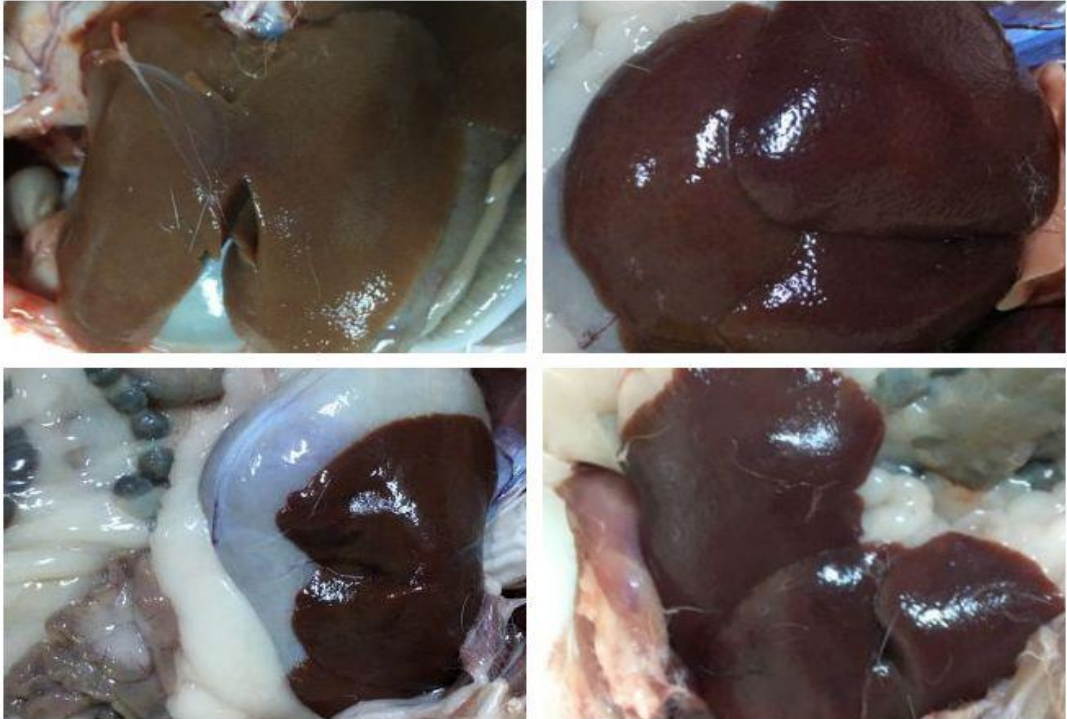
Normal diyet (ND), normal diyet+thymol (ND-T), normal diyet+kekik yağı (ND-K) gruplarında makroskopik olarak karaciğerler normal görünümde olup herhangi bir lezyona rastlanılmadı. Yüksek kolesterol diyeti (YKD), yüksek kolesterol diyeti+thymol (YKD-T), yüksek kolesterol diyeti+kekik yağı (YKD-K) gruplarında makroskopik olarak karaciğerlerde sarımtırak renk değişimleri, hacimce artış, kenarları kütleşmiş, kesit yüzeylerinin parlak, kaygan ve dışarı doğru taşkın, gevrek kıvamda olduğu bazılarının ise diyaframa yapıştığı görüldü. Ayrıca YKD+T grubundaki tavşanlardan 1 tanesinde asites şekillendiği görüldü.



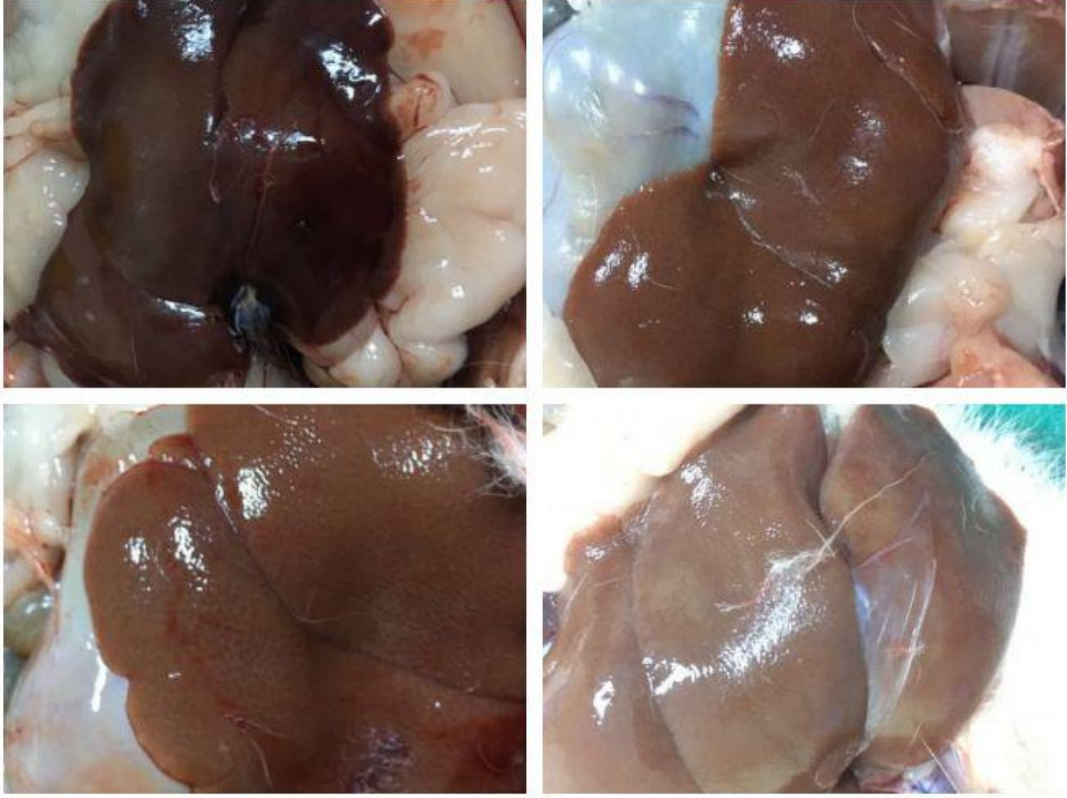
Resim 14: Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda artmış visseral adipozitenin makroskopik görünümü



Resim 15: ND grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü



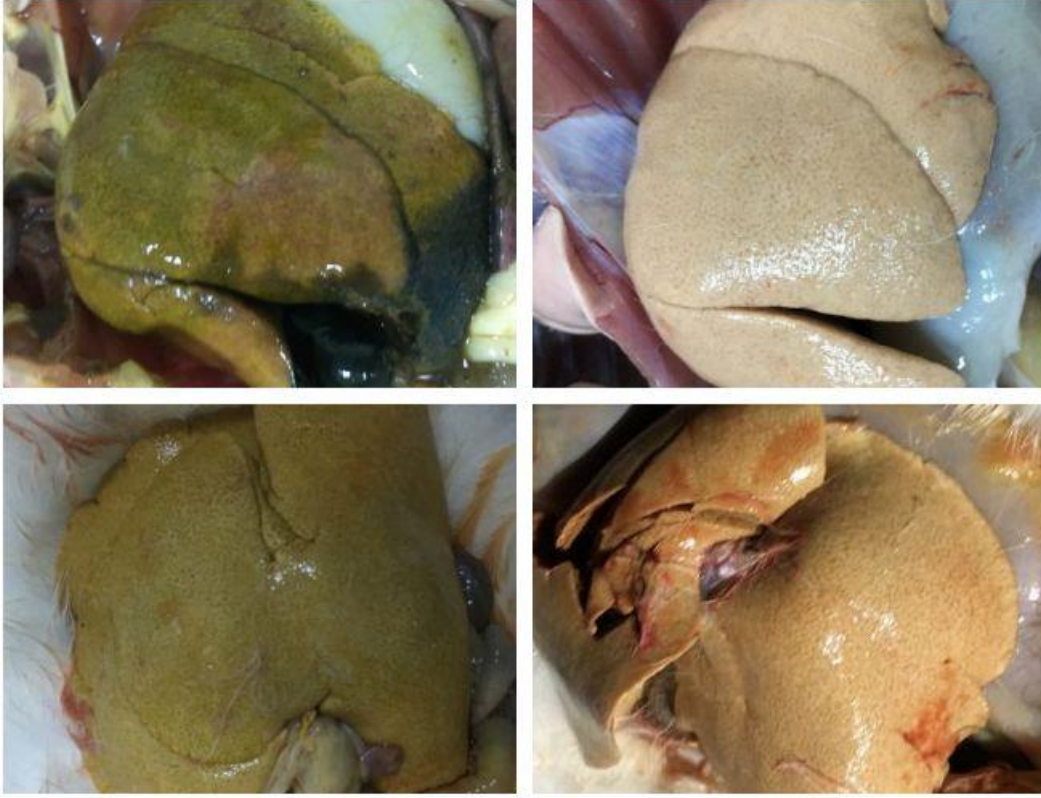
Resim 16: ND-T grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü



Resim 17: ND-K grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü



Resim 18: YKD grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü



Resim 19: YKD-T grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü



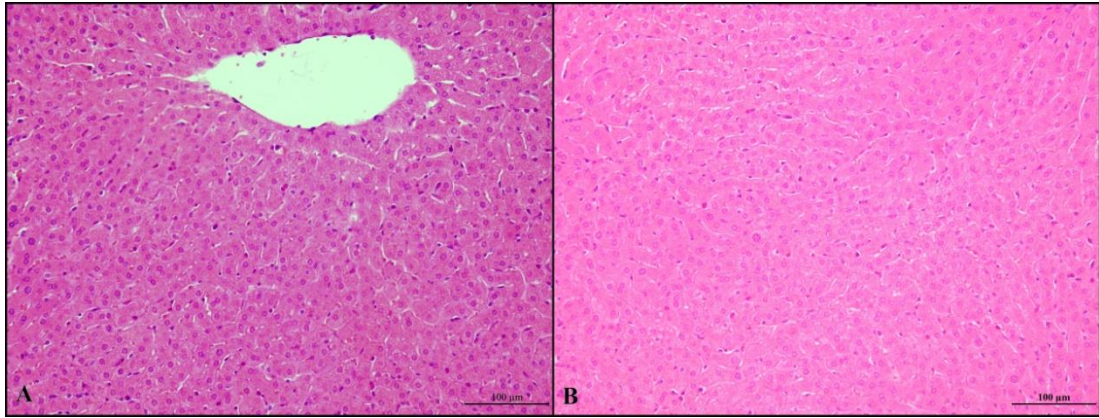
Resim 20: YKD-K grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin makroskopik görünümü

4.7. Histopatoloji Bulguları

Normal diyet grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin histopatolojik incelemelerinde; normal karaciğer yapısında oldukları görüldü (Şekil 66). Normal diyet+thymol grubundaki ve normal diyet+kekik yağı grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin histopatolojik görünümünde ise normal diyet grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin histopatolojik görünümü ile aynı olup patolojik bir lezyon gözlenmedi ve normal yapıda oldukları görüldü (Şekil 67).

