



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**VİSCUM ALBUM İLE BİRLİKTE VERİLEN
PROBİYOTİKLERİN, CCl₄ İLE OLUŞTURULAN
KARACİĞER HASARINDA KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dyt. Meltem Erdaş

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üy. Fahrettin AKYÜZ**

Mayıs 2019



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**VİSCUM ALBUM İLE BİRLİKTE VERİLEN
PROBİYOTİKLERİN, CCl₄ İLE OLUŞTURULAN
KARACİĞER HASARINDA KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dyt. Meltem Erdaş

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üy. Fahrettin AKYÜZ**

BAP proje no: 2017-1767

KABUL VE ONAY SAYFASI

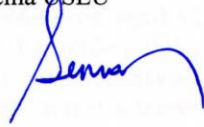
Meltem ERDAŞ'ın Yüksek Lisans/~~Doktora~~ Tezi olarak hazırladığı “**Viscum Album İle Birlikte Verilen Probiyotiklerin, CCl₄ İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Koruyucu Ve Tedavi Edici Etkilerinin İncelenmesi**” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek “**KABUL**” edilmiştir.

Tarih
27.05.2019

Üye : Dr.Öğr.Üy.Fahrettin AKYÜZ(Danışman)



Üye : Prof. Dr. Sema USLU



Üye: Doç. Dr. Halide Edip TEMEL



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
.../.../ tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Özkan ALATAŞ
Enstitü Müdürü

Özet

Bu çalışmada Karbon tetraklorür(CCl₄) uygulamasının meydana getirdiği oksidatif stres kaynaklı karaciğer hasarına karşı Viscum album ve probiyotiklerin sinerjistik etkileri düşünülerek koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırıldı.

Lipit peroksidasyonunun serbest radikallerden kaynaklanan bir mekanizma ile başladığını ve "pozitif feed back" ile serbest radikallerin artışına sebep olduğu gösterilmiştir. Viscum album(VA) çeşitli biyolojik aktif maddeler içeren bir bitkidir ve bu bitkinin antioksidan etkileri bilinmektedir. Probiyotikler(pro) ise barsak mikrobiyotasının gelişmesinde önemli rol oynar ve böylelikle CCl₄ gibi toksik maddelerin olumsuz etkilerini azaltıp VA'nın terapötik etkilerini arttıracakı düşünülmüştür. Hem oksijenaz-1 (HO-1), strese tepki veren bir enzimdir. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), serbest radikal kaynaklı oksidatif lezyonların baskın formlarından biridir ve oksidatif stres ve karsinogenez için bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada 56 adet wistar rat kullanılmıştır, bunlar; Kontrol, Kronik Hasar (k) CCl₄, (k) CCl₄+VA, (k) CCl₄+VA+Probiyotik, Akut Hasar (a) CCl₄, VA+CCl₄ (a), VA+Probiyotik+CCl₄ (a) olmak üzere yedi grup oluşturulmuştur. Hayvanlardan karaciğer doku ve kan örnekleri alındıktan sonra dokuda ve plazmada lipit peroksidasyon düzeyi belirteci olarak Malondialdehit (MDA), oksidatif stres parametrelerinden doku ve tam kan Glutatyon (GSH) seviyeleri ve doku Katalaz (KAT) aktiviteleri ölçüldü. Serumdan ise rutin biyokimya ile HO-1 ve 8-OHdG seviyeleri ölçüldü. Viscum album'un metanollü ekstresi 300mg/kg ve probiyotik bakteriler oral yolla verilmek üzere hazırlandı. Kronik hasar grubuna 1 ml/kg CCl₄, akut hasar grubuna 2ml/kg CCl₄ i.p. olarak enjekte edildi.

Kronik hasar gruplarındaki karaciğer KAT aktivitesine bakıldığında CCl₄ (C) grubu ile kıyaslandığında VAPC (VA+Pro+CCl₄) grubunda anlamlı bir yükseliş vardır(p<0.05). Kronik hasar gruplarındaki karaciğer MDA düzeyleri C grubu ile kıyaslandığında VAPC grubundaki seviyeler anlamlı olarak azalmıştır(p<0.001). Akut hasar gruplarındaki plazma ve karaciğer MDA düzeyleri C grubuna göre VA+CCl₄(VAC) ve VAPC gruplarında anlamlı şekilde azaldı(p<0.01,p<0.001). Kronik hasar HO-1 düzeyleri incelendiğinde C grubuna göre VAPC grubunda anlamlı bir yükseliş vardır(p<0.01).

Sonuç olarak bu çalışmada CCl₄ hasarı ile oluşturulmuş kronik ve akut karaciğer hasarında, VAPC grubu, genel anlamda VAC grubuna göre daha etkili olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Viscum album, Probiyotik, Oksidatif stres, CCl₄, Karaciğer hasarı

Summary

In this study, protective and therapeutic effects of *Viscum album* and probiotics against oxidative stress induced liver damage caused by carbon tetrachloride (CCl₄) were investigated.

It has been shown that lipid peroxidation starts with a mechanism originating from free radicals and causes an increase in free radicals by "positive feed back". *Viscum album* (VA) is a plant that contains a variety of biologically active substances and its antioxidant effects are known. Probiotics (pro) play an important role in the development of intestinal microbiota, thus reducing the negative effects of toxic substances such as CCl₄ and eventually it will increase the therapeutic effects of VA. Heme oxygenase-1 (HO-1) is a stress response enzyme 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) is one of the dominant forms of free radical-derived oxidative lesions and is used as a biomarker for oxidative stress and carcinogenesis.

In this study, 56 male wistar rats were divided into 7 groups, including Control, Chronic Damage (k) CCl₄, (k) CCl₄ + VA, (k) CCl₄ + VA + Probiotic, Acute Damage (a) CCl₄, VA + CCl₄ (a), VA + Probiotic + CCl₄ (a). After liver tissue and blood samples were taken from the animals, tissue and whole blood Glutathione (GSH) levels, tissue KATalase (KAT) activities and tissue and plasma malondialdehyde (MDA) oxidative stress parameters were measured. Routine biochemical and HO-1 and 8-OHdG levels were measured in the serum. The methanolic extract of *Viscum album* was prepared for 300 mg/kg and probiotic bacteria giving for oral administration. CCl₄ 1ml/kg was injected in the chronic damage group, and 2ml/kg was injected in the acute injury group.

When the CAT activity in chronic damage groups was examined, there was a significant increase in VAPC group compared to group C ($p < 0.05$). Liver MDA levels in chronic damage groups significantly decreased in VA + Pro + CCl₄ (VAPC) group compared to group C ($p < 0.001$). Plasma and liver MDA levels in acute injury groups decreased significantly in VA + CCl₄ (VAC) and VAPC groups according to C group ($p < 0.01$, $p < 0.001$). When chronic damage HO-1 levels were examined, there was a significant increase in VAPC group compared to group C ($p < 0.01$).

In conclusion, in this study, VAPC group was found to be more effective than VAC group in chronic and acute liver injury caused by CCl₄ damage.

Keywords: *Viscum album*, Probiotic, Oxidative stress, CCl₄, Liver damage

İçindekiler

ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLO DİZİNİ.....	vii
GRAFİK DİZİNİ.....	viii
ŞEKİL DİZİNİ.....	ix
SİMGE VE KISALTAMALAR DİZİNİ.....	x
1 - GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 - GENEL BİLGİLER	2
2.1 - <i>Viscum album</i>	2
2.1.1 - <i>Viscum album</i> 'un biyokimyasal olarak aktif bileşenleri.....	3
2.1.2 - <i>Viscum album</i> 'un farmakolojik özellikleri	3
2.1.2.1 - <i>Viscum album</i> 'un kardiyovasküler sistem üzerine etkileri	4
2.1.2.2 - <i>Viscum album</i> 'un antikanser etkileri	5
2.1.2.3 - <i>Viscum album</i> 'un hipoglisemik etkileri	6
2.1.2.4 - <i>Viscum album</i> 'un antioksidan aktivitesi	6
2.2 - Probiyotikler	7
2.2.1 - İnsanda mikrobiyal flora	7
2.2.2 - Probiyotiklerin tanımı	7
2.2.3 - Probiyotiklerin genel işlevleri	7
2.2.4 - Probiyotiklerin biyokimyasal etkileri	8
2.3 - Karaciğer hasarı.....	8
2.3.1 - Karaciğer hasarında biyokimyasal bulgular	8
2.3.2 - Karbon tetraklorür (CCl ₄)	9
2.4 - DNA hasarı ve oksidatif stres biyomarkerları	9
2.4.1 - Hem oksijenaz 1 (HO-1)	9
2.4.2 - 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)	10
2.5 - Oksidatif stres	11
2.5.1 - Serbest radikaller	12
2.5.2 - Antioksidan savunma sistemi	14
2.5.3 - Lipit peroksidasyonu	16
2.5.4 - Glutasyon	17
2.5.5 - Katalaz	18
3 - GEREÇ VE YÖNTEMLER	19
3.1 - Gereç	19
3.1.1 - Deney hayvanları	19
3.1.2 - Doz ve deney grupları	19
3.1.3 - Deney hayvanlarından örneklerin alınması	20
3.1.4 - <i>Viscum album</i> ekstresi	20
3.1.5 - Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar.....	20
3.2 - Çalışılan yöntemler	22
3.2.1 - Malondialdehit (MDA) düzeyinin ölçümü ve prensibi	22

3.2.2 – Glutasyon (GSH) düzeyinin ölçümü ve prensibi	24
3.2.3 – Katalaz (KAT) enzim aktivitesinin ölçümü ve prensibi	26
3.2.4 – 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OhdG) ölçümü	28
3.2.5 – Hem Oksijenaz (OH-1) ölçümü	30
3.2.6 – Protein düzeyinin ölçümü	32
3.3 – İstatistiksel analiz	33
4 - BULGULAR	34
4.1 - Biyokimyasal bulgular	34
4.2 – Histolojik bulgular	60
5 - TARTIŞMA	69
6 - SONUÇ VE ÖNERİLER	78
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	79



Tablo Dizini

Tablo 2.1 Serbest radikallerin radikal olmayanlarla radikal oluşturmak için girdikleri reaksiyonlar	11
Tablo 2.2 Bazı serbest radikaller ve simgeleri	12
Tablo 2.3 Serbest radikal oluşturan mekanizmalar	13
Tablo 2.4 Etki yerlerine göre antioksidanlar.....	16
Tablo 3.1 MDA ölçümü deney prosedürü	23
Tablo 3.2 GSH ölçümü deney prosedürü	25
Tablo 3.3 KAT enzim aktivitesi ölçümü deney prosedürü	27
Tablo 3.4 Protein ölçümü deney prosedürü	32
Tablo 4.1 KH Total bilirubin(mg/dL)	34
Tablo 4.2 KH Direkt bilirubin(mg/dL)	34
Tablo 4.3 KH Total protein(g/dL)	35
Tablo 4.4 KH Albumin(g/dL)	35
Tablo 4.5 KH AST aktivitesi (U/L)	36
Tablo 4.6 KH ALT aktivitesi (U/L)	36
Tablo 4.7 KH ALP aktivitesi (U/L)	37
Tablo 4.8 KH LDH aktivitesi(U/L)	37
Tablo 4.9 KH Trigliserid düzeyleri(mg/dL)	38
Tablo 4.10 KH Kolesretol düzeyleri(mg/dL)	38
Tablo 4.11 KH LDL düzeyleri(mg/dL).....	39
Tablo 4.12 KH HDL düzeyleri(mg/dL)	39
Tablo 4.13 KH Gruplarında tam kan GSH düzeyleri (mikromol/mL)	40
Tablo 4.14 KH Gruplarında karaciğer GSH düzeyleri (mikromol/mg protein).....	41
Tablo 4.15 KH Gruplarında karaciğer MDA düzeyleri (nmol/mg protein).....	42
Tablo 4.16 KH Gruplarında plazma MDA düzeyleri (nmol/mL)	43
Tablo 4.17 KH Gruplarında karaciğer KAT aktivitesi (U/mg protein)	44
Tablo 4.18 KH Gruplarında serum HO-1 düzeyleri (ng/mL)	45
Tablo 4.19 KH Gruplarında serum 8-OHdG düzeyleri (ng/mL)	46
Tablo 4.20 AH Total bilirubin(mg/dL)	47
Tablo 4.21 AH Direkt Bilirubin(mg/dL)	47
Tablo 4.22 AH Total protein(g/dL)	48
Tablo 4.23 AH Albumin(g/dL)	48
Tablo 4.24 AH AST aktivitesi(U/L)	49
Tablo 4.25 AH ALT aktivitesi (U/L)	49
Tablo 4.26 AH ALP aktivitesi (U/L)	50
Tablo 4.27 AH LDH aktivitesi (U/L)	50
Tablo 4.28 AH Trigliserid düzeyleri(mg/dL)	51
Tablo 4.29 AH Kolesretol düzeyleri(mg/dL)	51
Tablo 4.30 AH LDL düzeyleri(mg/dL)	52
Tablo 4.31 AH HDL düzeyleri(mg/dL)	52
Tablo 4.32 AH Gruplarında tam kan GSH düzeyleri (mikromol/mL)	53

Tablo 4.33 AH Gruplarında karaciğer GSH düzeyleri (mikromol/mg protein).....	54
Tablo 4.34 AH Gruplarında karaciğer MDA düzeyleri (nmol/mg protein) ...	55
Tablo 4.35 AH Gruplarında plazma MDA düzeyleri (nmol/mL)	56
Tablo 4.36 AH Gruplarında karaciğer KAT aktivitesi (U/mg protein)	57
Tablo 4.37 AH Gruplarında serum HO-1 düzeyleri (ng/mL)	58
Tablo 4.38 AH Gruplarında serum 8-OHdG düzeyleri (ng/mL)	59



GRAFİK DİZİNİ

Grafik 3.1 MDA standart kalibrasyon grafiği.....	24
Grafik 3.2 GSH standart kalibrasyon grafiği	26
Grafik 3.3 8-OHdG standart kalibrasyon grafiği	29
Grafik 3.4 HO-1 standart kalibrasyon grafiği.....	31
Grafik 3.5 BSA standart kalibrasyon grafiği	33
Grafik 4.1 KH Total Bilirubin grafiği (mg/dL)	34
Grafik 4.2 KH Direkt Bilirubin grafiği (mg/dL)	34
Grafik 4.3 KH Total Protein grafiği (g/dL)	35
Grafik 4.4 KH Albumin grafiği (g/dL)	35
Grafik 4.5 KH AST grafiği (U/L)	36
Grafik 4.6 KH ALT grafiği (U/L)	36
Grafik 4.7 KH ALP grafiği (U/L)	37
Grafik 4.8 KH LDH grafiği (U/L)	37
Grafik 4.9 KH Trigliserid grafiği (mg/dL)	38
Grafik 4.10 KH Kolesretol grafiği (mg/dL)	38
Grafik 4.11 KH LDL grafiği (mg/dL)	39
Grafik 4.12 KH HDL grafiği (mg/dL)	39
Grafik 4.13 KH Gruplarında tam kan GSH grafiği (mikromol/mL)	40
Grafik 4.14 KH Gruplarında karaciğer GSH grafiği (mikromol/mg protein)....	41
Grafik 4.15 KH Gruplarında karaciğer MDA grafiği (nmol/mg protein)	42
Grafik 4.16 KH Gruplarında plazma MDA grafiği (nmol/mL)	43
Grafik 4.17 KH Gruplarında karaciğer KAT aktivitesi (U/mg protein)	44
Grafik 4.18 KH Gruplarında serum HO-1 grafiği (ng/mL)	45
Grafik 4.19 KH Gruplarında serum 8-OHdG grafiği (ng/mL)	46
Grafik 4.20 AH Total Bilirubin grafiği (mg/dL)	47
Grafik 4.21 AH Direkt Bilirubin grafiği (mg/dL)	47
Grafik 4.22 AH Total Protein grafiği (g/dL)	48
Grafik 4.23 AH Albumin grafiği (g/dL)	48
Grafik 4.24 AH AST grafiği (U/L)	49
Grafik 4.25 AH ALT grafiği (U/L)	49
Grafik 4.26 AH ALP grafiği (U/L)	50
Grafik 4.27 AH LDH grafiği (U/L)	50
Grafik 4.28 AH Trigliserid grafiği (mg/dL)	51
Grafik 4.29 AH Kolesretol grafiği (mg/dL)	51
Grafik 4.30 AH LDL grafiği (mg/dL)	52
Grafik 4.31 AH HDL grafiği (mg/dL)	52
Grafik 4.32 AH Gruplarında tam kan GSH grafiği (mikromol/mL)	53
Grafik 4.33 AH Gruplarında karaciğer GSH grafiği(mikromol/mg protein)	54
Grafik 4.34 AH Gruplarında karaciğer MDA grafiği (nmol/mg protein).....	55
Grafik 4.35 AH Gruplarında plazma MDA grafiği (nmol/mL)	56
Grafik 4.36 AH Gruplarında karaciğer KAT aktivitesi (U/mg protein)	57
Grafik 4.37 AH Gruplarında serum HO-1 grafiği (ng/mL)	58

Grafik 4.38 AH Gruplarında serum 8-OHdG grafiği (ng/mL)59



Şekil Dizini

Şekil 1. <i>Viscum album</i> 'un konakçı üzerindeki hali.....	2
Şekil 2.1. CCl ₄ metabolizması ve reaktif metabolitlerin oluşumu.....	9
Şekil 2.2. HO-1 mekanizması	10
Şekil2.3. 8-OHdG mekanizması	10
Şekil 2.1 Serbest radikal toksisitesi.....	16
Şekil 2.2 Glutasyon yapısı.....	17
Şekil 2.3 Glutasyonun antioksidan aktivitesi	18
Şekil 2.4 Katalaz katalizörlüğündeki reaksiyon	18
Şekil 3.1 TBA ile MDA arasındaki tepkime	22
Şekil 4.2.1 K grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	60
Şekil 4.2.2 KH C grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	60
Şekil 4.2.3 KH VAC grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	61
Şekil 4.2.4 KH VAPC grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü.....	61
Şekil 4.2.5 AH C grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	62
Şekil 4.2.6 AH VAC grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	62
Şekil 4.2.7 AH VAPC grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	63

Simge ve Kısaltmalar Dizini

8-OHdG	8-Hidroksi-deoksiguanozin
A	Absorbans
ADP	Adenozin difosfat
AH	Akut hasar
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
ATP	Adenozin trifosfat
BSA	Bovin serum albümin
C	CCl ₄ grubu
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CCl ₄	Karbontetraklorür
cGC	Siklik guanilat siklaz
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
DF	Dilüsyon faktörü
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DTNB	5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	Enzim bağlı immünosorbent analiz
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
ESOGÜ	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FMN	Flavin mononükleotid
GMP	Guanozin monofosfat
GSH	Glutasyon
HO-1	Hem Oksijenaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HADYEK	Hayvan deneyleri yerel etik kurulu
HETAB	Hekzadesil trimetil amonyum bromid
HOCl	Hipoklorik asit
i.p.	İntraperitoneal
K	Kontrol
KH	Kronik hasar
VA	Viscum album
VAC	Viscum album + CCl ₄ hasar grubu
VAPC	Viscum album + Probiyotik + CCl ₄ hasar grubu
KAT	Katalaz
MDA	Malondialdehit
NADP	Nikotinamid difosfat
NADPH	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit

NOS	Nitrik oksit sentaz
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SOD	Süperoksit Dismutaz
SPSS	Sosyal bilimler için istatistiki paket
t	Reaksiyon süresi
TBA	Tiyobarbitürik asit
TG	Trigliserit
TICAM	Tıbbi bilimler deneysel araştırma ve uygulama merkezi
TMB	Tetrametil benzidin
UV	Ultra viyole
Ve	Örnek hacmi
Vt	Toplam hacim
WHO	Dünya sağlık örgütü
ϵ	Ekstinksiyon katsayısı

1 - GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde birçok hastalığın temelinde antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması vardır. İnsanların antioksidan savunma sistemini güçlendirdiğimizde vücudun çevresel etkenlere karşı direnci artmakta ve hastalık riski azalmaktadır.

Viscum album (ökseotu) birçok teröpatik etki göstermektedir. Avrupa ve Amerika'da antikanser ilaç olarak kullanılan bu bitki ülkemizde henüz ilaç olarak kullanılmamaktadır. Antikanser etkilerinin yanı sıra karaciğer hasarının da önlenmesinde ve bu hasarın iyileştirilmesinde potansiyel etkilere sahiptir.

Viscum albumun antioksidan, anti-kanser etkileri ve hipertansiyon, kalp rahatsızlığı, böbrek yetmezliği ve kanser gelişimini hafiflettiği bilinmektedir. Probiyotikler ise barsak mikrobiyotasının gelişmesinde önemli rol oynar ve böylelikle CCl₄ gibi toksik maddelerin olumsuz etkilerini azaltıp VA'nın terapötik etkilerini arttıracakları düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda, günümüzde birçok kişinin barsak florasının bozulmuş olduğu gösterilmiştir. Bozulmuş olan bu floranın iyileştirilmesi hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli bir yere sahiptir (Doğan 2011).