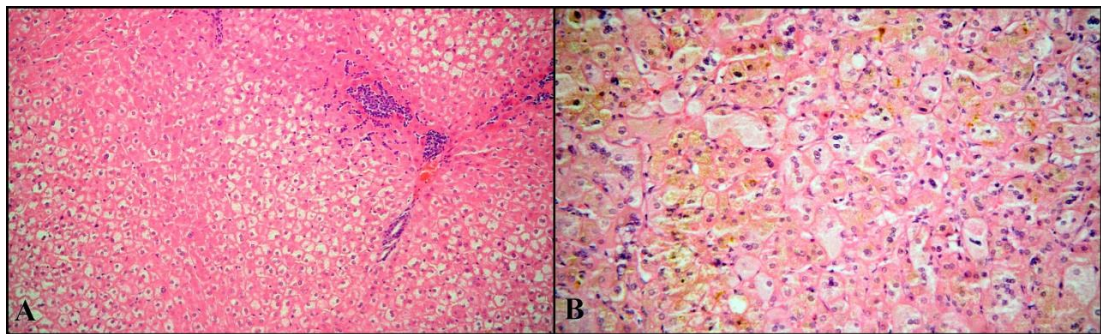


Şekil 66: Normal diyet grubu hayvanların karaciğerlerin histopatolojik görünümü

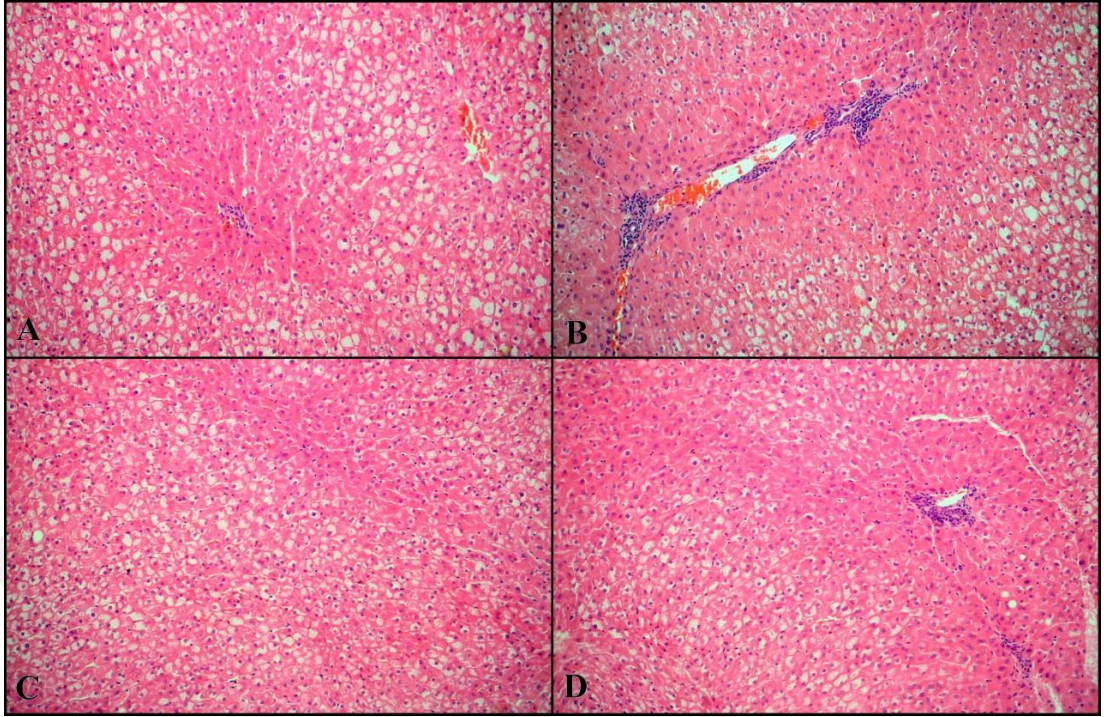


Şekil 67: (A): Normal Diyet +Thymol (ND+T) ve (B): Normal Diyet+Kekik Yağı (ND+K) grubundaki tavşanların karaciğerlerinin histopatolojik görünüşleri

YKD: Yüksek kolesterol diyeti grubu hayvanların karaciğerlerin histopatolojik görünümünde balonumsu dejenerasyon, yağ vakuelleri görüldü (Şekil 68A), ayrıca hepatositlerde hemosiderin pigmenti, portal bölgelerde lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyonları ile kupffer hücrelerinde sayıca artış dikkati çekti (Şekil 68B). Yüksek kolesterol diyeti+thymol (Şekil 69AB), yüksek kolesterol diyeti+kekik yağı (Şekil 69CD) gruplarının karaciğer kesitlerinde mikroskopik olarak balonumsu dejenerasyon ve kısmen azalmış yağ vakuelleri görüldü. Ayrıca portal bölgelerde lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyonları ile kupffer hücrelerinde sayıca artış dikkati çekti. YKD grubuna göre YKD+T ve YKD+K gruplarında karaciğerde görülen bulguların şiddetinde değişiklik gözlenmedi.



Şekil 68: (A,B) Yüksek Kolesterol Diyet (YKD) grubu hayvanların karaciğerlerin histopatolojik görünümü



Şekil 69: (A,B): Yüksek Kolesterol+Thymol (YKD+T) ve (C,D): Yüksek Kolesterol+Kekik Yağı (YKD+K) grubundaki tavşanlara ait karaciğerlerin histopatolojik görünümleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, karaciğer yağlanması insan ve hayvan fenotipinin; hipertrigliseridemi, hiperglisemi, dislipidemi ve artmış visseral adipoz doku kütlesi gibi temel klinik özelliklerini kapsayan bir hepatik lipidozis hayvan modeli oluşturuldu. Yüksek kolesterol diyeti ile indüklenen hepatik lipidozis hayvan modelinde, yukarıda belirtilen patolojilerin önlenmesinde ve tedavi edilmesinde kekik yağı ve thymol'ün etkileri değerlendirildi. Ayrıca, bu iki farklı uygulamanın immun sistem üzerindeki etkileri ve hepatik lipidozis ile immun sistem arasındaki ilişki, sitokin ve gen ifadesi düzeyinde araştırıldı.

Vücudun ana detoksifiye edici organı olarak karaciğer metabolik homeostazda merkezi bir rol oynamaktadır. Protein, lipid ve karbonhidratların sentezi, metabolizması, depolanması ve yeniden dağıtılması gibi önemli fonksiyonlara sahiptir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH); hepatositler içindeki lipid birikimi ile karakterize edilir ve Non-alkolik steatohepatitise (NASH) kadar ilerleyebilir (Bechmann ve ark., 2012). Hepatik lipidozisin patogenetik etkileri deney hayvanlarında farklı diyet tipleri ile araştırılmış ve patofizyolojik mekanizmalar ile immun sistem arasındaki bağlantıya dikkat çekilmiştir (Filippi ve ark., 2009; Morelli ve ark., 2013; Lozano ve ark., 2019). Metabolik faaliyetlerin yürütüldüğü organ olan karaciğer, metabolik homeostazda merkezi bir rol oynamaktadır ve protein, lipid ve karbonhidratların sentezi, metabolizması, depolanması ve yeniden dağıtılması gibi önemli fonksiyonlara sahiptir (Sakka, 2007). Oluşturulan hepatik lipidozis modellerinde, aşırı lipid alımı ve karaciğer fonksiyonlarında bozulma nedeniyle yağlanma, hepatoselüler hasar ve yangısal hücre infiltrasyonları meydana gelebilmektedir (Yang ve ark., 2010; Bechmann ve ark., 2012). Sunulan bu tez çalışmasında; karaciğer yağlanması, karaciğerin histopatolojik muayenesi

(Şekil 68 A,B) ve lipit profil testleri (Tablo 12,13,14) ile doğrulandı. Ayrıca, nekropsi sonrası visseral adipoz dokudaki artış, karaciğerin makroskopik bulgularında; sarımtırak renk değişimlerinin, hacimce artışın, kenarlardaki kütleşmenin, bazı tavşanlarda karaciğerin diyaframa yapıştığı görüldü ve histopatoloji bulgularında; balonumsu dejenerasyon, yağ vakuollerinin görülmesi, hepatositlerde hemosiderin pigmentinin görülmesi, portal bölgelerde lenfosit zengin mononükleer hücre infiltrasyonu ve kupfer hücrelerinde sayıca artışın görülmesi ile hepatik lipidozis doğrulandı.

Diyetteki yüksek kolesterol içeriği ve aşırı kolesterol alımına bağlı aşırı kolesterol yüklenmesi, karaciğer X reseptör-a (LXRa) ekspresyonunu upregüle ederek *de novo* lipogenezi uyarmakta ve sterol düzenleyici eleman bağlayıcı protein-1c (SREBP-1c) yolunda bir metabolit olan oksisterol seviyesini artırarak yağ asidi sentezini aktive etmektedir (Nakamuta ve ark., 2008; Enjoji ve ark., 2012; McCarthy ve ark., 2012; Pagadala ve ark., 2012). LXRa ekspresyon seviyelerinin, obez olmayan NAYKH'da obez NAYKH ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğu ifade edilmektedir (Nakamuta ve ark., 2008; Enjoji ve ark., 2012). Yüksek kolesterol alımı; toplam kalori alımı aşırı olmasa bile obez olmayan non-alkolik karaciğer yağlanmasına neden olmaktadır (Kim ve Kim, 2016). Bu tez çalışmasında da içeriği Tablo 2'de verilen standart tavşan yemine % 1 oranında (ağırlık/ağırlık) kolesterol ilave ederek yüksek kolesterol diyeti oluşturuldu ve bu diyet 11 hafta süreyle tavşanlarda karaciğer yağlanması oluşturmak ve nihâi vücut ağırlıklarını optimize etmek amacıyla günlük 100 gr olacak şekilde verildi. Normal diyet grubundaki tavşanların kolesterol düzeyleri incelendiğinde, normal diyetle beslenen tavşanlarda kolesterol düzeylerinin ortalama 58.67 ± 9.81 mg/dl olduğu görüldü. Yüksek kolesterol diyet grubundaki tavşanlarda ise kolesterol düzeylerinin ortalama 1522.71 ± 995.07 mg/dl olduğu ve normal diyet grubundan anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$). Çalışmada diyete % 1 oranında (ağırlık/ağırlık) kolesterol ilavesinin; serum yüksek kolesterol seviyeleri, karaciğerin makroskopik ve histopatoloji bulguları ile beraber değerlendirildiğinde non-alkolik karaciğer yağlanmasına (hepatik lipidozise) sebep olduğu görüldü. Diyetteki kolesterol oranının % 1 (ağırlık/ağırlık) olması, hepatik lipidozisin klinik tezahürünün kısa zamanda görülebilmesi açısından iyi olmasına karşın, tavşanların alışıktıkları pelet yemin bileşiminde ve tadında değişikliğe sebep olduğundan, günlük yem alımında azalmaya sebep olabileceği ifade edilmektedir (Lozano ve ark., 2019).

Hiperkolesterolemik diyetle beslenen tavşanlarda lipit profili, antioksidan kapasite ve PPAR gen ekspresyonu üzerine keten tohumunun etkisinin araştırıldığı benzer bir çalışmada; 8. hafta sonunda canlı ağırlıkların, günlük besin alımının, total ağırlık kazancının ve yem değerlendirme oranının normal diyetle beslenen tavşanlardan düşük olduğu ifade edilmektedir (Sebaei ve ark., 2019). Mevcut tez çalışmasında diyet bütün gruplarda 100 gr/gün ve su ise *ad libitum* olarak verildi. Normal diyetle beslenen tavşanlar, diyetin neredeyse tamamını bitirebilmesine karşın, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların verilen yemi bitiremediği görüldü. Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların bazal seviyeye ve normal diyet grubuna kıyasla canlı ağırlıklarında azalma görüldü. Bu duruma, diyetin kolesterol içeriğinin yüksek olmasına bağlı olarak, pelet yemin tadındaki değişikliğin ve lipide miye bağlı olarak lipitlerin karaciğerde oluşturduğu lipotoksik etkiden kaynaklı oksidatif stresin neden olabileceği iddia edilebilir. Çünkü serbest oksijen radikalleri (SOR) hücre membran lipitlerini oksidasyona uğratarak lipitlerden malondialdehid (MDA) gibi toksik ürünlerin meydana gelmesini sağlamaktadır. SOR'lar hücre membran yağ asitleri üzerine etki ederek lipit peroksidasyonunu (LPO) başlatırlar (Süleyman ve ark., 2018). Artmış lipit peroksidasyonunun oksidatif stres, hepatositlerde yüksek reaktif oksijen türü üretimi, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamasyona sebep olarak lipotoksik etki gösterdiği bilinmektedir (Kim ve ark., 2014). LPO sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenler malondialdehitlerdir (Süleyman ve ark., 2018). MDA'ların hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, membranların iyon alışverişine etki ederek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca MDA düzeylerindeki artışın serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan aktiviteyi azalttığı, bunun neticesinde antioksidanlar ile serbest radikaller arasındaki dengenin bozulmasına neden olduğu bilinmektedir (Erçin ve ark., 2019).

Bu tez çalışmasında; trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinin, %1 kolesterol ilave edilmiş diyet ile beslenen tavşanlardan alınan kan örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$). Thymol ve kekik yağının hipertrigliseridemi ve hiperkolesteroleminin düzeltilmesinde etkisinin olmadığı, aksine yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlara thymol ve kekik yağı verilmesinin trigliserid düzeylerini arttırdığı görüldü. Bu artış, kekik yağı

verilen yüksek kolesterol grubundaki tavşanlarda daha da yüksekti. Kekik yağı verilen gruplarda trigliserid ve kolesterol düzeylerinin yüksek olmasının sebebi; kekik yağının yapısında lipid bileşenlerini ihtiva etmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Vignozzi ve ark. (2012), tavşanlarda yüksek yağlı diyetin normal diyetle beslenenlere ve bazal seviyeye kıyasla total kolesterol ve trigliserid konsantrasyonlarında artışa sebep olabileceğini ifade etmektedir.