Vücut her hangi bir ajana maruz kaldığında vücudun bu ajana tepkisi hızlanmaktadır. Viscum album potansiyel olarak hepatoprotektif bir ilaç olarak kullanılabilir (Jung ve ark. 2013). Probiyotiklerin de karaciğer koruyucu etkisi gözlemlenmiştir. Probiyotiklerin barsak mikrobiyotasını geliştirdiği bu sebeple de emilimi ve sindirimi etkilediği bilinmektedir (Doğan 2011).

Teknolojinin gelişmesi, fabrikalaşma, kozmetik, temizlik ürünleri ve endüstriyel besinler ile birçok kimyasala maruziyetimiz artmaktadır. Bu durumu minimize etmek ve maruz kaldığımız bu kimyasalların olumsuz etkilerini azaltmak için probiyotik bakteriler ve çeşitli tıbbi bitkilerden yardım almak günümüz şartları için önemlidir.

Oral yolla alınan ilaçların optimum etkinlik gösterebilmesi için uygun barsak florasının sağlanmış olması gerektiğiyle ilgili çalışmalar devam etmektedir, bu nedenle probiyotiklerin Viscum albumun etkilerini arttırabileceği düşünüldüğünden bu deney tasarlanmıştır. Viscum albumun ve probiyotiklerin koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırılmıştır.

2 - GENEL BİLGİLER

2.1 – *Viscum album*

Viscum album çeşitli biyolojik aktif maddeler(flavonoidler, lektinler ve viskotoksinler vb) içeren yarı parazit bir bitkidir (Şekil 1) (Culcu T. 2015). *Viscum album* Loranthaceae ailesine aittir. Bitkinin, tüm dünyada en genel olarak bilinen adı "mistletoe"dur. Ayrıca "Korean mistletoe", "Californian mistletoe" olarak adlandırılan türler de rapor edilmiştir. "Mistletoe" kelimesi, her derde deva anlamına gelen bir kelimedenden türetilmiştir. Türkçede kullanılan "ökseotu" ismi ise, eski zamanlarda bu bitkinin meyvelerindeki yapışkan maddeden (vissin) yapılan ve kuş tuzağı olarak kullanılan ökseden gelmektedir.

Ökse otundan hazırlanan ekstreler tedavi amacıyla kullanılmak üzere Almanya, Avusturya ve İsviçre'deki çeşitli firmalar tarafınca tüm dünyaya pazarlanmaktadır. Bu ticari ürünler bir çok araştırmaya konu olmuş ve sahip oldukları aktiviteleri bilim çevrelerince de desteklenmiştir. Bitkinin toplandığı yer ve zaman, bitki ekstresinin hazırlanma şekli ve bitkinin üzerinde yaşadığı konakçı ağacın türü bu ekstrelerin kimyasal içeriğinin farklılık göstereceği vurgulanmaktadır (Çetin E. 2011).



Şekil 1. *Viscum album*'un konakçı üzerindeki hali.

2.1.1 - *Viscum album*'un biyokimyasal olarak aktif bileşenleri

Ökseotunun kimyasal içeriğine yönelik ilk araştırma 1860 yılında Reinsch tarafından gerçekleştirilmiştir (Franz, 1985). Viscin adını verdiği meyvelerde bulunan yapışkan maddeyi analiz etmiştir. Bu sayede *Viscum album*'un çeşitli aktif bileşiklerin zengin bir kaynağı olduğunu biliyoruz.

Lektinler, alkaloidler, flavonoidler, viskotoksinler, polisakkaritler, fenolik asitler, fenilpropanlar poliholozitler, ve lignanlar ökse otundaki aktif bileşenlerdir. Lektinler ve viskotoksinler bitkinin sitotoksik etkisinin ortaya konulduğu çalışmalarda ön plana çıkmaktadır (Ergun ve Deliorman 1995, Çetin E. 2011).

Miktarlar ve biyolojik olarak aktif olan *Viscum album* bileşikleri, konak ağacı ve hasat zamanına bağlı olarak büyük değişkenlik gösterebilir. 9 niceliksel bileşim ile ilgili olarak, alt türlerin belirli içeriği üzerinde sadece birkaç çalışma yapılmıştır; viskotoksinler (Schaller ve ark. 1998), fenilpropanoidler (Deliorman, 1999) ve flavonoidler (Lorch, 1993) karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve alt türlere bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu bitkinin yaprak ve dallarının ursolik asit, kaempferol, quercetin, peçtin, beta - sitosterol, syringin ve lektinleri ana bileşenler olarak içerdiği bildirilmiştir (Ergun ve Deliorman, 1995, Suveren E.2013).

2.1.2 – *Viscum album*'un farmakolojik özellikleri

Bitkilerin ilaç, besin ve kozmetik amaçlı kullanımı insanlık tarihinin başlangıcından günümüze kadar gelmiştir. Bitkisel kaynaklı ilaç tedavisi, geçmişte başka alternatiflerin bulunmaması, sentetik ilaçları üretebilecek teknolojinin gelişmemesi gibi nedenlerden o zamanlarda sağlık alanında çok önemli yeri vardı. Çeşitli hastalıkların tedavi edilmesi amacıyla bitkilerin kullanılması ve her bitkiye ait spesifik özellikler insanlar tarafından keşfedilmesi bu teknoloji ile geliştirilmiştir (Baytop, 1999). Günümüzde 20000'den fazla bitki alternatif tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bu gelişmeler sayesinde hastalıklara karşı ilaç veya etken madde keşfi son derece önem kazanmıştır (Temur N. 2006).

Geleneksel tıpta kullanılan çeşitli bitki ve sebzelerin terapötik etkileri genellikle antioksidan bileşiklerine atfedilir. Antioksidanlar aynı zamanda gıda kalitesini korumak için de kullanılırlar, çünkü lipidlerin oksidatif bozulmasını önlerler. Güvenlik kaygıları nedeniyle artık bitkisel bazlı antioksidanlar sentetik olanlara tercih edilmektedir. Bir bitkinin kimyasal bileşiminin bir profili ile birlikte antioksidan aktivitesi bilgisi, terapötik potansiyelinin makul bir tahminini verecektir (Akinmoladun ve ark., 2007). *Viscum album* özleri de

oksijen içermeyen radikallerin zararlı ve mutajenik etkilerini azaltabilir. Bitkilerin tıbbi etkileri, çoğunlukla fenolik olan fitokimyasal bileşenlerin antioksidan aktivitesine bağlanır. Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri, indirgen maddeler, metal şelatlayıcılar ve serbest radikal söndürücüler olarak işlev görmelerine izin veren redoks özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Rice-Evans ve diğerleri, 1996; Oboh, 2006; Oboh ve Rocha, 2007).

Viscum album L., çeşitli hastalık ve bozuklukları önlemek veya tedavi etmek için alternatif tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de diyabet ve diyabette kardiyak bozukluklar ve hipertansiyon için kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Gençler-Özkan ve Koyuncu, 2005). Ek olarak, *Viscum album* L.'nin preparatları Avrupa'da adjuvan kanser tedavisinde klinik olarak kullanılmış ve bu nedenle 1926'dan beri bitki üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Yesilada ve ark. 1998, Sever, M 2012).

Şimdiye kadar belgelenmiş olan farmakolojik çalışmalar, *Viscum album* L.'nin bağışıklık uyarıcı, kardiyotoksik ve sitotoksik yeteneklerine odaklanmıştır (Gupta ve ark., 2012).

2.1.2.1 - *Viscum album*'un kardiyovasküler sistem üzerine etkileri

Wagner ve ark. (1986), *Viscum album*da flavanoidlerin, fenol karboksilik asitlerin, fenil propanların ve lignanın olası kardiyovasküler aktivite türevleri olarak kabul edildiğini ve ayrıca *Viscum album*un butanolik ekstraktlarının CAMP – fosfodiesterazın (PDE) inhibisyonunda rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

DeneySEL bir çalışmada, *Viscum album*'ünün zemin yapraklarından izole edilen GABA'nın, anestezi uygulanmış farelerin kan basıncında keskin bir azalma sağladığı bildirilmiştir (Samulsen, 1959).

Benzer şekilde, birkaç araştırma, hipertansiyonun ökseotu tedavisi ile başarılı bir şekilde yönetilebileceğini düşündürmektedir (Yucesan, 1988; Khosh ve Khosh, 2001; Thompson, 2003).

Ofem ve ark. (2006), ham su yaprağı ekstresinin etkilerinin sıçanlarda kalp hızında herhangi bir değişiklik olmaksızın antihipertansif etki yarattığını göstermiştir. Başka bir çalışma, *Viscum album*den elde edilen ham ekstrenin, doza bağımlı bir şekilde normotansif ve hipertansif sıçanlarda kan basıncının düşmesine neden olduğunu göstermiştir (Eno ve ark. 2004).

Tenorio ve ark. (2005), langendoorffs'in izole ve perfüze kalp modelini kullanarak *Viscum album*'un sulu ekstraktının önemli bir koroner vazodilatör aktivitesini göstermiştir.

2.1.2.2 - *Viscum album*'un antikanser etkileri

1916'da Rudolf Steiner ilk kez kanser tedavisi için ökseotu ekstrelerinin kullanımını önerdi. *Viscum album*, Anthroposofic (tinsel bilim-felsefe) tıbbında kanser bakımında lider çözüm olarak merkezi rolüyle dikkat çekmiştir. İlk Antroposluk hekimlerinden biri olan Ita Wegman (1876–1943) önerisini aldı ve Zürich'de bir eczacı ile ilk ökseotu ilacı olan İscar, 1926'da Iscador olarak yeniden isimlendirildi. Ökseotu tedavisi en iyi bilinen Antroposofik terapi haline gelmiştir ve Orta Avrupa'daki Almanlarda şu anda kanser için en sık reçete edilen tamamlayıcı terapilerden biridir.

Akciğer, kolon, mide v.s kanseri gibi çeşitli kanser vakası olan 10,226 hasta üzerinde yapılan çalışmada; ilaç haline getirilmiş *Viscum album* ekstreleri ile tedavi uygulanan hastaların uygulanmayanlara göre 40 % daha uzun süre hayatta kaldıkları tespit edilmiştir (Grossarth, 2001).

Laboratuar çalışmaları, *Viscum album* ekstresinin kanser hücresi apoptozunu (Khil ve ark. 2007), sitotoksik aktiviteyi (Valentiner ve ark. 2002), periferik kan mononükleer hücrelerinde DNA tamirini (Kovacs, 2002), anjiyogenez inhibisyonunu (Elluru ve ark. 2009), kanser hücre çizgilerinde antiproliferatif etkiler (Urech ve ark. 2006), insan dendritik hücrelerinin olgunlaşması ve aktivasyonu (Elluru ve ark. 2008) ve GM-CSF, IL-5 ve IFNgamma üretiminin uyarılması (Huber ve ark. 2005) göstermiştir.

Bugüne kadar bu biyolojik işlevler hakkında belgelenen farmakolojik araştırmalara dayanarak, *Viscum album* L. (VA) preparatları, kanserin tamamlayıcı bir tedavisi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. *Viscum album*un anti-tümör aktivitesini anlamak için yapılan bir çalışmaya göre, apoptosisi indükleyerek ve anjiyojenezi ve diğer birçok immüno-modülatör mekanizmayı inhibe ederek anti-tümör aktivitesi sergiler (Hedge ve ark. 2011).

Ostermann ve ark. (2009), klinik çalışmaların birleştirilmiş analizini rapor etmiş ve adjuvan *Viscum* tedavisinin kanser hastalarının daha iyi bir sağkalım oranı ile ilişkili olduğunu ileri sürmüştür.

Yine de, 2008 yılında Horneber ve ark. Tarafından yayınlanan Cochrane Database sistematik bir derlemesi *Viscum album* sağkalım üzerindeki etkisini desteklemek için randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen kanıtların zayıf olduğu ve *Viscum*'un güvenliğini ve etkinliğini değerlendirmek için daha yüksek kalitede, bağımsız bir klinik araştırmaya ihtiyaç duyduğu sonucuna varılmıştır (Horneber ve ark. 2008).

2.1.2.3 - *Viscum album*'un hipoglisemik etkileri

Viscum album yaprakları ekstraktlarının diyabet semptomlarını hafifletmek için faydalı etkileri olduğu bildirilmiştir (Gray ve Flatt, 1999; Orhan ve ark. 2005). *Viscum album* sıçanlardaki ağır hiperglisemik semptomları hafifletmek için de kullanıldığı gösterilmiştir (Swanston-Flatt ve diğerleri, 1989).

Viscum album ekstresinin glisemik kontrol üzerindeki etkisi, polidipsi, hiperfaji ve vücut kilo kaybı dahil olmak üzere ağır hiperglisemik streptozotosin-diyabetik farelerin diyabetik semptomlarını hafifletti (Swanston-Flatt ve arkadaşları, 1989). *Viscum album* ekstresi yapraklarının, dünyadaki yerel ilaçlarda diyabet semptomlarını hafifletmek için yararlı etkilere katkıda bulunan antidiyabetik özelliklere sahip insülin salıcı doğal ürün varlığına bildirilmiştir (Gray ve Flatt, 1999; Burger ve ark., 2001).

Ökseotu yapraklarının diyabet belirtilerini hafifletmek için faydalı bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Gray & Flatt, 1999). *Viscum album*un hipoglisemik özellikleri Ohiri ve ark. (2003) Tarafından alloksan kaynaklı diyabetik hayvanlarda gösterilmiştir.

2.1.2.4 - *Viscum album*'un antioksidan aktivitesi

Son yıllarda, başta bitkilerden olmak üzere doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlar, oksidatif hasarı önlemek için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Doğal antioksidanların sentetik olanlara göre bazı avantajları vardır. Kolayca, ekonomik olarak elde edilebilir ve hafif veya ihmal edilebilir yan etkilere sahip olabilirler.

Viscum album ekstrelerinin antioksidan aktivitesi, subakut streptozotosin (STZ) ile uyarılan diyabetik sıçanların karaciğer, böbrek ve kalp dokularında da çalışılmıştır. Avrupa ökseotu (*Viscum album* L.) alt türlerinin konakçı bitkiye bağlı olarak güçlü antihiperglisemik ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Orhan ve ark. 2005).

Önemli tıbbi değerlere sahip olan bitkilerin fenolik olarak zengin olduğu ve yüksek antioksidan potansiyele sahip oldukları bulunmuştur (Akinmoladun ve ark., 2007). Çeşitli çalışmalarda diabetes mellitusun artmış serbest radikal oluşumu ve antioksidanlarda azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Rahimi ve ark. 2005). *Viscum album*, hidroperoksit oluşumuna karşı radikal süpürücü aktivite ve koruyucu etkiye sahiptir (Onay-Ucar ve ark. 2006).

2.2 – Probiyotikler

2.2.1 - İnsanda mikrobiyal flora

İnsan vücudunda insan hücre sayısının (10^{13}) 10–20 katı kadar prokaryotik hücre bulunmaktadır. Sağlıklı bireylerin bağırsaklarındaki mikroorganizma türü ve sayısı 500'den fazladır ve büyük çocuk ile erişkinlerdeki vücut ağırlığının 1-2 kg kadarını oluşturmaktadır. İntestinal flora her barsakta kalitatif ve kantitatif olarak farklıdır ayrıca yaş, diyet, genetik ve çevresel faktörlerle de etkilenir (Scarpelloni E. Ve ark. 2010).

2.2.2 - Probiyotiklerin tanımı

Probiyotik kelimesi yunanca bir kelime olup "yaşam için" anlamına gelir. Yirminci yüzyılın başında, Nobel ödülü sahibi Elie Metchnikoff, canlı bakterilerin yoğurt şeklinde tüketilmesinin GIS sağlığını iyileştirdiğini ve yaşamı uzattığını bildirmiştir (Metchnikoff E. 1908).

Besinlerle birlikte ya da ayrı olarak alınan, mukozal ve sistemik immüniteyi düzenleyen, bağırsaklarda besinsel ve mikrobiyal dengeyi sağlayan ve konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen bu canlı mikroorganizmalara "probiyotik" denir. İlk olarak 1965 yılında Lilly ve Stillwell tarafından "bir mikroorganizma tarafından salgılanarak diğer bir mikroorganizmanın çoğalmasını uyaran maddeler" anlamında ve "antibiyotik" teriminin karşıtı olarak kullanılmıştır (Kaur IP ve ark. 2002).

Probiyotikler barsak mikrobiyotasının gelişmesinde önemli bir rol oynar. Probiyotiklerin işlevleri nutrisyonel, bozulmuş bariyer fonksiyonunun yeniden kazandırılması, kolesterol seviyelerinin düşürülmesi, kabızlığın hafifletilmesi, bağırsak motilitesinin düzenlenmesi, bağışıklık sisteminin uyarılması, patojen kolonizasyonunun önlenmesi, mukozanın beslenmesini, dolaşımının sağlanması ve mukozal bütünlüğün devam ettirilmesi şeklinde özetlenebilir.

2.2.3 – Probiyotiklerin genel işlevleri

1. Patojen bakterilerin sayılarının azaltılması
2. Doğal bağışıklığın uyarılmasının ve bağışıklık sisteminin iyileştirilmesi
3. Besin ve prebiyotik ürünler için patojen bakterilerle yarışmak
4. Antibakteriyel maddeleri üretmek
5. Bağırsak bariyer bütünlüğünün korunmasını sağlamak ve bağırsak yüzeyine yapışmak
6. Anti-inflamatuvar sitokinlerin regülasyonunu sağlamak ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini engellemek
7. Mikrobiyal metabolizmada değişiklik yapmak

8. Toksinlere ve toksin reseptörlerine etki etmek
9. Enzim aktivitesini etkilemek ve enzim taşınımını sağlamak
10. Antimutajenik ve antijenotoksik etki göstermek (Işık M. 2016).

2.2.4 - Probiyotiklerin biyokimyasal etkileri

İntestinal mikrobiyota normal immün sistemin gelişmesi, barsakların yabancı cisimler ve bakteriler için doğal bariyer oluşturması, vitaminin sentezi için gereklidir. İntestinal floranın metabolik aktivitesi oldukça yüksek olup karaciğerin metabolik aktivitesine yakındır (Coşkun 2006).

Gastrointestinal sistem epitel hücreleri ile intestinal mikrobiyotanın devamlı iletişim halinde olması konağın barsak gelişimi, beslenmesi, immünitesi ve intestinal epitel homeostazına önemli katkı sağlayan fonksiyonel bir ilişki oluşturur. Karşılaşılan besin antijenlerine, patojen mikroorganizmalara ve çevresel ajanlara karşı intestinal epitel bariyeri, mukozal immün sistem ve intestinal mikrofloranın yardımı ile korunur (Hill HS, Guarner F 2001).

Probiyotikler bakteriler tarafından üretilen maddeler;

Vitaminler: K vitamini, B9, B5, B1, B2, B12, B3 ve B6 vitaminleri. B. bifidum GİS florasında bulunduğunda, B6 vitamini %400 artırır.

Enzimler: Laktaz gibi sindirim enzimleri, bazı karbonhidrat enzimleri, sindirim ve protein enzimleri, yağ enzimleri. Endojen ve ekzojen karbon ve enerji kaynaklarının fermentasyonundan sorumludur.

Uçucu Yağ Asitleri: Besinlere ait yağ asitlerinin kısa zincirleri yardımıyla üretilen bu yağ asitleri sayesinde, optimum düzeyde sindirim için gerekli olan pH dengesi sağlanır. Konak canlıyı patojenlere karşı koruyarak ve immün sistemini güçlendirerek etki gösterirler.

2.3 – Karaciğer Hasarı

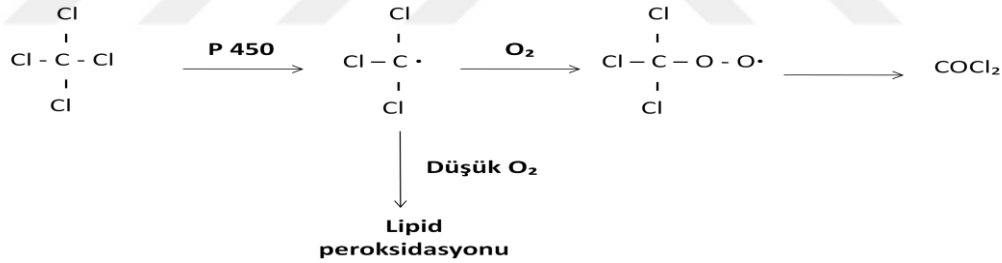
2.3.1 - Karaciğer hasarında biyokimyasal bulgular

Karaciğer hasarlarının çeşidi toksik maddenin türüne, zehirlenme şiddetine ve bu maddeye maruz kalma (akut ya da kronik) tipine bağlıdır. Zarar gören karaciğer hücreleri alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP) gibi kana karaciğere özel enzimler salgılar. AST ve ALT enzimleri hepatosit hasarı biyomarkırları olarak kullanılırken, ALP safra kanalı epitelyum hasarının belirlenmesinde

kullanılır. Bu enzimler genel olarak klinik olarak ve hayvan çalışmalarında hepatotoksisitenin saptanmasında takip edilmektedir. Karaciğer hasarı ALT seviyesinin normal seviyeden üç kat, ALP seviyesinin iki kat daha fazla olması ya da ALP ve ALT seviyelerinin artışı ile ilişkili olarak toplam bilirübin seviyesinin normalden iki kat fazla olması ile tanımlanır (Guicciardi ve ark 2010, Lima ve ark. 2007, Wallace ve ark. 2010).