Mevcut çalışmada, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen ve thymol ve kekik yağı verilen tavşanlarda gruplar arası ve zamana göre belirlenen trigliserid ve kolesterol düzeylerindeki yüksek değerlerin; Kainuma ve ark. (2006), Lozano ve ark. (2019), tarafından kolesterol ve yağ verilerek oluşturulan hepatik lipidozis modellerindeki çalışmaların sonuçları ile benzer olduğu görüldü. Kainuma ve ark. (2006), tavşanlar üzerinde %1 kolesterol ilave edilmiş yüksek kolesterol diyeti ile oluşturdukları non-obeze hepatik lipidozis modelinde; yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların total kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol seviyelerinin normal diyet grubundan anlamlı derecede yüksek olduğunu ifade etmektedirler. Aynı şekilde; Morelli ve ark. (2013), diyetle % 0.5 kolesterol ve % 4 yer fıstığı yağı ile beslenen yüksek kolesterol grubundaki tavşanların 12. hafta sonunda nihai kolesterol ve trigliserid konsantrasyonlarının, çalışmanın başlangıcındaki ölçümlerden ve normal diyetle beslenen tavşanlardan, istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek olduğunu ifade etmektedirler.

Bu tez çalışmasında dikkat çeken sonuçlardan bir diğeri de, total kolesterol düzeylerindeki artışla birlikte HDL-kolesterol düzeylerinin yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda yüksek olmasıydı. Çalışmada; hem LDL hemde HDL-kolesterol düzeylerinin YKD gruplarında artışı görüldü (Tablo 13,14). Dolayısıyla, bu gruplarda total kolesterol düzeylerinin artışı doğal bir sonuçtur. Kolesterol düzeylerindeki artışın daha çok HDL-kolesteroldeki artışa bağlanabileceği, çünkü tavşanlarda en çok bulunan lipoprotein çeşidinin HDL olduğu bildirilmektedir (Lozano ve ark., 2019). Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen gruplarda HDL-kolesterol düzeylerinin kekik yağı ve thymol ile önemli oranda arttığı, kekik yağı ve thymol'ün dolayısıyla karaciğerde metabolize edilecek HDL-kolesterol düzeyini arttırarak olumlu yönde etkisinin olduğuna karar verildi. Bununla birlikte 11. hafta sonunda thymol ve kekik yağının bazal seviyeye göre HDL-kolesterol düzeylerini artırdığı görüldü. Kim ve ark. (2014), tarafından yüksek

kolesterol diyeti ile indüklenmiş non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı ve aterosklerozis çalışmasında da yüksek kolesterol diyet gruplarının total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol seviyelerinin normal diyet gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmektedir. Sağlıklı ve hiperkolesterolemik tavşanlarda D vitaminin oksidatif stres üzerindeki etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada; yüksek kolesterol (% 0.5 kolesterol) diyeti ile beslenen tavşanların 8. hafta sonunda total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol konsantrasyonlarının normal diyetle beslenen tavşanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu ifade edilmektedir (Kocabaş ve Aköz, 2018). Kim ve ark. (2014), Kocabaş ve Aköz (2018), tarafından yapılan çalışmaların sonuçları yüksek kolesterol diyeti verdiğimiz gruptaki artışlarla örtüşmektedir.

Bu tez çalışmasında, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda, 8 ve 11. hafta sonunda thymol ve kekik yağı uygulamalarının yüksek LDL-kolesterol düzeylerinin düşürülmesinde etkisinin olmadığı görüldü. Yüksek olan LDL-kolesterolün damarların duvarında birikmeye ve kalınlaşmaya neden olduğu bilinmektedir (Tanrıverdi ve Savaş Tetik, 2017). Böylece, damarın beslediği organa ihtiyaç duyulan oksijen daha az gitmektedir. Oksijen alamayan dokulardaki hücrelerde buna bağlı işlev bozuklukları ve hücre ölümleri görülmekte ve klinik bulgular, beslenmesi bozulan organa göre değişkenlik göstermektedir. Kalp koroner damarlarında tıkanıklık kalp krizine, beyin damarlarındaki tıkanıklık felçlere, böbrek damarlarındaki tıkanıklık böbrek yetmezliğine ve ayak damarlarındaki tıkanıklık ise gangrene neden olmaktadır. Bazen de ani ölümler görülebilmektedir (Lozano ve ark., 2019). Kalp ve dolaşım sistemine ait bir histopatolojik değerlendirme yapılmamasına rağmen bu tez çalışmasında da yüksek kolesterol diyeti ile beslenen grupta yukarıda bahsedilen bulguları destekleyebilecek nitelikte 2 adet ani ölüm görüldü. Bu ölümlerin kalp koroner damarlarındaki tıkanıklara bağlı olabileceği düşünüldü.

Sunulan bu tez çalışmasında, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların AST konsantrasyonları, normal diyet grubundaki tavşanlardan istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yüksek bulundu ($p > 0.05$). ALT konsantrasyonları açısından da normal diyet grubu ile yüksek kolesterol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$). NAYKH'li hastalarda ALT düzeyinin yüksek olması beklenen bir sonuç olmasına rağmen bazı hastalarda serum ALT seviyesinin normal olduğunu gösteren sonuçlar da vardır. Amerika'da yapılan bir

çalışmada, yağlı karaciğere sahip yetişkinlerin % 79'unun normal aminotransferaz seviyesine sahip olduğu ifade edilmektedir (Hadizadeh ve ark., 2017). İnflamasyonla ilişkili olarak transferrin, albumin, retinol bağlayıcı protein (RBP) ve apolipoproteinler gibi negatif akut faz reaktantların sentezinde bir azalma ve kayma meydana gelmektedir (Bossaert ve ark., 2012). Bu tez çalışmasında, yüksek kolesterol grubundaki tavşanların 4 ve 8. hafta albumin konsantrasyonlarının ise normal diyet grubundaki tavşanlardan anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. Son çalışmalar, albumin fonksiyonundaki bozulmanın non-alkolik karaciğer yağlanması, viral hepatitis, siroz ve karaciğer yetmezliği ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Birçok biyomarkır erken karaciğer hasarının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen bu sonuçlar tatmin edici değildir. Son çalışmalarda albumin konsantrasyonundaki azalmanın, karaciğer fonksiyonundaki erken bozulmanın yeni bir biyomarkırı olabileceği ifade edilmektedir. Albumin disfonksiyonu, diğer konvansiyonel indikatörlerden daha erken meydana gelmektedir (Sun ve ark., 2019). Kim ve ark. (2014), tarafından yapılan yüksek kolesterol diyeti ile indüklenmiş non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı ve aterosklerozis çalışmasında, yüksek kolesterol diyet grupları ile normal diyet grupları arasında albumin ve ALT değişkeni açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark olmadığı, yüksek kolesterol diyet gruplarının AST konsantrasyonlarının ise normal diyetle beslenen gruplardan anlamlı derecede yüksek olduğu ifade edilmektedir. Lin ve ark. (2011) ve Kainuma ve ark. (2006), tarafından yapılan çalışmalarda, yüksek kolesterol diyeti (% 2 kolesterol) ile beslenen tavşanların 5. hafta sonunda ALT, AST değişkenleri açısından normal diyetle beslenenlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark olmadığı ifade edilmektedir. Bu tez çalışmasından elde edilen veriler, kolesterol ve kekik yağı verilmesine bağlı düşük albumin düzeyleri nedeniyle karaciğer disfonksiyonunun değerlendirilmesinde albuminin konvansiyonel indikatörlerden (ALT, AST) daha hassas olduğunu ve erken hepatik hasarın değerlendirilmesinde kullanılabileceği görüşünü destekler niteliktedir. Bununla birlikte thymol verilen grupta albumin düzeylerinin etkilenmediği, dolayısıyla thymol'ün potansiyel hepatik hasarı önleyebileceği ileri sürülebilir (Şekil 26, 27).

Bu tez çalışmasında 11. haftada yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların glukoz düzeyleri normal diyetle beslenen tavşanlardan ve bazal seviyeden anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,05$). Bu duruma, insülin direncinin sebep olabileceği

düşünülmektedir. İnsülin direncinde, karaciğerden glukoz üretiminin insülinle baskılanmasında bozulma meydana gelmektedir. İnsülin direncini kompanze etmek amacıyla, insülin salgısında artış olmakta ve hedef dokuların insüline yanıt vermemesi nedeniyle hiperglisemi tablosu ortaya çıkmaktadır (Dik ve Baş, 2013). Ayrıca, serbest yağ asitleri, insülin sinyal üretiminde önemli rolü olan IRS-1'in serin fosforilasyonuna neden olarak insülinin etkisini inhibe etmektedir. Proinflamatuvar sitokinlerin adipoz dokuda üretimi ve dolaşımdaki miktarı, bozulmuş glukoz toleransı ve insülin direncindeki artışla birlikte artarken, kilo kaybıyla birlikte azalmaktadır. Bu proinflamatuvar sitokinler, glikojen sentazı inhibe ederek periferde insülinin etkisini azaltıp, indirekt olarak insülin üretimini artırmaktadır. Ayrıca, adrenal korteksin uyarılması ile ACTH ve kortizol salınmasını artırarak, açlık kan glukozunun yükselmesine neden olmaktadır (Bechmann ve ark., 2012; Dik ve Baş, 2013). Filippi ve ark. (2009), tarafından yapılan çalışmada 12 hafta boyunca yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların, bazal ya da 12. haftada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma glukoz düzeylerinin yüksek olduğu ifade edilmektedir. Morelli ve ark. (2013), diyetlerinde % 0.5 kolesterol ve % 4 yer fıstığı yağı ile beslenen yüksek kolesterol grubundaki tavşanların 12. hafta sonunda glukoz konsantrasyonlarının normal diyetle beslenen tavşanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu ve 12. hafta glukoz konsantrasyonlarının çalışmanın başlangıcındaki değerlerden de anlamlı derecede yüksek olduğunu ifade etmektedir. Vignozzi ve ark. (2012) da, 12. haftada yüksek yağlı diyetle beslenen tavşanların glukoz düzeylerinin normal diyetle beslenen tavşanlardan anlamlı düzeyde yüksek olduğunu ifade etmektedir. Bu tez çalışmasının glukoz sonuçları; Morelli ve ark. (2013), Filippi ve ark. (2009), Vignozzi ve ark. (2012)'nin, yaptıkları çalışmaların sonuçları ile uyumlu bulundu.

İnflamasyon, lökositlerden TNF- α ve IL-1 β ve IL-6'nın salınımını uyarmaktadır. Sonuçta, haptoglobin, seruloplazmin ve serum amyloid-A'yı kapsayan pozitif akut faz reaktantlarının hepatik sentezini aktive ederek akut faz yanıtını tetiklemektedir (Bossaert ve ark., 2012). Bu tez çalışmasında, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β düzeyleri, bazal seviyeye göre zamanla arttığı, fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmamak kaydıyla sayısal bir artış olduğu görüldü ($p > 0,05$). Bu duruma, normal diyetle beslenenlere kıyasla yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların canlı ağırlıklarındaki azalmanın sebep olduğu düşünülmektedir.

Buna paralel olarak, CRP düzeylerinin 4. haftada bazal seviyeye göre arttığı sonraki haftalarda ise zamanla azaldığı görüldü. Lökositler, koagülasyon faktörleri {fibrinojen ve plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1)}, akut faz proteinleri (CRP ve SAA), proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) ve kemokinlerin plazma seviyeleri, metabolik sendromlu hastalarda yüksek olduğu bilinmektedir. Birçok çalışma açıkça göstermektedir ki; adipoz doku, karaciğer, kas ve pankreas MetS varlığında inflamasyon bölgesidir. Bu dokular içine makrofajların infiltrasyonu, Tip 2 diyabetli ve metabolik sendromlu obez bireylerin yanısıra, hepatik lipidozis hayvan modellerinde de görülmektedir. Bu hücreler, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesi için hayati öneme sahiptirler (Esser ve ark., 2014). Bu tez çalışmasında da, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda, IL-1 β düzeyleri 4, 8 ve 11. haftalarda giderek artan oranda bazal seviyeye kıyasla yüksek bulundu. Canlı ağırlıktaki azalmaya rağmen IL-1 β düzeylerindeki bu artış karaciğerdeki inflamasyonun şiddetini göstermektedir. Çünkü kilo verilmesiyle inflamatuvar yanıtın azaltılabileceği, dolayısıyla TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin plazma seviyelerinin düşebileceği ifade edilmektedir (Şişman ve ark., 2007).