2.3.2 – Karbon tetraklorür (CCl₄)

Karbon tetraklorür (CCl₄) ile deneysel olarak yapılan hayvan çalışmalarında CCl₄'ün karaciğerde, mitotik aktiviteyi artırdığı, hepatositlerde dejenerasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, hepatik yağ dejenerasyonu, fibrozis, siroz ve kansere sebep olduğu gösterilmiştir. Oluşturduğu karaciğer dejenerasyonu, insandaki siroz gelişim sürecine benzerlik gösterdiğinden CCl₄, kemirgenlerde deneysel çalışmalarda kullanılan bir çeşit kimyasal ajandır. CCl₄'e bağlı karaciğer toksisitesinin oluşmasında oksidatif stres önemli rol oynar. Malon dialdehitleri (MDA), glutatyon (GSH) ve katalaz, oksidatif stresin önemli göstergeleridir. CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarında total kolesterol, trigliserit, HDL, LDL gibi parametrelerinin değişiklik gösterdiği bilinmektedir.



Şekil 2.1. Karbon tetraklorid metabolizması ve reaktif metabolitlerin oluşumu(Wallace, A.D. , Meyer, S.A., 2010, Hepatotoxicity kitabından modifiye edilmiştir)

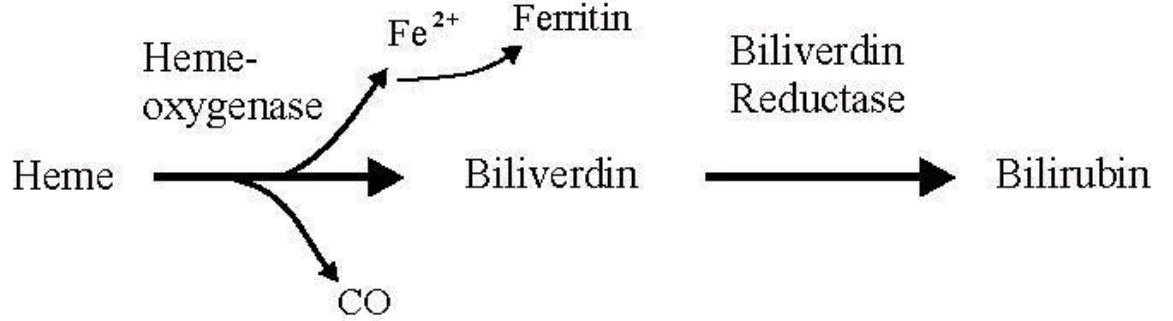
2.4 DNA Hasarı ve Oksidatif Stres Biyomarkerları

Canlı hücre, normal hücre metabolizmasından kaynaklanan veya hücre dışı olabilen potansiyel olarak zararlı serbest radikal türlere maruz kalmaktadır. Bu maruziyet sonucu oksidatif modifikasyona maruz kalan DNA, biyobelirteçleri doğrulamaya en yakın etkiye sahiptir (Evans ve ark. 2009).

2.4.1 Hem oksijenaz 1 (HO-1)

Hem oksijenaz-1 (HO-1), birçok memeli dokusunda yaygın olarak bulunan, strese tepki veren bir enzimdir ve hemin biliverdin, serbest demir ve karbon monoksit parçalanmasından sorumludur. HO-1 ifadesi, hem, ağır

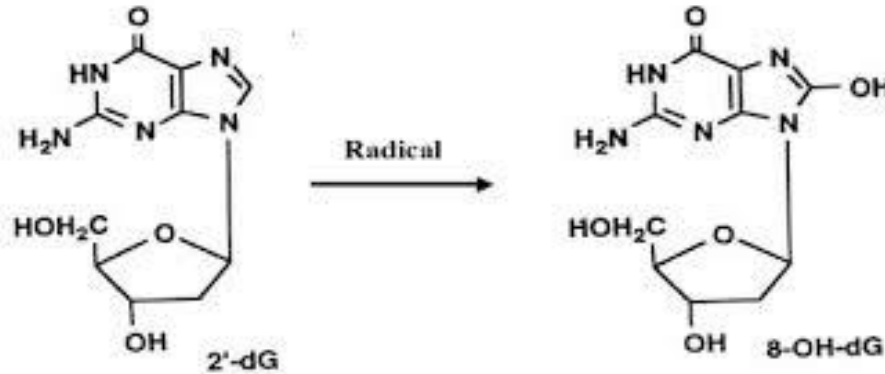
metaller, sitokinler ve kimyasal kanserojenler dahil olmak üzere çok çeşitli uyarılar tarafından uyarılır. Üstelik HO-1'in bir takım kimyasal önleyici ajanların potansiyel hedefi olduğu düşünülmektedir. HO-1 aracılı sitoproteksiyonun, oksidatif strese karşı savunmasız dokular için kritik olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, HO-1, birtakım kimyasal önlem ve sitoprotektif ajanlar için önemli bir hedef olarak kabul edilmektedir (Farombi, E. Olatunde ve ark 2008).



Şekil 2.2. HO-1 mekanizması

2.4.2 - 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)

Oksidatif hasarın hücrel membranlar, proteinler ve DNA lipitleri üzerinde sürekli olarak ortaya çıktığı kapsamlı deneysel kanıtlar vardır. Nükleer ve mitokondriyal DNA'da 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), serbest radikal kaynaklı oksidatif lezyonların baskın formlarından biridir ve bu nedenle oksidatif stres ve karsinogenez için iyi bir biyolojik belirteç olarak yaygın şekilde kullanılır (Valavanidis ve ark. 2009).



Şekil 2.3. 8-OHdG mekanizması

2.5 – Oksidatif Stres

Oksidatif stres, serbest radikal üretimiyle antioksidan savunma arasındaki dengenin bozulması durumunda hücre hasarıyla sonuçlanan bir olaydır (Jenkins, 2000). Normal fizyolojik koşullarda, hücreler, oluşan serbest radikallerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Hava kirliliği, yanmış gıdalar, kimyasal maddelerle etkileşimler ve CCl₄ gibi serbest radikal kaynaklar hücrelerdeki radikal oluşumunu hızlandırarak oksidan-antioksidan dengeyi bozmaktadır (Aslan, şekeröğlü, Gültekin & Bayiroğlu, 1997; Thomas, 1995).

Serbest radikalleri ve reaktif özellik gösteren maddeleri oluşturan ana kaynaklar oksidan veya prooksidan olarak tanımlanır. Radikallerin hücre homeostazını bozmasını önleyen maddeler ise antioksidanlardır. Vücudumuzda fizyolojik aktivite sonucu serbest radikaller sürekli olarak üretilmektedir, bu radikalleri de antioksidan sistem kontrol altında tutmaktadır. Çok hassas olan oksidan-antioksidan dengenin özellikle oksidanlar lehine kayması membran lipitleri, proteinler ve DeoksiriboNükleikAsit (DNA) gibi önemli yapılarda bozulmalara ve patolojik olayların başlamasına sebep olur (Dündar & Aslan, 1999).

Oksidan-antioksidan dengesinin bozulmasında başlıca endojen sebep mitokondrial oksijen hareketleridir. Aşırı oksijene maruz kalınması, litik enzim (hidrolazlar, proteazlar, lipazlar, fosfatazlar gibi) aktivitelerindeki artışlar, kimyasal çevre kirliliğinin olduğu ortamlarda bulunma, yoğun stres, sigara ve CCl₄ maruziyeti gibi durumlar antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalmasına ve oksidan-antioksidan dengenin oksidanlar lehine kaymasına neden olmaktadır (Dündar & Aslan, 1999).

Oksidan-antioksidan dengenin bozulması sonucu zincirleme bir takım reaksiyonlar meydana gelir. Bu zincirleme reaksiyonlarla serbest radikaller, serbest olmayan radikallerle yeni radikaller oluştururlar (Tablo 2.1)(Halliwell, Murcia, Chirico & Aruoma, 1995).

Tablo 2.1 Serbest radikallerin radikal olmayanlarla radikal oluşturmak için girdikleri reaksiyonlar (Dündar & Aslan, 1999)

Reaksiyon Tipi	Genel Gösterim	Örnek
Eklenme	$x + y \longrightarrow [x-y]$	DNA guaninine OH eklenmesiyle 8-hidroksiguanin radikali oluşması
İndirgeme (radikalın elektron vermesi)	$x + y \longrightarrow y^- + x^+$	Paraquat radikalının O ₂ 'ni süperoksit radikaline indirgemesi
Yükseltgeme (radikalın elektron alması)	$x + y \longrightarrow x^- + y^+$	O ₂ ⁻ + H ⁺ \longrightarrow askorbat + H ₂ O ₂ askorbik asitin gösterimindeki gibi yükseltgenmesi
Yükseltgenme (radikalın H atomu alması)	$x + y-H \longrightarrow x-H + y$	Lipid peroksil radikali ile α -tokoferolün reaksiyonu α TH + LOO \longrightarrow LOOH + α T

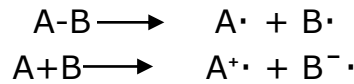
2.5.1 – Serbest radikaller

Dış orbitalinde çiftleşmemiş elektron taşıyan halojenler, alkali metal iyonları, oksijenin indirgeme ara ürünü olan süperoksit, hidrojenperoksit, hidroksil gibi kısa ömürlü ve reaktif olan yapılar serbest radikal olarak tanımlanır (Aslan, şekeröğlü & Bayiroğlü, 1995; Yu, 1994). Bazı serbest radikallerin simgeleri ve isimleri tablo 2.2 de verilmiştir.

Tablo 2.2 Bazı serbest radikaller ve simgeleri

Radikal	Simge	Tanımlama
Hidrojen	H·	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	O ₂ · ⁻	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	OH·	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikal
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O ₂ ⁻	Yarılma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksi radikal	HO ₂ ·	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikal	ROO ⁻	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Triklorometil	CCl ₃	CCl ₄ metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Thyl radikali	RS·	Sülfürlü ve çiftleşmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil	RO·	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit	NO	L- arjinin amino asitinden in vivo üretilir.
Nitrojen dioksit	NO ₂	NO'ın oksijen ile reaksiyonundan üretilir.

Serbest radikallerin oluşmasında iki ana mekanizmadan bahsedilir. Bunlar, hemolitik bağ ayrılması ve elektronun moleküller arası transferidir (Thomas, 1995).



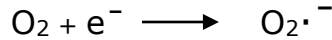
Oluşan serbest radikallerdeki eşleşmemiş elektronlardan dolayı, fazla elektronu başka atomlarla paylaşmaya kadar bu radikaller reaktiftir. Bu yüzden serbest radikaller diğer moleküllerle reaksiyona girme eğilimindedirler. Ancak iki serbest radikalın reaksiyonu ile nötr türler oluşur (Aslan vd., 1995).

Serbest radikallerin oluşmasında bahsedilen hemolitik bağ ayrılması ve elektronun moleküller arası transferi mekanizmalarının özelleşmesiyle şu mekanizmalar ortaya atılmıştır (Tablo 2.3).

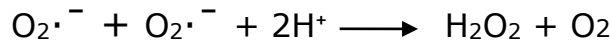
Tablo 2.3 Serbest radikal oluşturan mekanizmalar (Koca & Karadeniz, 2003; Halliwell & Gutteridge, 1990)

Otooksidasyon	Atmosferik oksijen tarafından katalizlenen serbest radikal zincir reaksiyonudur.
Geçiş Metal İyonlarının Etkisi	Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları canlı sistemlerde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalisttir.
Fotooksidasyon	Fotokimyasal iz yolları, oksidasyonlarda başlatıcı olarak rol oynayan peroksitlerin oluşumunda anahtar role sahiptir. Işığın bir molekül tarafından absorpsiyonu ile elektron transfer prosesi sonucu süperoksit anyonu üretilebilmektedir.
Enzimatik Oksidasyonlar	Vücutta lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantin oksidaz, miyeloperoksidaz ve sitokrom P-450 gibi birçok enzimin aktivitesi sonucu olarak reaktif oksijen türleri üretilmektedir.
Halojenlenmiş Hidrokarbonlar	Kontamine içme sularında bulunan halojenlenmiş hidrokarbonlar ve hava kirleticileri olarak bilinen azot oksitler de serbest radikal meydana getirirler. (Örneğin; Karbontetraklorür (CCl ₄), bromotriklorometan (CBrCl ₃))

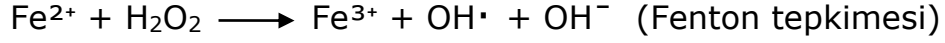
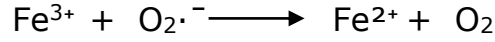
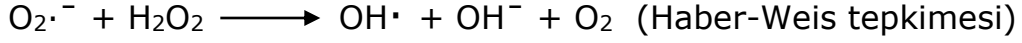
Oksijenin suya kadar indirgenmesi sürecinin ara basamaklarında reaktif metabolitler ortaya çıkar. Örneğin oksijen bir elektron alarak Nikotin Amid Difosfat Hidrojen (NADPH)'e bağlı olarak süperoksit radikali oluşmasına sebep olur (Fridovich, 1978).



Süperoksit daha stabil metaboliti olan H₂O₂'e dönüşür (Fridovich, 1975).



Süperoksit bazı radikallerle ve geçiş metalleri ile kolay reaksiyona girer ve H₂O₂ ile (Haber-Weiss tepkimesi) oldukça toksik olan hidroksil radikalini oluşturur (Haber & Weiss, 1934). Demir iyonları ile reaksiyon ortalama hızından daha da hızlanır (Fenton tepkimesi) (Aslan, şekeroğlu & Bayiroğlu, 1995).



Aerobik organizmalarda süperoksitle olan reaksiyonları engellemek için süperoksit dismutaz (SOD), hidrojen peroksidi ortamdan kaldırmak için KAT ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri kullanılmaktadır (Ji, Stratman & Lardy, 1988; Lawrence & Burk, 1976).

2.5.2 – Antioksidan savunma sistemi

Serbest radikallerin sebep olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri tutma ve stabili hale getirme özelliği gösteren maddelere "antioksidan" adı verilir. Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Koca & Karadeniz, 2003; Elliott, 1999). Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerler ve daha zararlı formlar oluşmasını önleyerek yeni serbest radikal oluşumunu engelleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan olarak SOD, GSH-Px ve KAT gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğine sahiptir. Bu enzimler serbest radikallerin DNA, protein ve lipid gibi hücrel bileşenlere zarar vermesini engeller (Koca & Karadeniz, 2003; Diplock, 1998).

İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini tutan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit ve polifenoller gibi bileşiklerdir (Koca & Karadeniz, 2003; Ou, Huang, Hampsch-Woodill, Flanagan & Deemer, 2002).

Antioksidan savunma sisteminde homeostazın korunmasının ana gücünü vitaminler oluşturmaktadır. Antioksidan özellik gösteren A, C, E, K vitaminleri ve koenzim Q antioksidan savunma mekanizmalarından en az biri üzerinden oksidan-antioksidan dengesini korur (Dündar & Aslan, 1999).

Antioksidan savunma sistemi;

- ✓ Organizmadaki antioksidan enzimlerle enzimatik olmayan antioksidan kapasitenin artırılması
- ✓ Serbest radikallerin antioksidanlar tarafından elimine edici özellikleri ile tutulması veya stabil hale getirilmesi
- ✓ Zincirleme reaksiyonları durdurarak serbest radikal üretiminin engellenmesi
- ✓ Baskılayıcı özelliği ile reaksiyon hızının azaltılması

- ✓ Onarıcı etki ile lipit, protein ve DNA gibi yapılarda oluşan hasarları yenilemesi
- ✓ Hücresel kinaz kayıplarını engelleyerek oksidasyon reaksiyonlarını durdurması

olmak üzere altı farklı mekanizma ile çalışır (Van Der Meulen, McArdle, Jackson & Faulkner, 1997; Packer, 1991; Evelson, Ordóñez, Llesuy & Boveris, 1997; Stratton & Liebler, 1997).

İntrasesüler antioksidanlar;

Süperoksit dismutaz: Süperoksidin giderilmesi reaksiyonlarında
Katalaz: H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarının giderilmesinde
Glutasyon peroksidaz: H_2O_2 'nin düşük konsantrasyonlarının giderilmesinde
Stokrom oksidaz: Oksijenin indirgenmesi basamaklarında reaktif tür oluşmasını önler (Aslan ark., 1995).

Membran antioksidanlar;

Vitamin E: Membran lipidlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar
Koenzim Q: Mitokondriyal enerji metabolizmasında rol alır
 β -Karoten: Radikal türleri koparır, singlet oksijen oluşumunu inhibe eder (Gutteridge, 1995).

Ekstraselüler antioksidanlar;

Askorbik asit: Hidroksil radikal giderici ve tokoferolü indirgeyici antioksidan vitamin
Transferrin: Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu inhibe eder
Laktoferrin: Düşük pH'lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar
Haptoglobinler: Hemoglobin bağlayarak "hem" in salınmasını önler
Hemopeksin: Ortamdaki serbest hem proteinlerini bağlayarak oksidasyonu inhibe eder
Albumin: HOCL radikalini toplar, hem proteini ve bakır metal iyonlarını bağlar
Serüloplazmin: Süperoksit radikalini nötralize eder, bakır iyonlarını bağlar
Bilirubin: Peroksil radikali toplayıcısı
Mucus: Hidroksil radikali toplayıcısı
Ürik asit: Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleri de toplar

Glikoz: Hidroksil radikali giderici antioksidan moleküldür (Gutteridge, 1995).

Antioksidan savunma sisteminin intraselüler, membransal ve ekstraselüler olarak da sınıflandırıldığı görülmektedir (Tablo 2.4) (McCord & Fridovich, 1969).

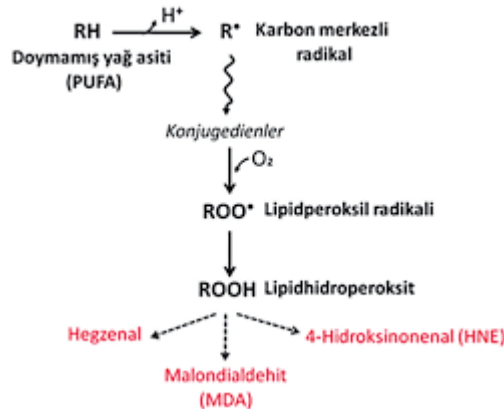
Tablo 2.4 Etki yerlerine göre antioksidanlar (Dündar & Aslan, 1999)

İntraselüler antioksidanlar	SOD, GSH-Px, KAT ve sitokrom oksidaz gibi selüler antioksidan enzimlerce reaktif oksijen metabolitleri indirgenir.
Membransal antioksidanlar	Başta α -tokoferol olmak üzere, ubiquinal bileşikleri, β -karoten ve koenzim Q temel membran antioksidanlarıdır.
Ekstraselüler antioksidanlar	Transferrin, laktoferrin, albumin, seruloplazmin, bilirubin, ürik asit gibi proteinler ekstraselüler antioksidanlardır.

2.5.3 – Lipit peroksidasyonu

Hücre zarındaki fosfolipitlerin yükseltgenerek peroksit türevlerine dönüşmesi ile oluşan lipit peroksidasyonu, serbest oksijen gruplarının biyolojik sistemdeki en önemli etkilerindendir. Oksidanlar ve oksidatif stres sebebiyle, fizyolojik durumlarda düşük seviyede olan lipit peroksidasyonu artmaktadır. Artan lipit peroksidasyonu hücrede fonksiyon kaybına sebep neden olmaktadır. Lipit peroksidasyonu üç evrede gerçekleşir: başlangıç, ilerleme ve sonlanma (Şekil 2.1).

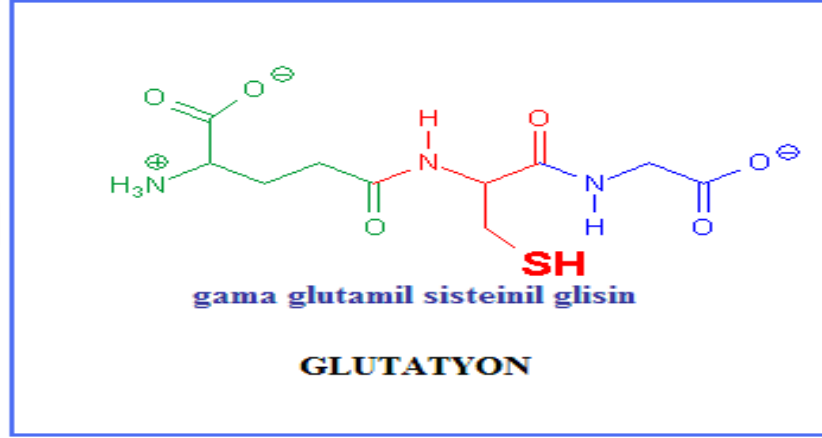
Şekil 2.1 Serbest radikal toksisitesi(Özcan,2015)



Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit radikalleri, aldehitler, ketonlar ve reaktif ürünler; 4-hidroksinonenal (4-HNE), MDA, akrolein gibi toksik maddeleri meydana getirir. Bu maddelerin miktarı peroksidasyonun şiddeti hakkında bilgi sağlamamıza yardımcı olur. Özellikle MDA üç veya daha fazla çift bağlı yağ asitlerinin yıkımı ile meydana geldiğinden lipit peroksidasyonu ile korelasyon göstermektedir (Ozcelik, E. 2012).