CRP, doku yaralanmasına veya oksidatif strese karşı inflamatuvar yanıt sırasında belirgin şekilde artmaktadır (Sevgisunar ve ark., 2014). Karaciğerdeki yağlanma, hepatositler üzerinde lipotoksik etki meydana getirerek yangısal sürecin başlamasına ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımıyla CRP konsantrasyonunda yükselmeye sebep olduğu bilinmektedir (Şişman ve ark., 2007). Sunulan bu tez çalışmasının 4. haftasında, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların CRP konsantrasyonu, normal diyetle beslenen tavşanlardan yüksek bulundu. CRP konsantrasyonundaki artışın sebebi, karaciğerde lipidlerin oluşturduğu yangısal süreçten kaynaklanmaktadır. CRP, bir infeksiyon ya da inflamasyon belirtici olmasının yanı sıra, çok geniş biyolojik özelliğe ve işleve sahiptir. CRP, diyabet ve metabolik sendromda, klinik olarak prognostik bilgiler vermektedir (Şişman ve ark., 2007). Yapılan bir çalışmada serum CRP düzeylerinin ve IL-6 gen ekspresyonunun T3 (thymol, 3 mg/kg/gün) ve T6 (thymol, 6mg/kg/gün) gruplarında anlamlı olarak azaldığı ifade edilmektedir (Yu ve ark., 2016). Bu sonuçlar thymol'ün IL-6 salınımını azaltma ve karaciğerde CRP sentezini düşürme yeteneği ile antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Haeseler ve ark., 2002; Yu ve ark., 2016). Bu tez çalışmasında, thymol ve kekik yağının ise yüksek kolesterol grubundaki tavşanlarda CRP konsantrasyonunu artırdığı görüldü. Bu artış kekik yağı

grubunda 8 ve 11. haftalarda da devam etti. Ortalama CRP konsantrasyonlarındaki artışın sebebi ise, bu haftalarda yükselen trigliserid ve kolesterol seviyelerine bağlı olarak karaciğerdeki aşırı trigliserid birikimidir. Kekik yağı alan gruplardaki artışa, kekik yağının yapısındaki lipid bileşenlerinin de sebep olabileceği düşünülmektedir. 4. haftada yükselen CRP konsantrasyonunun, 8 ve 11. haftalarda düşmeye başlamasının nedeninin bu haftalarda yağın kronik bir hal almasından ve canlı ağırlıktaki azalmadan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Şişman ve ark., 2007).

Sunulan bu çalışmada, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların proinflamatuvar sitokinlerden IL-6 düzeylerinin bazal seviyeye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmamak kaydıyla zamanla çok az miktarda arttığı görüldü. Bu duruma normal diyet grubuna kıyasla yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda canlı ağırlıklarındaki azalmanın sebep olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca normal diyetle beslenen tavşanlarda, TNF- α düzeylerinde ise adipoz doku artışının bir sonucu olarak zamanla arttığı görüldü. Yüksek kolesterol diyeti ile oluşturulan non-obez hepatik lipidozis modelinde, canlı ağırlıktaki azalmanın, TNF- α düzeylerini azalttığı görüldü. Bu duruma paralel olarak, CRP düzeylerinin bazal seviyeye kıyasla 4. haftada arttığı ve sonraki haftalarda azalmaya başladığı görüldü. Obezitede, CRP düzeylerindeki artışa adipoz dokudan salgılanan IL-6'nın sebep olduğu ileri sürülmektedir. CRP, öncelikle karaciğerden sentezlenir ve salgılanması, IL-6 ve diğer proinflamatuvar sitokinler tarafından uyarılır. Dolayısıyla, kilo kaybı ile inflamatuvar yanıtın azaltılabileceği ifade edilmektedir (Şişman ve ark., 2007).

Bu tez çalışmasında, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α düzeylerinin bazal seviyeye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmamak kaydıyla zamanla azaldığı görüldü. Bu duruma, normal diyet grubuna kıyasla yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda canlı ağırlıklarındaki azalmanın sebep olabileceği düşünülmektedir (Şişman ve ark., 2007). Ayrıca, CRP düzeylerinin de bazal seviyeye kıyasla zamanla azaldığı görüldü. Yine, normal diyetle beslenen tavşanlarda TNF- α düzeyleri, adipoz doku artışının bir sonucu olarak zamanla arttığı görüldü. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanların serum total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ve CRP konsantrasyonlarının normal diyetle beslenen tavşanlardan anlamlı düzeyde yüksek bulunduğu ifade edilmektedir (Mathapati ve ark., 2010). Bu tez çalışmasında da, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen

tavşanlarda lipit profili ve CRP konsantrasyonu, normal diyetle beslenen tavşanlardan yüksek bulundu. Hem normal diyetle beslenen, hem de yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda, kekik yağı ve thymol uygulamasının TNF- α düzeylerini azalttığı görüldü. Bu etkiye, kekik ve thymol'ün antiinflamatuvar özelliğinin sebep olabileceği düşünülmektedir (Haeseler ve ark., 2002; Amirghofran ve ark., 2012; Fachini-Queiroz ve ark., 2012; Khosravi ve Erle, 2016; Kovács ve ark., 2016;). Kekik uygulaması, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini arttırıp, MDA düzeylerini baskılamaktadır. Dolayısıyla kekik; üretilen serbest radikallerin (O_2 , OH ve H_2O_2) aktivitesini bastırmaktadır. *Thymus vulgaris* uygulamasına cevap olarak IgG, IgA, IgM antikorlarında artmış görülmektedir. Bu sonuç, *Thymus vulgaris* uygulamasının spesifik antikorlar üretmek için B-hücrelerini uyarma kabiliyetine sahip olduğunu doğrulamaktadır. Hücre spesifik bağışıklık antikorların üretilmesini içerdiğinden, patojenleri öldürmeye yol açan inflamatuvar yanıtın teşvik edilmesini sağlamaktadır. Kekik'in doğal antioksidan aktiviteyi geliştirebileceği ve yiyeceklere kekik ilave edilmesinin lipid ve kolesterol seviyelerini düşürebileceği ve sağlık durumunu iyileştirebileceği ifade edilmektedir (Abdel ve Sayed, 2016). Bu tez çalışmasında kekik yağı ve thymol verilen tavşanlarda TNF- α düzeylerindeki azalmaya, kekik ve thymol'ün antiinflamatuvar özelliğinin sebep olduğu düşünüldü (Haeseler ve ark., 2002; Khosravi ve Erle, 2016).

Hotamışlıgil ve ark. (1995), obez bireylerde adipoz dokuda TNF- α 'nın üretimini, artmış ekspresyonunu ve obezite kaynaklı insülin direncinde direk rol oynadığını göstermişlerdir. Bu tez çalışmasında oluşturduğumuz non-obez hepatik lipidozis modelinde, yalnız YKD ile beslenen tavşanlarda TNF- α düzeyleri; 4, 8 ve 11. haftalarda kontrol grubuna göre düşük bulundu (Tablo 22). Kontrol grubundaki tavşanlarda ise canlı ağırlıkta ki artışa bağlı olarak TNF- α düzeylerinin zamanla arttığı görüldü. Bu sonuçlar; Hotamışlıgil ve ark.'nın (1995), çalışmalarında ifade ettikleri TNF- α 'nın üretiminin artmasının obeziteyle ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir.

Önemli bir interferon olan IFN γ ; T yardımcı hücreleri (spesifik olarak, T_H1), sitotoksik T hücreleri (T_C), makrofajlar, mukozal epitel hücreleri ve NK hücreleri tarafından salgılanmaktadır. IFN γ viral, bazı bakteriyel ve protozoal enfeksiyonlara karşı doğal ve adaptif bağışıklık için kritik olan bir sitokindir. IFN γ makrofajların önemli bir aktivatörü ve Sınıf II MHC kompleks molekül ifadesinin indükleyicisidir (Schoenborn ve Wilson, 2007). Bu tez çalışmasında, karaciğerde antiviral, immüno-regülatör ve antitümöral

özelliklere sahip INF γ geninin, yüksek kolesterolle beslenen tavşanlarda mRNA ekspresyonunun, normal diyet grubundan anlamlı derecede düşük olduğu ($p < 0,05$) ve bazal seviyenin altında olduğu görüldü. INF γ geni, knockout farelere metiyonin ve kolinden fakir yüksek yağlı diyet verilerek oluşturulan steatohepatit modelinde inflamatuvar sitokin genlerin (IL-4, INF γ , TNF- α , TGF- β , iNOS, OPN) baskılandığı, aynı diyetle beslenen yabani tip farelerin ise karaciğer dokusunda IFN- γ geninin mRNA ekspresyon seviyesinin arttığı ifade edilmektedir (Luo ve ark., 2013). Bu tez çalışmasında da, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda, IL-4 geninin mRNA ekspresyonunun baskılandığı görüldü (Tablo 23). Ayrıca, IFN- γ genindeki baskılanma, inflamasyonla ilişkili doku hasarının sınırlanmasında etkisiz kalarak, karaciğerdeki lezyonların şiddetinin artmasına sebep olduğu görüldü (Şekil 68 A,B). Bu çalışmada oluşturulan modelin non-obez bir model olması ve plazma yüksek kolesterol seviyelerine bağlı olarak oluşan lipotoksisteden kaynaklı stres durumu, bu genin ifade edilmesini baskılamış olabilir. Yüksek yağlı diyetle oluşturulan obezite modelinde, Th1 hücreleri, hem subkutan hem de viseral yağ dokusunda kontrol diyetiyle beslenen farelere kıyasla bol miktarda bulunduğu ifade edilmektedir (Van Herck ve ark., 2019). Bu tez çalışmasında normal diyet gruplarında thymol ve kekik yağı uygulamalarının INF γ geninin ekspresyonunu down regüle ettiği görüldü. Bu etkiye, thymol ve kekik yağı uygulamalarının antiinflamatuvar özellikleri sayesinde, karaciğer hücreleri üzerinde koruyucu etki göstererek ve makrofaj hücrelerinin inflamatuvar yanıtını inhibe ederek sebep olabileceği düşünülmektedir. Lenfositlerde INF γ üretimi, sitokinler tarafından (özellikle IL-12 ve IL-18), patern tanıma reseptörlerinin (PRR) aktivasyonun ardından yada mikrobiyal enfeksiyon veya doku hasarı sırasında geniş ölçüde reaktif antijen reseptörlerinin kullanılmasıyla indüklenebilir. IFN γ 'nın inflamasyonla ilişkili doku hasarını sınırlamadaki homeostatik rolü bilinmektedir. IFN γ nötrofiller gibi dokuya zarar veren hücrelerin infiltrasyonunun azaltılması ile TH17 hücre farklılaşmasını baskılamaktadır. Bu tür bir antagonizma, bu sitokinlerin aşırı etkisiyle tahrik edilen fibrotik tepkileri baskılayarak faydalı olabilir (Ivashkiv, 2018). Bu sonuçlar, kekik yağı ve thymol'ün inflamatuvar genleri down regüle ederek, karaciğerde inflamasyonla ilişkili doku hasarını sınırlamadaki homeostatik rolünü desteklemektedir.

Sunulan bu çalışmada, karaciğerde IL-4 geninin normal diyet grubundaki mRNA ekspresyon seviyelerinin, yüksek kolesterol diyet gruplarından anlamlı derecede yüksek

olduğu ($p < 0,05$) ve yüksek kolesterol gruplarında gen baskılanmasının çok güçlü olduğu görüldü. İnterlökin 4 (IL-4); doğal yardımcı T hücrelerinin (Th0 hücreleri) Th2 hücrelerine farklılaşmasını indükleyen bir sitokindir. IL-4 ile aktive edilmiş Th2 hücreleri, daha sonra pozitif bir geri besleme döngüsüyle ilave IL-4 üretmektedirler (Hershey ve ark., 1997). İnterlökin 4; aktif B ve T hücresi çoğalmasının uyarılması ve B hücrelerinin plazma hücrelerine farklılaştırılması dâhil olmak üzere birçok biyolojik role sahiptir. Humoral ve adaptif bağışıklıkta kilit bir düzenleyicidir. IL-4; B hücresi sınıfının IgE'ye geçişini uyarır ve MHC sınıf II üretimini artırır. IL-4; Th1 hücreleri, makrofajlar, IFN γ ve dendritik hücre üretimini azaltmaktadır. Doku makrofajları, kronik iltihaplanma ve yara onarımında önemli bir rol oynar. Ekstravasküler dokularda IL-4'ün varlığı, makrofajların M2 hücrelerine alternatif aktivasyonunu teşvik eder ve makrofajların M1 hücrelerine klasik aktivasyonunu inhibe eder. Onarım makrofajlarındaki (M2) bir artış, IL-10 ve TGF-secret salgılanmasıyla birleşir ve bu da patolojik inflamasyonun azalmasına yol açar (Hershey ve ark., 1997). Bu tez çalışmasında, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda IL-4 mRNA ekspresyon düzeyi normal deneklere göre önemli ölçüde azalırken, IL-10 mRNA ekspresyon düzeyinin bu çalışmada değişmediği görüldü. NAFLD hastalarında, proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-6 düzeylerinde artış görülürken, anti-inflamatuvar sitokinlerden IL-4 seviyesinin azaldığı ve IL-10 seviyesinin değişmeden kaldığı ifade edilmektedir (Das ve Balakrishnan, 2011). Bu nedenle, IL-4 NAFLD'de pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin değiştirilmesinden sorumlu olabilir. Bu tez çalışmasında, thymol ve kekik yağı uygulamalarıyla IL-4 gen ifadesinin artırıldığı görüldü. Thymol ve kekik yağı uygulamalarının Th1 hücreleri, makrofajlar, IFN-gama, dendritik hücre üretimini ve patolojik inflamasyonu azaltıp, antiinflamatuvar özellikleri sayesinde karaciğer hücreleri üzerinde koruyucu etki göstererek IL 4 mRNA ekspresyonunu uyardığı görüldü. Yüksek kolesterol gruplarında, gen baskılanmasının çok güçlü olduğu, thymol ve kekik yağı uygulamalarının IL-4 geninin mRNA ekspresyonunu upregüle ederek patolojik inflamasyonun azalmasına sebep olduğu görüldü. Dolayısıyla, thymol ve kekik yağı verilerek T ve B hücre çoğalması sağlanabilir.

Mevcut çalışmada, thymol tedavisinin hem normal diyet hem de yüksek kolesterol diyeti alan tavşanlarda Tbet geninin mRNA ekspresyonunu artırdığı görüldü ($p > 0.05$). Kekik yağının ise normal diyetle beslenen tavşanlarda Tbet geninin mRNA ekspresyonunu

artırdığı ($p < 0.05$), yüksek kolesterol diyeti alan tavşanlarda ise ekspresyonu down regüle ettiği görüldü ($p > 0.05$). T-hücreleri ve kupffer hücreleri, NAYKH'deki inflamatuvar lezyonların ana bileşenleridir ve kupffer hücreleri IL-1, IL-6, TNF- α , IL-12 ve IL-18 gibi proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakabilir. Kupffer hücreleri, hepatositler ile birlikte antijen sunan hücreler (APC'ler) olarak işlev gösterme yetenekleriyle, T hücrelerinin immünoregülasyonuna katılmaktadır (Sheng ve ark., 2011). Sunulan bu tez çalışmasında da, kupffer hücrelerindeki sayıca artış, histopatoloji bulguları ile doğrulandı. NAYKH'li hastalardan alınan karaciğer biyopsi örneklerinden IFN γ ve Tbet geninin rölatif ekspresyon düzeyinin kontrol grubundaki deneklerden alınan örneklerden anlamlı derecede yüksek olduğu ifade edilmektedir (Inzaugarat ve ark., 2017). Sheng ve ark. (2011) da, yaptıkları çalışmada yüksek kolesterol diyet grubundaki tavşanlarda Tbet geninin mRNA ekspresyon düzeyini kontrol grubundan yüksek bulduklarını belirtmişlerdir ($p > 0.05$). Mevcut tez çalışmasında da özellikle kekik yağı verilen tavşanlarda Tbet geninin ekspresyonundaki 7 katlık bir artış, kekik yağının antiinflamatuvar özelliğini destekler niteliktedir.

Sunulan bu tez çalışmasında, karaciğerde Gata3 geninin thymol ve kekik yağı verilen gruplarda (ND-T ve ND-K) mRNA ekspresyonunu kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu ortaya konuldu. Kekik yağının ve thymol tedavisinin, normal diyetle beslenen tavşanlarda ise Gata3 geninin ekspresyon düzeyini artırdığı, bu artışın kekik yağı alan tavşanlarda daha yüksek olduğu görüldü. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin visseral adipoz dokularında, diğer T yardımcı alt-gruplarına göre Th2 (Gata3, Stat6) hücresi sayılarında azalma görülmektedir (Van Herck ve ark., 2019). Bu tez çalışmasında da, yüksek kolesterol diyetinin Gata3 geninin mRNA ekspresyonunu baskıladığı görüldü. Öte yandan, bu tez çalışmasında yüksek kolesterol gruplarında kekik yağı ve thymol tedavisinin Gata3 geninin ekspresyon düzeyini çok az artırdığı görüldü ($p > 0.05$). Bizim oluşturduğumuz modelin non-obez bir model olması sebebiyle, yüksek kolesterol gruplarında canlı ağırlıktaki azalmayla (Tablo 19) ilişkili olarak bu genin ifade edilmesi baskılanmış olabilir. Bu çalışmada, yüksek kolesterol gruplarında visseral adipoz dokudaki artış, histopatoloji bulguları ile doğrulandı. Bu etkiler; visseral adipoz dokudan izole edilen T hücreleri tarafından IL-4 ve IL-13'ün *in vitro* üretimi ile desteklemek üzere transfer edilen hücrelerin bir Th2 fenotipine farklılaşmasıyla indüklenmektedir (Van Herck ve ark. 2019). Gata3; insanlarda Th2 hücrelerinden IL-4,

IL-5 ve IL-13 salgılanmasını desteklemektedir (Ho ve Pai, 2007; Mrsa, 2009). Zeyda ve ark. (2011), sağlıklı obez denekleri, yaş ve cinsiyet uyumlu non-obez veya fazla kilolu kontrollerle karşılaştırarak Gata3'ün ekspresyonunun visseral adipoz dokuda azaldığını, subkutan adipoz dokuda ise arttığını ifade etmektedir. Sunulan bu tez çalışmasında, normal diyet gruplarında thymol ve kekik yağı uygulamalarının, Gata3 geninin mRNA ekspresyonunu artırdığı ve bu artışın IL-4 ve IL-13 geninin ekspresyonunu uyardığı görüldü. Bu tez çalışmasının sonuçları; Winer ve ark. (2009), ile Zeyda ve ark. (2011)'nin yaptıkları çalışmalarının sonuçları ile uyumlu bulundu.

Sunulan bu tez çalışmasında, karaciğerde IL-17 geninin ND-T grubundaki mRNA ekspresyon düzeyi, kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu. Yüksek kolesterol diyetinin, IL-17 geninin ekspresyon seviyelerini baskıladığı ve yüksek kolesterol gruplarında kekik yağı tedavisinin IL-17 geninin mRNA ekspresyon düzeyini etkilemediği, thymol tedavisinin ise IL-17 geninin ekspresyon düzeyini artırdığı görüldü. Kekik yağının ve thymol tedavisinin, normal diyetle beslenen tavşanlarda ise IL-17 geninin ekspresyon düzeyini artırdığı, bu artışın thymol alan tavşanlarda daha yüksek olduğu görüldü. IL-17 ve Th17 hücreleri, ilaca bağlı karaciğer hasarı, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) ve hepatoselüler karsinoma gibi karaciğer hasarına sebep olan durumlardan etkilenmektedir. Yardımcı T hücrelerin (Th) karaciğerdeki etkisi, çoklu sinyal kaskadlarını uyararak hepatositler ve immün hücreler üzerinde hedeflenen sitokinlerin üretimi yoluyla gerçekleştirilir. IL-17; nötrofilleri karaciğere doğru yönlendiren ve çağıran bir proinflamatuvar mediyatör olarak görev yapmaktadır. Karaciğerdeki aktif nötrofillerin doğrudan karaciğer hasarına neden olabilecek proteaz salgıladığı ve hepatosit nekrozuna yol açan sitotoksikite yoluyla efektör hücreler olarak görev yaptığı bildirilmektedir (Kolls ve Linden, 2004; Oo ve Adams, 2010). Obezitede bu genin ekspresyon düzeylerinin arttığı bildirilmektedir. Obez insanlarda ve farelerde artmış yağ dokusu, Th17 hücre infiltrasyonu ile ilişkili olarak IL-17A'nın ekspresyonunda artış bildirilmiştir. Yukarıda belirtilen hepatik hastalıklara ek olarak, IL-17 hem obezitenin hem de NAYKH'nin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Giles ve ark., 2015). Sunulan bu tez çalışmasında, yüksek kolesterol gruplarında, gen baskılanmasının çok güçlü olduğu, kekik yağı uygulamalarının IL-17 geninin ekspresyonunu down regüle ettiği görüldü. Thymol'ün ise hem normal diyet grubunda hem de yüksek kolesterol diyet grubunda IL-17 geninin ekspresyonunu up regüle ettiği

görüldü. Kekik yağı verilen grupta ise IL-17 geninin ekspresyonunun thymol verilen gruptan daha düşük olduğu görüldü. Karaciğerde yağlanma ve inflamasyon durumlarında IL-17 geninin bu tabloyu daha da kötüleştirdiği bilinmektedir (Tang ve ark., 2011). Bu tez çalışmasının sonuçları; Giles ve ark., (2015) ile Chackelevicius ve ark., (2016)'nın sonuçları ile uyumlu değildir. Bu çalışmalarda, steatozis ve inflamasyonun IL-17 genin ekspresyonunu artırdığı ifade edilmektedir. Bizim oluşturduğumuz modelin non-obez bir model olması sebebiyle, yüksek kolesterol gruplarında subkutan adipoz dokudaki azalmayla ilişkili olarak bu genin ifade edilmesi baskılanmış olabilir.

Sunulan bu tez çalışmasında, karaciğerde IL-18 geninin yüksek kolesterol grubundaki mRNA ekspresyon düzeyi, normal diyet grubundan yüksek bulundu. NAYKH'li hastalarda IL-18'in serum konsantrasyonunun yüksek olduğu ifade edilmektedir (Flisiak-Jackiewicz ve ark., 2018). Yine bu tez çalışmasında, yüksek kolesterol diyetinin IL-18 geninin ekspresyon düzeyini istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte artırdığı, ayrıca, yüksek kolesterol gruplarında da kekik yağı ve thymol tedavisinin IL-18 geninin ekspresyon düzeyini artırdığı, bu artışın thymol tedavisi alan tavşanlarda daha yüksek olduğu görüldü. Benzer olarak, kekik yağı ve thymol tedavisinin normal diyetle beslenen tavşanlarda IL-18 geninin mRNA ekspresyon düzeyini artırdığı, bu artışın thymol alan tavşanlarda daha yüksek olduğu görüldü. Bu tez çalışması, IL-18 geninin yüksek kolesterol diyeti ile oluşturulan non-obez hepatik lipidozis modelinde, karaciğerde oluşan inflamatuvar süreçle ilişkili olduğunu gösterdi. İnterlökin-18, IL-18 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Bu gen tarafından kodlanan IL-18 proinflamatuvar bir sitokindir. Hem hematopoetik hücreler hem de hematopoetik olmayan hücreler olmak üzere birçok hücre türü, IL-18 üretme potansiyeline sahiptir. İlk olarak 1989'da fare dalak hücrelerinde IFN γ üretimini indükleyen bir faktör olarak tanımlanmıştır. Başlangıçta, IL-18 üretimi karaciğerde yerleşik makrofajlar olan kupffer hücrelerinde üretilirken daha sonrasında barsak epitel hücreleri, keratinositler ve endotel hücreleri gibi hematopoetik olmayan hücrelerde de eksprese edilebildiği görülmüştür. IL-18; hem doğal hem de adaptif immüneyi modüle edebilir ve düzensizliği otoimmün veya inflamatuvar hastalıklara neden olabilir. IL-18, ciddi inflamatuvar reaksiyonları indükleyebilir (Yasuda ve ark., 2019). Bu tez çalışmasında da, karaciğerdeki inflamatuvar reaksiyonlar, histopatoloji bulguları ile doğrulandı. Karaciğerlerin histopatolojik görünümünde balonumsu dejenerasyon, yağ vakuelleri (Şekil 68A), ayrıca hepatositlerde hemosiderin pigmenti,