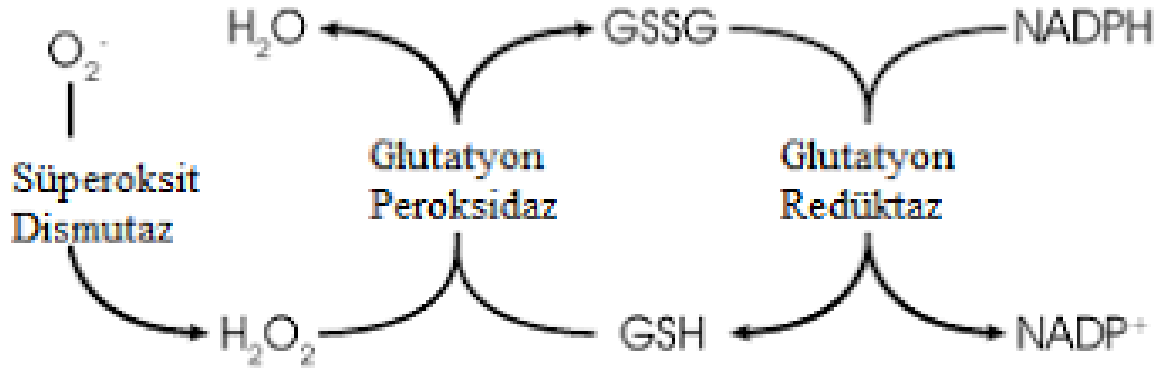
2.5.4 – Glutasyon

Genel anlamda karaciğerde sentezlenen glutasyon değişik miktarlarda beyin, böbrek, karaciğer gibi çoğu dokuda da sentezlenmektedir. Serbest radikallerin ve reaktif türlerin detoksifikasyonunda önemli bir yere sahip olan glutasyon aynı zamanda kalsiyum homeoastazı ve protein ve DNA'nın sentezi gibi önemli mekanizmalarda da yer almaktadır.



Şekil 2.2 Glutasyon yapısı

Glutasyon (γ -glutamil sisteinil glisin), glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan ve antioksidan, antitoksin ve enzim kofaktörü olan bir tripeptiddir (şekil 2.2). GSH-Px tarafından katalize edilen reaksiyon ile reaktif olan hidrojen peroksidin bozulmasını sağlar. Peroksitlerle ve serbest radikallerle etkileşerek hücreyi oksidatif strese korur (şekil 2.3). Güçlü bir indirgeyici olan glutasyon enzimlerin sülfidril gruplarını indirgeyerek etkisini gösterir. Antioksidan olarak glutasyon oksidanların temizlenmesi sırasında GSH-S transferaz için kofaktör olurken, gamaglutamil transpeptidaz için glutamini substrat olarak kullanır (Kidd, P. M. 1997; Townsend, D. M., Tew, K. D., & Tapiero, H. 2003; Ozcelik, E. 2012)



Şekil 2.3 Glutatyonun antioksidan aktivitesi

2.5.5 – Katalaz

Her bir alt biriminde Hem grubu ile bir molekül NADPH bulunduran dört alt birimden oluşmuş ve peroksizomlarda lokalize olan antioksidan bir enzimdir (E.C.1.11.1.6). Eritrositler ile karaciğer hücrelerinde aktivitesi en fazladır. SOD enzim katalizörlüğünde oluşan hidrojen peroksitin, diğer reaktif türler arasında en fazla oksidatif harabiyete sebep olan hidroksil radikaline dönüşmesini önler. Ortamda yüksek miktarda hidrojen peroksit bulunduğunda katalaz hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalar (şekil 2.4)(Cengiz, S. 2007).



Şekil 2.4 Katalaz katalizörlüğündeki reaksiyon

3 - GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 – Gereç

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında 2017-1767 proje kodlu Bilimsel Araştırma Projeleri(BAP) desteği ile yapılmıştır.

3.1.1 – Deney hayvanları

Deneyde kullanılan hayvanlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (TICAM) temin edildi. Deney hayvanları deney süresince 12;12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) ve nemi (%45- 50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda barındırıldı. Deney sürecinde tüm sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Deneysel aşamada 300-350 gram ağırlığında 56 adet Wistar cinsi, erkek albino sıçan kullanıldı. Çalışma için gerekli 06.09.2017 tarihli 620 karar numaralı etik kurul raporu ESOĞÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)'ndan alındı.

3.1.2 – Doz ve deney grupları

Grup 1- Kontrol grubu (Viscum albumun çözücüsü SF)

Kronik hasar grupları

Grup 2- CCl_4 grubu (gün aşırı 1 ml/kg ip 1:1 oranında sıvıyağ karışımı)

Grup 3- CCl_4 (gün aşırı 1 ml/kg ip 1:1 oranında sıvıyağ karışımı) + **Viscum album** (her gün 1ml/300mg)

Grup 4- CCl_4 (gün aşırı 1 ml/kg ip 1:1 oranında sıvıyağ karışımı) + **Viscum album** (her gün 1ml/300mg) + **Probiyotik** (her gün orogastrik 1cc : $0,125 \times 10^9$: 1g /kg)

Akut hasar grupları

Grup 5- CCl_4 (sakrifiye edilmeden 24 saat önce 2 ml/kg ip 1:1 oranında sıvıyağ karışımı)

Grup 6- Viscum album (her gün 1ml/300mg) + **CCl_4** (sakrifiye edilmeden 24 saat önce 2 ml/kg ip 1:1 oranında sıvıyağ karışımı)

Grup 7- Viscum album (her gün 1ml/300mg) + **Probiyotik** (her gün orogastrik 1cc : $0,125 \times 10^9$: 1g /kg) + **CCl_4** (sakrifiye edilmeden 24 saat önce 2 ml/kg ip 1:1 oranında sıvıyağ karışımı)

Bu çalışmanın hayvanlarla olan kısmı 14 gün sürdü. 15. günün sonunda hayvanlar anestezi altında sakrifiye edildi.

Saşe formundaki probiyotik solüsyonu (nbl probiyotik gold; içeriğinde lactobacillus acidophilus, lactobacillus rhamnosus, bifidobacterium bifidum, enterococcus faecium ve 24 bifidobacterium longum mevcut) içme suyu içerisine eklenerek vortekslendi. Ratlara verilecek her doz 1cc: $0,125 \times 10^9$: 1 g/kg olacak şekilde ayarlandı (Çelikkaya 2014).

3.1.3 - Deney hayvanlarından örneklerin alınması

Deney planına göre yapılan son enjeksiyondan 24 saat sonra sıçanlar anestezi maddeleriyle (ketamin ve ksilazin) uyutuldu ve ekssanguinasyon (kanatma veya yüksek miktarda kan alma) yöntemiyle sakrifiye edildi. Sıçanların karaciğerleri cerrahi yöntemlerle alındı. Alınan karaciğer dokusu soğuk serumda (%9 NaCl) perfüze edildi; karaciğerin birisi biyokimyasal parametrelerin ölçülmesinde (KAT, MDA, GSH) kullanılırken, diğer karaciğer dokusu histolojik incelemelerde kullanıldı. Histolojik inceleme için alınan karaciğer örnekleri deney hayvanlarından alınır alınmaz otoliz olmaması için daha önceden hazırlanmış Formol fiksatifine içine alındı. Hayvanlardan kardiyak yolla alınan kan örneklerinin bir kısmı etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)'li tüplere konuldu ve tam kandan GSH çalışıldı. Kalan tam kan 1200xg'de 10 dk santrifüj edildi ve plazmaları MDA çalışılması için ayrıldı. Bir kısım kan da serumdan rutin biyokimya, Hem oksijenaz 1 (HO-1) ve 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) ölçülmek üzere biyokimya tüplerine alındı.

3.1.4 - Viscum album ekstresinin hazırlanması

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi ormanındaki çam ağaçlarından 2017 Nisan ayında toplanan ökseotu bitkisinin kurutulmuş yaprakları kullanıldı. Yapraklar temizlendikten sonra direkt güneş almayan bir odada kurutuldu. Kurutulan yapraklardan Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalının laboratuvarında metanol ile 24 saat süre bekletilerek mesarasyon hazırlandı. Methanollü ekstreden bitkiler ayrıldı. Süzülen methanollü viscum album ekstresi rotavapor cihazına yerleştirildi. Methanol uçuruldu. Hayvan başına günlük 300 mg olacak şekilde viscum album ekstresi porsiyonlandı ve -20 C derecede saklandı (Oluwatosin ve ark. 2012).

3.1.5 - Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar

Kimyasal maddeler

- NaOH (Merck)

- H₂SO₄ (Merck)
- KNO₃ (Merck)
- Sülfanilamid (Alfa easer)
- SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) (Merck)
- TBA (Thiobarbütirik asit) (Sigma)
- Asetik Asit (Merck)
- KCl (Merck)
- Tris (Sigma)
- EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (Merck)
- HCl (Sigma)
- H₂O₂ (Merck)
- K₂HPO₄ (Merck)
- KH₂PO₄ (Merck)
- TMB (3,3'-5,5'-tetrametilbenzidin) (Sigma)
- Metafosforik asit (Merck)
- NaCl (Merck)
- Trisodyum sitrat (Merck)
- 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) (Sigma)
- Na₂HPO₄ (Merck)
- Glutasyon (Sigma)
-