portal bölgelerde lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyonları ile kupffer hücrelerinde sayıca artış dikkati çekti. Klinik çalışmalar ateroskleroza olan hastaların dolaşım ve aterosklerotik plaklarında IL-18 seviyelerinin yükseldiğini ortaya koymaktadır (Hulthe ve ark., 2006). Kullanılan aterojenik diyetin (yüksek kolesterol diyeti), damar duvarlarında aterosklerotik plak oluşumunu artırabileceği ifade edilmektedir. Bu tez çalışmasında da, aterosklerotik hastalık tablosu, lipit profil testleri ile doğrulandı. Lipit profilin özellikle LDL-kolesterol'ün plazmada 4. haftadan itibaren yüksek düzeyde seyretmesi bu tabloyu destekler niteliktedir. Koroner arter hastalığı olan 1229 hastanın prospektif bir çalışmasında, 4 yıllık takip sonucunda ölümcül kardiyovasküler hastalık durumu olan hastalarda, serum IL-18 düzeylerinin ölmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir (Blankenberg ve ark., 2002). Son zamanlarda IL-18'in koroner kalp hastalığı ile ilişkisini araştıran bir meta-analiz dolaşımdaki IL-18'i muhtemel bir risk faktörü olarak tanımlamaktadır. Bu raporlar IL-18'in metabolik sendromda rol oynadığını göstermektedir. Bununla birlikte yukarıda tarif edildiği gibi, aşırı enerji alımından kaynaklanan metabolik bozukluklar sırasında NLRP3 inflamazomunun, inflamatuvar tepkileri indükleyebilen IL-1 β ve aynı zamanda IL-18'in salgılanmasıyla sonuçlanan anormal lipit metabolitleri ve/veya yüksek glukoz seviyeleri ile aktive olması muhtemeldir (Nakanishi ve ark., 2001). Bu tez çalışmasında da, görülen anormal lipit metabolitleri ve yüksek glukoz seviyeleri, bu durumu desteklemektedir. Metabolik sendromun ilerlemesi sırasında okside LDL ve hiperglisemi gibi anormal metabolitler potansiyel olarak IL-12 ve/veya IL-15 üretimine yol açan TLR4 ve/veya TLR2 kaynaklı yolları aktive etmektedir (Stewart ve ark., 2010). Bu koşullar altında IL-18 büyük miktarlarda IFN- γ ve/veya TNF- α üretmek için NK hücrelerini ve/veya Th1 hücrelerini aktive edebilmektedir (Nakanishi ve ark., 2001). Sunulan bu tez çalışmasında da, IL-18 geninin mRNA ekspresyon seviyesindeki artış; hepatosit hasarı, sistemik inflamasyon ve karaciğer yağlanması derecesi ile ilişkisi non-alkolik karaciğer yağlanması patogenezindeki rolünü desteklemektedir. IL-18'in non-obez hepatik lipidozis gelişen hastalarda ilerlemiş steatozu ve yağlı karaciğeri öngörmeye rol alabileceği düşünülebilir.

İnterlökin-8 (IL-8), nötrofiller için önemli bir aktivatör ve kemoatraktan bir maddedir ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarda rol oynamaktadır. IL-8; nötrofiller, bazofiller ve T hücrelerini çeken, ancak monositleri çekmeyen kemotaktik bir faktördür. İnflamatuvar

bir uyarana cevap olarak, birkaç hücre tipinden salınır ve öncelikle gen transkripsiyon seviyesinde düzenlenmektedir (Van Damme ve ark., 1990). Bu tez çalışmasında karaciğerde IL-8 geninin YKD-T grubundaki mRNA ekspresyon düzeyinin, YKD ve YKD-K grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. Yüksek yağlı diyetle oluşturulan prostat modelinde çeşitli inflamatuvar genlerin rölatif ekspresyon seviyelerinin araştırıldığı bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen tavşanlarda IL-8 geninin mRNA ekspresyon seviyesinin normal diyetle beslenen tavşanlardan anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir (Rastrelli ve ark., 2019). Sunulan bu tez çalışmasında normal diyetle beslenen gruptaki tavşanlarda primerlerin çalışmaması nedeniyle bu genin mRNA ekspresyon seviyesi belirlenememiştir. Bu nedenle bu genin kontrol grubuna göre mRNA ekspresyon seviyesindeki artışı veya azalışı da tespit edilememiştir. IL-8, IL-6, IL-1 β ve TNF- α , CD4, CD8, Tbet, Gata3 ve ROR γ mRNA ekspresyon seviyelerinin yüksek yağlı diyetle indüklenen tavşan metabolik sendrom modelinde artış gösterdiği belirtilmektedir (Vignozzi ve ark., 2012). Nitekim, bu çalışmada thymol tedavisinin güçlü bir lökosit kemotaktik ve aktive edici sitokin olan IL-8 geninin ekspresyon düzeyini artırdığı görüldü.

Bu çalışmanın biyokimyasal, histopatolojik, sitokin ve yangısal gen ifade düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde; diyete % 1 kolesterol ilave ederek ortalama 3 aylık yaşta yeni zellanda ırkı tavşanlarda 11. hafta sonunda hipertrigliseridemi, hiperkolesterolemi, hiperglisemi, karaciğer yağlanması ve canlı ağırlık artışında normal diyet grubuna göre azalma sebebiyle non-obez hepatik lipidozis modeli oluşturulabildiği ortaya konuldu. Kekik yağı ve thymolün, yüksek kolesterol diyet gruplarında bazal seviyeye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde canlı ağırlıkta azalmaya yol açtığı belirlendi.

Thymol ve kekik yağı uygulamalarının, Th1 hücreleri, makrofajlar, IFN- γ , dendritik hücre üretimini azaltıp, IL-4 geninin mRNA ekspresyonunu artırarak IFN γ geninin ekspresyonunu baskıladığı, dolayısıyla patolojik inflamasyonu azaltarak antiinflamatuvar özellikleri sayesinde karaciğer hücreleri üzerinde koruyucu etki gösterebileceği ve IL-18'in non-obez hepatik lipidozis gelişen hastalarda ilerlemiş steatozu öngörmede rol alabileceğini düşündürmektedir. Thymol ve kekik yağının, Gata3 geninin mRNA ekspresyonunu artırdığı ve bu artışın IL-4 ve IL-13 geninin ekspresyonunu uyardığı sonucuna varıldı. Thymol ve kekik yağı uygulamalarının, IL-4 geninin mRNA ekspresyonunu upregüle ederek T ve B lenfositlerin çoğalmasını artırabileceği, humoral ve adaptif immunitiyi düzenleyebileceği kanatına varıldı.

Çalışmada oluşturulan non-obez hepatik lipidozis modelinin daha yaşlı hayvanlarda test edilmesi ve fenotipin ağırlaştığının gözlemlenmesi, ilerideki çalışmalarda planlanmaktadır. Hem yaşlı hayvanların kullanılması hem de diyet uygulama süresinin daha uzun tutulması ile değişikliklerin gözlenmesi hedeflenmektedir.

Sonuçta % 1 kolesterol verilerek non-obez hepatik lipidozis oluşturulan tavşanlarda thymol ve/veya kekik yağının metabolik ve immun parametreleri etkileyebileceği, özellikle thymol verilmesinin hepatik lipidozise bağlı yangısal süreçlerin düzeltilmesinde gen düzeyinden itibaren olumlu yönde epigenetik etkileri olabileceği ifade edilebilir. Ayrıca bitkilerin çeşitli bileşikler içerdiği ve ekstraktın her farklı dozunda farklı etkilere sahip çeşitli bileşiklerin dominant olabileceği gerçeği hesaba katıldığında bu veriler kekik yağı ve thymol'ün belirtilen dozlarda immunmodülatör etkilerini destekler niteliktedir.

KAYNAKLAR

- Abdel R, Sayed M. The Effect of *Thymus vulgaris* on immune response and growth performance of albino rats. *Advances in Environmental Biology*, 2016; 10: 98-102.
- Abdel-Wareth AAA, Taha EMM, Südekum KH, Lohakare J. Thyme oil inclusion levels in a rabbit ration: Evaluation of productive performance, carcass criteria and meat quality under hot environmental conditions. *Animal Nutrition*, 2018; 4(4): 410-416.
- Alaçam E. Sütçü İneklerde Geçiş Dönemi ve Önemli Sorunları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 2011; 2(2): 85-95.
- Ametaj BN. A New Understanding of the Causes of Fatty Liver in Dairy Cows. *Advances in Dairy Technology*, 2005; 17: 97-112.
- Amirghofran Z, Ahmadi H, Karimi MH. Immunomodulatory Activity Of The Water Extract Of *Thymus Vulgaris*, *Thymus Daenensis* , And *Zataria Multiflora* On Dendritic Cells And T Cells Responses. *Journal Of Immunoassay And Immunochemistry*, 2012; 33(4): 388-402.
- Amirghofran Z, Hashemzadeh R, Javidnia K, Golmoghaddam H, Esmailbeig A. In vitro immunomodulatory effects of extracts from three plants of the Labiatae family and isolation of the active compounds. *Journal of Immunotoxicology*, 2011; 8(4): 265-273.
- Arslan C, Tufan T. Feeding the Transition Dairy Cow II. Metabolic Disorders Seen in This Period and Prevention Through Feeding. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2010; 16(1): 159-166.
- Asrih M, Jornayvaz FR. Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link ? *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2015; 418: 55-65.
- Baciu C, Pasini E, Angeli M, Schweger K, Afrin J, Humar A, Fischer S, Patel K, Allard J, Bhat M. Systematic integrative analysis of gene expression identifies HNF4A as the central gene in pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Plos One*, 2017; 12(12): e0189223.
- Bagetta G; Casentino M, Corasaniti MT; Sakurada S. *Herbal Medicines: Development and Validation of Plant-Derived Medicines for Human Health*; CRC Press: Boca Raton, FL, 2012; 317–320.
- Baştan İ, Salar S. Koyun ve Keçilerde Gebelik Toksemisi. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 2013; 2(1): 42-47.
- Başoğlu A, Sevinç M. *Evcil Hayvanlarda Metabolik ve Endokrin Hastalıklar, Pozitif Matbaacılık*, Konya, 2004: 1-93.
- Kılıçoğlu B, Uyarlar C, Tunç AC, Başer DF, Altınok Yipel F, Birdane FM, Acar A. Taylara Oral Olarak Uygulanan Bitkisel Yağ Ekstraktı Karışımının (Nane, Kekik, Anason) İmmun Sistem Üzerine Etkisi. *Kocatepe Vet J*, 2017; 10(4): 287-294.

Bechmann LP, Hannivoort RA, Gerken G, Hotamisligil GS, Trauner M, Canbay A. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. *Journal of Hepatology*, 2012; 56(4): 952-964.

Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, Peetz D, Cambien F, Meyer J, Rupprecht HJ. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation*, 2002; 106(1): 24-30.

Bobe G, Young JW, Beitz DC. Invited Review: Pathology, Etiology, Prevention, And Treatment Of Fatty Liver In Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 2004; 87(10): 3105-3124.

Bossaert P, Trevisi E, Opsomer G. The association between indicators of inflammation and liver variables during the transition period in high-yielding dairy cows: An observational study. *Veterinary Journal*, 2012; 192(2): 222-225.

Cai J, Zhang XJ, Li H. Role of Innate Immune Signaling in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2018; 29(10): 712-719.

Chackelevicius CM, Gambaro SE, Tiribelli CE, Rosso N. Th17 involvement in nonalcoholic fatty liver disease progression to non-alcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*, 2016; 2(41): 9096-9103.

Çetin S. Yüksek Yağlı Diyet İle Beslenen Sıçanlarda, Probiyotik Kullanımının Karaciğer Yağlanması ve Metabolik Endotoksemi Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2018: 5-6.

Das SK, Balakrishnan V. Role of Cytokines in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2011; 26: 202–209.

Dik B, Baş AL. Metabolik sendrom etiyopatogenezi. *Türkiye Klinikleri Cardiovascular Sciences*, 2013; 25(2): 63-74.

Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Investig.*, 2005; 115: 134-351.

Drimba L, Hegedu C, Yin D, Sári R, Németh J, Szilvássy Z, Peitl B. Beneficial Cardiac Effects of Cicletanine in Conscious Rabbits With Metabolic Syndrome. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2012; 60: 208–218.

Ebrahimi H, Naderian M, Sohrabpour AA. New Concepts on Reversibility and Targeting of Liver Fibrosis; A Review Article. *Middle East Journal of Digestive Diseases*, 2018; 10(3): 133-148.

Egnatchik RA, Leamy AK, Jacobson DA, Shiota M, Young JD. ER calcium release promotes mitochondrial dysfunction and hepatic cell lipotoxicity in response to palmitate overload. *Mol. Metab.*, 2014; 3: 544–553.

Enjoji M, Yasutake K, Kohjima M, Nakamuta M. Nutrition and nonalcoholic Fatty liver disease: the significance of cholesterol. *Int J Hepatol*, 2012; 2012: 925807.

Erçin U, Bilgihan A, Erkan AF, Yücel H. Koroner Arter Hastalığında Yeni Parametreler: Oksidatif Stres Belirteçleri. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 2019; 17(1): 48-55.

Esposito G, Irons PC, Webb EC, Chapwanya A. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 2014; 144(3-4): 60–97.

Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2014; 105(2):141-150.

Fachini-Queiroz FC, Kummer R, Estevão-Silva CF, Carvalho MDDB, Cunha JM, Grespan R, Cuman RKN. Effects of thymol and carvacrol, constituents of thymus vulgaris L. essential oil, on the inflammatory response. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012; 2012: 1-10.

Filippi S, Vignozzi L, Morelli A, Chavalmane AK, Sarchielli E, Fibbi B, Maggi M. Testosterone partially ameliorates metabolic profile and erectile responsiveness to PDE5 inhibitors in an animal model of male metabolic syndrome. *Journal of Sexual Medicine*, 2009; 6(12): 3274-3288.

Flisiak-Jackiewicz M, Bobrus-Chociej A, Tarasów E, Wojtkowska M, BiaBokoz-Kalinowska I, Lebensztejn DM. Predictive Role of Interleukin-18 in Liver Steatosis in Obese Children. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2018, 2018: 1-9.

Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NASH development and therapeutic strategies. *Nature Medicine*, 2018; 24(7): 908-922.

Geelen MJH, Wensing T. Studies on hepatic lipodosis and coinciding health and fertility problems of high-producing dairy cows using the “Utrecht fatty liver model of dairy cows”. A review. *The Veterinary Quarterly*, 2006; 28(3): 90-104.

Giles DA, Moreno-Fernandez ME, Divanovic S. IL-17 Axis Driven Inflammation in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Progression. *Curr Drug Targets*, 2015; 16(12): 1315-1323.

Gregor MF, Hotamisligil GS. Thematic review series: adipocyte biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease. *J. Lipid Res.*, 2007; 48: 1905–1914.

Gross B, Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. PPARs in obesity-induced T2DM, dyslipidaemia and NASH. *Nature Reviews Endocrinology*, 2017; 13(1): 36-49.

Gül Y, Kızıl Ö, Çeribaşı AO. Bir Kedide Primer Hepatik Lipidozis Olgusu. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2006; 20(5): 375-378.

Hadizadeh F, Faghihimani E, Adibi P. Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic biomarkers. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 2017; 8(2): 11.

Haeseler G, Maue D, Grosskreutz J, Bufler J, Nentwig B, Piepenbrock S, Leuwer M. Voltage-dependent block of neuronal and skeletal muscle sodium channels by thymol and menthol. *European Journal of Anaesthesiology*, 2002; 19(8): 571-579.

Hager L, Li L, Pun H, Liu L, Hossain MA, Maguire GF. Lecithin cholesterol acyltransferase deficiency protects against cholesterol-induced hepatic endoplasmic reticulum stress in mice. *J. Biol. Chem*, 2012; 287: 20755–20768.

Hashemipour H, Kermanshahi H, Golian A, Veldkamp T. Metabolism and nutrition: Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. *Poultry Science*, 2013; 92(8): 2059-2069.

Hasson D, Feliú F, Gormaz JG. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease: New Insights*, 2016; 79-106.

Hershey GK, Friedrich MF, Esswein LA, Thomas ML, Chatila TA. "The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor". *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337 (24): 1720-1725.

Ho IC, Pai SY. GATA-3 not just for Th2 cells anymore. *Cellular & Molecular Immunology*, 2007; 4(1): 15-29.

Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*, 1995; 95(5): 2409-2415.

<https://www.liver.ca/patients-caregivers/liver-diseases/fatty-liver-disease/> Erişim Tarihi: 08.01.2020.

Hulthe J, McPheat W, Samnegård A, Tornvall P, Hamsten A, Eriksson P. Plasma interleukin (IL)-18 concentrations is elevated in patients with previous myocardial infarction and related to severity of coronary atherosclerosis independently of C-reactive protein and IL-6. *Atherosclerosis*, 2006; 188(2): 450-454.

Hussein A, Mahdi N. The Effect of Thymus vulgaris on some Physiological and Antioxidant Parameters in Male Rabbits. *Indian Journal of Natural Sciences*, 2018; 9(50): 1-8.

Inzaugarat EM, Matteo ED, Baz P, Lucero D, Garcia CC, Ballerger EG, Daruich J, Sorda JA, Wad MR, Chernavsky AC. New evidence for the therapeutic potential of curcumin to treat nonalcoholic fatty liver disease in humans. *Plos One*, 2017; 3: 1-15.

Ivashkiv LB. IFN γ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 2018; 18(9): 545-558.

Jahan N, Minuti A, Trevisi E. Assessment of immune response in periparturient dairy cows using ex vivo whole blood stimulation assay with lipopolysaccharides and carrageenan skin test. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2015; 165(3-4): 119-126.

Ji P, Drackley JK, Khan MJ, Looor JJ. Overfeeding energy upregulates peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ -controlled adipogenic and lipolytic gene networks but does not affect proinflammatory markers in visceral and subcutaneous adipose depots of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 2014; 97(6): 3431-3140.

Jiménez-Chillarón JC, Díaz R, Martínez D, Pentinat T, Ramón-Krauel M, Ribó S, Plösch T. The role of nutrition on epigenetic modifications and their implications on health. *Biochimie*, 2012; 94(11): 2242-2263.

Kabu M, Cıngı CÇ, Civelek T. Süt ineklerinde Yağlı Karaciğer Sendromu ve Korunma Yolları. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2008; 1: 83-87.

Kainuma M, Fujimoto M, Sekiya N, Tsuneyama K, Cheng C, Takano Y, Shimada Y. Cholesterol-fed rabbit as a unique model of nonalcoholic, nonobese, non-insulin resistant fatty liver disease with characteristic fibrosis. *Journal of Gastroenterology*, 2006; 41(10): 971-980.

Kalınbacak A, Cıngı CÇ, Ural K, Arun S, Güzel M. Bir Kedide İdiopatik Hepatik Lipidozis Olgusu. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg*, 2004; 10(2): 199-201.

Kang SH, Kim YS, Kim EK, Hwang JW, Jeong JH, Dong X, Park PJ. Anticancer effect of thymol on AGS human gastric carcinoma cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2015; 26(1): 28-37.

Khosravi AR, Erle DJ. Chitin-induced airway epithelial cell innate immune responses are inhibited by Carvacrol/Thymol. *Plos One*, 2016; 11(7): 1-15.

Khosravipour B, Direkvand-moghadam F. The development of Thyme plant as a medicinal herb: A review article. *Advanced Herbal Medicine*, 2016; 2(2): 47-53.

Kim D, Kim WR. Non- Obese Fatty Liver Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2016; 15(4): 474-485.

Kim EJ, Kim BH, Seo HS, Lee YJ, Kim HH, Son HH, Choi MH. Cholesterol-induced non-alcoholic fatty liver disease and atherosclerosis aggravated by systemic inflammation. *Plos One*, 2014; 9(6): e97841 (1-11).

Kocabaş R, Aköz M. The effects of Vitamin D supplementation on healthy and hypercholesterolemic rabbits on levels of OSI and paraoxonase. *Turkish Journal of Biochemistry*, 2018; 43(5): 549-556.

Kolls JK, Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*, 2004; 21: 467-476.

Kovács M, Tuboly T, Mézes M, Balogh K, Gerencsér Z, Matics Z, Zotte AD. Effect of dietary supplementation of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and thyme (*Thymus vulgaris*) on serum biochemistry, immune response and antioxidant status of rabbits. *Annals of Animal Science*, 2016; 16(1): 181-195.

Lefere S, Van De Velde F, Devisscher L, Bekaert M, Raevens S, Verhelst X, Geerts A. Serum vascular cell adhesion molecule-1 predicts significant liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *International Journal of Obesity*, 2017; 41(8): 1207-1213.

Lin FY, Lin YW, Huang CY, Chang YJ, Tsao NW, Chang NC, Chen YH. GroEL1, a Heat Shock Protein 60 of *Chlamydia pneumoniae*, Induces Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor 1 Expression in Endothelial Cells and Enhances Atherogenesis in Hypercholesterolemic Rabbits. *The Journal of Immunology*, 2011; 186(7): 4405-4414.

Lozano WM, Arias-Mutis OJ, Calvo CJ, Chorro FJ, Zarzoso M. Diet-induced rabbit models for the study of metabolic syndrome. *Animals*, 2019; 9(7): 1-12.

Luo XY, Takahara T, Kawai K, Fujino M, Sugiyama T, Tsuneyama K, Tsukada K, Nakae S, Zhong L, Li XK. IFN- γ deficiency attenuates hepatic inflammation and fibrosis in a steatohepatitis model induced by a methionine- and choline-deficient high-fat diet. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013; 305(12): G891-899.

Männistö VT, Simonen M, Soininen P, Tiainen M, Kangas AJ, Kaminska D, Venesmaa S, Käkälä P, Kärjä V, Gylling H, Ala-Korpela M, Pihlajamäki J. Lipoprotein subclass metabolism in non-alcoholic steatohepatitis. *J Lipid Res.*, 2014; 24.

Marchese A, Orhan IE, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF, Nabavi SM. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chemistry*, 2016; 210: 402-414.

Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Rizzetto M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 2003; 37(4): 917-923.

Mathapati S, Arumugam SB, Verma RS. High cholesterol diet increases MMP9 and CD40 immunopositivity in early atherosclerotic plaque in rabbits. *Acta Histochemica*, 2010; 112(6): 618-623.

McCarthy EM, Rinella ME. The role of diet and nutrient composition in nonalcoholic Fatty liver disease. *J Acad Nutr Diet*, 2012; 112(3): 401-409.

Meglia GE, Johannisson A, Agenäs S, et al. Effects of feeding intensity during the dry period on leukocyte and lymphocyte sub-populations, neutrophil function and health in periparturient dairy cows. *Veterinary Journal*, 2005; 169(3): 376-384.

Meeran M, Prince P. Protective effects of thymol on altered plasma lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidants in isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. *Biochem Mol Toxicol*, 2012; 26: 368-375.

Meli R, Mattace Raso G, Calignano A. Role of innate immune response in non-alcoholic Fatty liver disease: metabolic complications and therapeutic tools. *Front Immunol*, 2014; 5: 177.

Morelli A, Comeglio P, Filippi S, Sarchielli E, Vignozzi L, Maneschi E, Maggi M. Mechanism of action of phosphodiesterase type 5 inhibition in metabolic syndrome-associated prostate alterations: An experimental study in the rabbit. *Prostate*, 2013; 73(4), 428-441.

Moyes KM, Drackley JK, Morin DE. Mammary gene expression profiles during an intramammary challenge reveal potential mechanisms linking negative energy balance with impaired immune response. *Physiological Genomics*, 2010; 41(2): 161-170.

Mrsa C. Looking Toward Basic Science for Potential Drug Discovery Targets Against. *Medicinal Research Reviews*, 2009; 30(1): 1-22.

Nakamuta M, Kohjima M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Yoshimoto T, Yada M, Yada R, Takemoto R, Fukuizumi K, Harada N, Taketomi A, Maehara Y, Nakashima M, Enjoji M. The significance of differences in fatty acid metabolism between obese and non-obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med*, 2008; 22(5): 663-667.

Nakanishi K, Yoshimoto T, Okamura H. Interleukin-18 Regulates Both Th1 And Th2 Responses. *Annual Review of Immunology*, 2001; 19: 423-474.

Nieddu M, Rasso G, Boatto G, Bosi P, Trevisi P, Giunchedi P, Gavini E. Improvement of thymol properties by complexation with cyclodextrins: In vitro and in vivo studies. *Carbohydrate Polymers*, 2014; 102(1): 393-399.

Oo YH, Adams DH. The role of chemokines in the recruitment of lymphocytes to the liver. *J. Autoimmun*, 2010; 34: 45-54.

Pagadala MR, McCullough AJ. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: not all about body mass index. *Am J Gastroenterol*, 2012; 107(12): 1859-1861.

Park SW, Zhou Y, Lee J, Lee J, Ozcan U. Sarco(endo)plasmic reticulumCa²⁺-ATPase 2b is a major regulator of endoplasmic reticulum stress and glucose homeostasis in obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2010; 107: 19320–19325.

Placha I, Chrastinova L, Laukova A, Cobanova K, Takacova J, Stropfova V, Chrenkova M, Formelova Z, Faix S. Effect of thyme oil on small intestine integrity and antioxidant status, phagocytic activity and gastrointestinal microbiota in rabbits. *Acta Vet Hung*, 2013; 61: 197-208.

Rahimi S, Teymouri Zadeh Z, Karimi Torshizi MA, Omidbaigi R, Rokni H. Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2011; 13(4): 527-539.

Rastrelli G, Vignozzi L, Maggi M. Testosterone therapy: a friend or a foe for the aging men with benign prostatic hyperplasia? *Asian Journal of Andrology*, 2019; 21: 1-3.

Ratzu V, Goodman Z, Sanyal A. Current efforts and trends in the treatment of NASH. *Journal of Hepatology*, 2015; 62(S1): S65-S75.

Robinson MW, Harmon C, O'Farrelly C. Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cell Mol Immunol*, 2016; 13(3): 267-276.

Sakka SG. Assessing liver function. *Current Opinion in Critical Care*, 2007; 13: 207–214.

Sarıgöl Z, Ündeğer Bucurgat Ü. Epigenetik Değişiklikler ve Beslenme İlişkisi. *Turkiye Klinikleri J Pharm Sci*, 2014; 3(2): 74-80.

Sevinç M, Başoğlu A. Sütçü Sığırlarda Ketozis ve Karaciğer Yağlanması Etiyopatogenezi ve Abomasum Deplasmanları ile İlişkisi. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci*. 2011; 2(2): 123-130.

Seki E, Brenner DA. Toll-like receptors and adaptor molecules in liver disease: update. *Hepatology*, 2008; 48(1): 322-335.

Schoenborn JR, Wilson CB. Regulation of Interferon- γ During Innate and Adaptive Immune Responses. *Advances in Immunology*, 2007; 96(07): 41-101.

Sevgisunar NC, Şahinduran Ş. Hayvanlarda Akut Faz Proteinleri, Kullanım Amaçları ve Klinik Önemi. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg*, 2014; 2(1): 50-72.

Sevinç M. Koyunlarda Gebelik Toksemisi. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics*. 2017; 3(1): 54-60.

Sebaei ME, El-Bahr SM, Al-Nazawi M, Abdel-Rahe S. Effect of Flaxseed on Lipid Profile, Antioxidants and PPAR- α Gene Expression in Rabbit Fed Hypercholesterolemic Diet. *International Journal of Pharmacology*, 2019; 15(5): 642-650.

Sheng X, Wang M, Lu M, Xi B, Sheng H, Zang YQ. Rhein ameliorates fatty liver disease through negative energy balance, hepatic lipogenic regulation, and immunomodulation in diet-induced. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011; 300: E886–E893.

Shu C, Sun L, Zhang W. Thymol has antifungal activity against *Candida albicans* during infection and maintains the innate immune response required for function of the p38 MAPK signaling pathway in *Caenorhabditis elegans*. *Immunologic Research*, 2016; 64(4): 1013-1024.

Souri H, Khatibjoo A, Taherpoor K, Abadi AH, Fattahnia F, Askari M. Effect of *Thymus vulgaris* and *Satureja khuzestanica* Ethanolic Extracts on Broiler Chickens Performance and Immune Response. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 2015; 5: 437-446.

Stewart CR, Stuart LM, Wilkinson K, Van Gils JM, Deng J, Halle A, Moore KJ. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nature Immunology*, 2010; 11(2): 155-161.

Sun L, Yin H, Liu M, Xu G, Zhou X, Ge P, Mao Y. Impaired albumin function: A novel potential indicator for liver function damage? *Annals of Medicine*, 2019; 51(7-8): 1-28.

Süleyman H, Gül V, Erhan E. Oksidatif Stres ve Doku Hasarı. *Erzincan Tıp Dergisi*, 2018; 1(1): 1-4.

Şengezer E, Güngör T. Esansiyel Yağlar ve Hayvanlar Üzerindeki Etkileri. *Laboratuvar Hayv. Araşt. Enst. Derg.*, 2008; 48(2): 101-110.

Şişman AR, Küme T, Akan P, Tuncel P. C-Reactive Protein: Clinical Significance, Improvements in Methodology, Pre-Analytical and Analytical Variations, *Türk Klinik Biyokimya Derg.*, 2007; 5(1): 33-41.

Rivera LR, Leung C, Pustovit RV, Hunne BL, Andrikopoulos S, Herath C, Furness JB. Damage to enteric neurons occurs in mice that develop fatty liver disease but not diabetes in response to a high-fat diet. *Neurogastroenterology and Motility*, 2014; 26(8): 1188–1199.

Tang Y, Bian Z, Zhao L, Liu Y, Liang S, Wang Q, Han X, Peng Y, Chen X, Shen L, Qiu D, Li Z, Ma X. Interleukin-17 exacerbates hepatic steatosis and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 2011; 166 (2): 1-10.

Tanrıverdi B, Savaş Tetik Ş. Aterosklerozun Patofizyolojisi ve Risk Faktörleri. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 2017; 21: 1-9.

Torlak OA. Ratlarda Nonalkolik Yağlı Karaciğerde Rezeksiyon Sonrası Metforminin Karaciğer Rejenerasyonuna Etkisi, *Uzmanlık Tezi*, İstanbul, 2005.

Van Damme j, Rampart M, Coning R, Decock B, Van Osselaer N, Willems J, Billiau A. The neutrophil-activating proteins interleukin 8 and beta-thromboglobulin: *in vitro* and *in vivo* comparison of NH₂-terminally processed forms. *Eur. J. Immunol*, 1990; 20: 2113-2118.

Van Herck MA, Weyler J, Kwanten WJ, Dirinck EL, De Winter BY, Francque SM, Vonghia L. The Differential Roles of T Cells in Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Obesity. *Front Immunol*, 2019; 6(10): 82.

Vetvicka V, Vetvickova J. Essential Oils from Thyme (*Thymus vulgaris*): Chemical Composition and Biological Effects in Mouse Model. *Journal of Medicinal Food*, 2016; 19(12): 1180-1187.

Vignozzi L, Morelli A, Sarchielli E, Comeglio P, Filippi S, Cellai I, Maggi M. Testosterone protects from metabolic syndrome-associated prostate inflammation: An experimental study in rabbit. *Journal of Endocrinology*, 2012; 212(1): 71-84.

Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Bahrami J, et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med*, 2009; 15: 921-929.

Yang L, Li P, Fu S, Calay ES, Hotamisligil GS. Defective Hepatic Autophagy in Obesity Promotes ER Stress and Causes Insulin Resistance. *Cell Metabolism*, 2010; 11(6): 467-478.

Yang SF, Tzang BS, Yang KT, Hsiao YC, Chang YY, Chan CH, Chen YC. Taurine alleviates dyslipidemia and liver damage induced by a high-fat/cholesterol-dietary habit. *Food Chemistry*, 2010; 120(1): 156-162.

Yasuda K, Nakanishi K, Tsutsui H. Interleukin-18 in health and disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019; 20(3): 649.

Yu YM, Chao TY, Chang WC, Chang MJ, Lee MF. Thymol reduces oxidative stress, aortic intimal thickening, and inflammation-related gene expression in hyperlipidemic rabbits. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2016; 24(3): 556-563.

Zeyda M, Huber J, Prager G, Stulnig TM. Inflammation correlates with markers of T-cell subsets including regulatory T cells in adipose tissue from obese patients. *Obesity*, 2011; 9: 743-748.

Zhang J, Zhang F, Didelot X, Bruce KD, Cagampang FR, Vatish M, Hanson M, Lehnert H, Ceriello A, Byrne CD. Maternal high fat diet during pregnancy and lactation alters hepatic expression of insulin like growth factor-2 and key microRNAs in the adult offspring. *BMC Genomics*, 2009; 10(1): 478.

DENEYSEL HEPATİK LİPİDOZİS OLUŞTURULAN TAVŞANLARDA KEKİK OTU (THYMUS VULGARİS) YAĞI VE THYMOL'ÜN İMMUNOJENİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%**9**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**5**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**3**

YAYINLAR

%**8**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- | | | |
|----------|---|---------------|
| 1 | Submitted to Erciyes Üniversitesi
Öğrenci Ödevi | %3 |
| 2 | Submitted to Hacettepe University
Öğrenci Ödevi | %1 |
| 3 | Submitted to Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Öğrenci Ödevi | <%1 |
| 4 | Submitted to Istanbul University
Öğrenci Ödevi | <%1 |
| 5 | www.hayvancilikbilgi.com
İnternet Kaynağı | <%1 |
| 6 | Lee, Hyun-Su, Eun-Ju Choi, Heeri Choi, Kyung-Sik Lee, Hye-Ran Kim, Bo-Ra Na, Min-Sung Kwon, Gil-Saeng Jeong, Hyun Gyu Choi, Eun Young Choi, and Chang-Duk Jun. "Oral Administration of 4-Hydroxy-3-Methoxycinnamaldehyde Attenuates Atopic | <%1 |



T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)



Tarih: 04.03.2020

Toplantı Sayısı: 03

Karar No:20/069

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 04.03.2020 tarihinde Prof. Dr. Gültekin ATALAN 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Vehbi GÜNEŞ	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	KATILMADI
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Yusuf KONCA	Prof. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Ayşe EKEN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Zühal HAMURCU	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
İbrahim KARAMAN	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Zeynep CAFEROĞLU	Dr.Öğr.Üyesi	Sağlık Bilimleri Fakültesi	
Eray AKTUĞ	Arş. Gör. Dr.	Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ERÜTAM	
Umut ALPMAN	Arş. Gör.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)	
Gencay EKİNCİ	Arş. Gör.	Deneyisel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye	
Mehmet TAV	Dernek Üyesi (Avukat)	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları A.D.'dan Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ tarafından sunulan "Deneyisel Hepatik Lipidozis Oluşturulan Tavşanlarda Kekik Otu (*Thymus vulgaris*) Yağı ve Thymol'ün İmmunojenik Aktivitelerinin Araştırılması" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 04.03.2020
Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Gültekin ATALAN
İmza :

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Gencay EKİNCİ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 13 Mart 1990, Ağaçören, AKSARAY

Medeni Durumu: Evli

Tel: +90 352 207 66 66 (29632), Fax: 0352 337 27 40

Email: gekinci@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim

Dalı, Ofis No: 101, Talas/ KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, KAYSERİ	2020
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, KAYSERİ	2012
Lise	Ağaçören Çok Programlı Lisesi, Ağaçören, AKSARAY	2007

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2014- Hâlen	Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Araştırma Görevlisi
2017-Hâlen	AKABİYOMED Biyoteknoloji Medikal Veterinerlik Hizmetleri Hayvancılık Tarımsal Ürünler Paz. Dan. İth. İhr. San. Ltd.Şti.	Girişimci/Kuruluş Ortağı

YABANCI DİL

İngilizce (Orta)

STAJ

1. Saray Tarım ve Hayvancılık A.Ş. (Develi/KAYSERİ), 2011.
2. Clinical Training at the Animal Hospital, University of Veterinary Medicine, (Vienna, AUSTRIA), 2015.

YAYINLAR

1. Neonatal Calf Meningitis Associated with Streptococcus Gallolyticus Subsp. Gallolyticus. Aydın F, Güneş V, Bayram L, Abay S, Karakaya E, Varol K, Ekinci G. Folia Microbiologica, 2019; 64: 223-229.
2. The Diagnostic Importance of Coagulation Parameters in Cattle Having Natural Theileriosis. Güneş V, Onmaz AC, Keles I, Varol K, Ekinci G. Polish Journal Of Veterinary Sciences, 2017; 20: 369-376.