Cihazlar

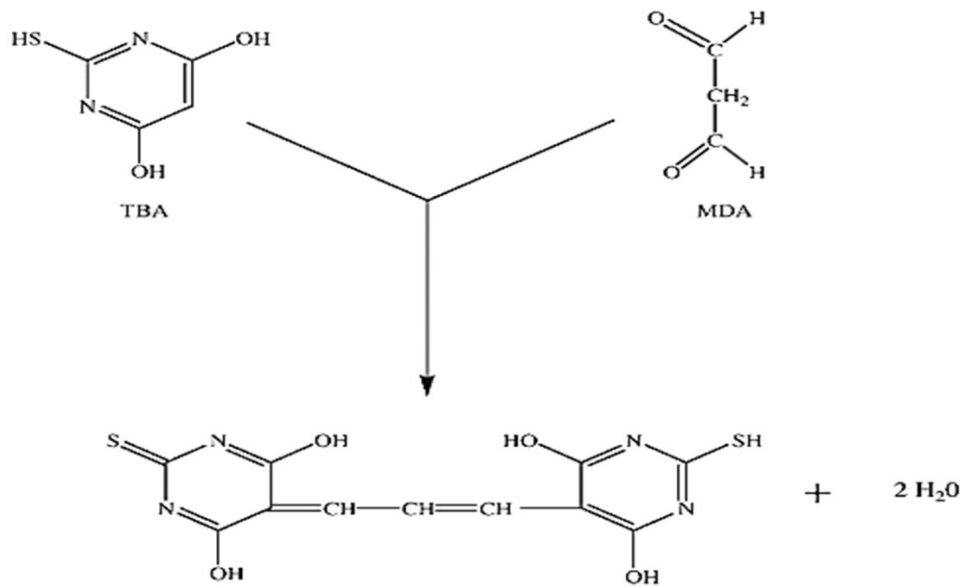
- Hassas terazi (Sartorius BP121S)
- pH Metre (HANNA pH211)
- Vorteks (WiseMix VM-10, WISD)
- Derin Dondurucu -80°C (Thermo, ULT 1386-5-V40)
- Su banyosu (Nüve BM402)
- Santrifüj (Nüve NF800)
- Soğutmalı santrifüj (Jouan MR22)
- Spektrofotometre (Shimadzu, UV-1601)
- Shaker (WiseMax)
- Manyetik Karıştırıcı (Labinco Hotplate Magnetic Stirrer)
- Homojenizatör (Hangzhou Miu Instruments, MT-30K)
- Mikropleyt okuyucu (PerkinElmer2030 Multilabel reader, Victor X3)
- Mikropleyt yıkayıcı (BioTek ELx50)
- Plastik ve cam tüpler
- Buzdolabı
- Otomatik pipetler
- Enjektörler
- Operasyon takımı

3.2 – Çalışılan yöntemler

3.2.1 – Malondialdehit (MDA) düzeyinin ölçümü ve prensibi

Biyolojik örneklerdeki lipid peroksidasyonunun kantitatif olarak belirlenmesi, lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki renk tepkimesine dayanır (şekil 3.1). Vücut sıvılarında veya hücrelerdeki lipid peroksidasyonu oksidatif stresin belirteci olarak değerlendirilmektedir.

Doku homojenatı ve plazma MDA düzeyleri Ohkawa vd. bildirdiği yöntemle ölçülmüştür (Ohkawa, Ohishi & Yagi, 1979).



Şekil 3.1 TBA ile MDA arasındaki tepkime

Çözeltiler

- Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (%8.1). 8,1 gram SDS 100 ml distile suda çözüldü.
- Asetat tamponu (%20, pH:3.5). 20 ml asetik asit 60 ml'ye seyreltilir. pH'sı konsantre NaOH ile 3,5'e ayarlandıktan sonra son hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- KCl çözeltisi (%1.15). 1,15 gram KCl 100 ml distile suda çözüldü.
- Tiyobarbitürik asit (TBA) (%0.8, pH:5.5-7). 0,8 gram TBA distile suda çözüldü. NaOH ile pH'sı 5.5-7 arasında ayarlandıktan sonra son hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlandı (Taze hazırlanmalıdır).

Homojenizasyon

Dokulardan 0,1 gram kesit tartıldı ve 1/10 oranında KCl çözeltisi ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar +4 °C 1500xg'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmından ölçümler yapıldı.

Deney prosedürü

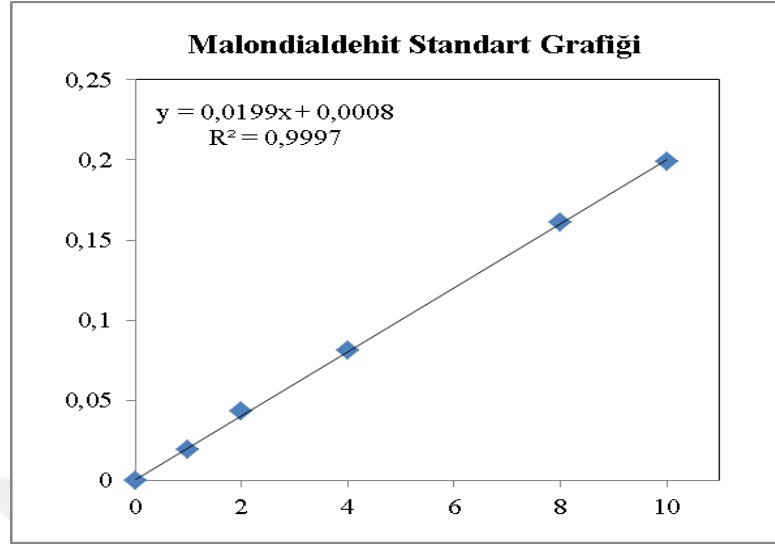
Tablo 3.1 de belirtilen çözeltiler ve ölçüm yapılacak örnekler için kapaklı tüpler hazırlandı.

Tablo 3.1 MDA ölçümü deney prosedürü

	Kör	Örnek plazma	Örnek doku	Standart
1.1.3.3.tetraetoksipropan Standardı	-	-	-	0.2 ml
Plazma, Süpernatant	-	0.5 ml	0.4 ml	-
SDS	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Asetat Tamponu	1.5 ml	1.5 ml	1.5	1.5 ml
TBA	1.5 ml	1.5 ml	1.5	1.5 ml
Distile Su	0.8 ml	0.3 ml	0.4	0.6 ml
95 °C de 60 dakika inkübasyona (pembe renk oluşumu) bırakılır.				
Musluk suyu ile soğutulduktan sonra 3500 rpm'de 5 dk santrifüj edilir.				
Süpernatant 532 nm dalga boyunda köre karşı okunur.				

MDA için standardizasyon

- Stok çözeltilerinin hazırlanması: 100 nmol/ml stok lipid peroksit standardı (1.1.3.3.tetraetoksipropan) hazırlandı.
- Stok çözeltiden 1:2 oranında seri dilüsyonlar yapıldı ve konsantrasyonları bilinen bu standart çözeltilerin absorpsiyonları belirtilen protokol izlenerek ölçüldü (Tablo 3.1).
- Konsantrasyonları bilinen standartlardan okunan absorpsiyon değerleri ile Microsoft Office Excel'de standart kalibrasyon grafiği çizildi (Grafik 3.1).
- Örnek konsantrasyonları standart kalibrasyon grafiği kullanılarak hesaplandı.
- Aynı homojenattan protein konsantrasyonları ölçüldü ve MDA konsantrasyonları örnek total protein konsantrasyonlarına oranlandı. Doku MDA sonuçları nmol/mg protein olarak verildi.



Grafik 3.1 MDA standart kalibrasyon grafiği

3.2.2 – Glutasyon (GSH) düzeyinin ölçümü ve prensibi

Alifatik tiyol bileşiklerinin hafif alkali ortamda 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asid (DTNB, Elman reaktifi) ile tepkimesi sonucu tiyol başına oluşan p-nitrofenol anyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır.

Doku homojenatı ve tam kandaki GSH düzeyi Beutler ve vd. bildirdiği yöntemle göre ölçülmüştür (Srivastava & Beutler, 1968).

Çözeltiler

- Çöktürme çözeltisi: 1.67 gram metafosforik asit, 0.2 gram EDTA ve 30 gram NaCl bir miktar distile suda çözülür. Bu çözeltiler birleştirilip son hacim 100 ml'ye tamamlanır.
- %1 Sodyum sitrat çözeltisi: 1 gram trisodyum sitrat tartılıp 100 ml distile suda çözülür. Belirtme reaktifinin hazırlanmasında kullanılır.
- Sekonder sodyum fosfat çözeltisi: 0,3 M Na₂HPO₄ distile suda çözülür ve son hacim 250 ml'ye tamamlanır.
- Belirtme reaktifi: 40 miligram DTNB önceden hazırlanmış olan %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözülür ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır. (Taze hazırlanmalıdır.)
- Fosfat tamponu (0.1 M, pH:7.4). 3.4 gram KH₂PO₄ tartılır ve 250 ml distile suda çözülür. 4.35 gram K₂HPO₄ tartılır ve 250 ml distile suda çözülür. K₂HPO₄ üzerine azar azar KH₂PO₄ eklenmesiyle pH'sı 7.4'e ayarlanır.

Homojenizasyon

Dokulardan 0.1 gram kesit tartıldı ve 1/10 oranında soğuk 0.1 M, pH:7.4 fosfat tamponu ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar +4 °C 4000xg'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmından ölçümler yapıldı.

Deney prosedürü

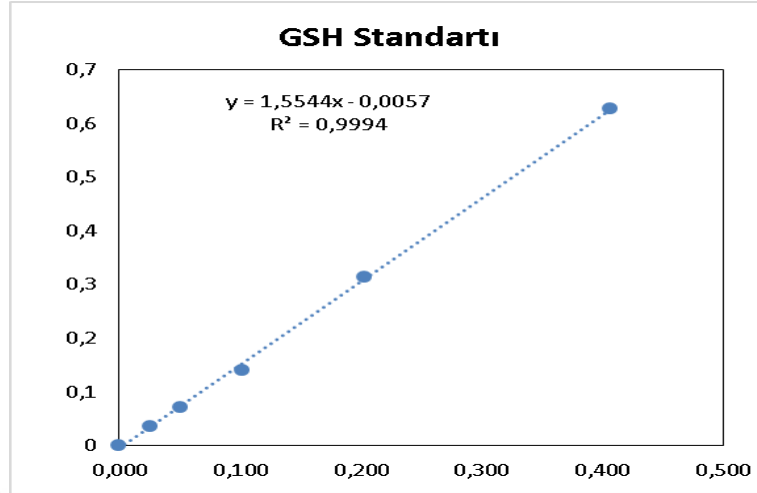
Hazırlanan çözeltiler ile tablo 3.2 da belirtildiği gibi ölçüm işlemi yapılır.

Tablo 3.2 GSH ölçümü deney prosedürü

	Kör	Örnek	Standart
Tam kan, Süpernatant	-	0.5 ml	-
Çöktürme Çözeltisi	-	0.75 ml	-
Karıştırıldıktan sonra 1500xg'de 15 dakika santrifüj edilir. Buradaki Süpernatantdan devam edilir.			
Glutasyon standardı	-	-	0.5 ml
Süpernatant	-	0.5 ml	-
Distile Su	0.5 ml	-	-
Sekonder Sodyum Fosfat	2 ml	2 ml	2 ml
DTNB	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra 5 dakika beklenir ve 412 nm dalga boyunda köre karşı absorpsiyonu okunur.			

GSH için standardizasyon

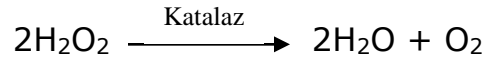
- Stok çözeltisinin hazırlanması: 100 mg glutasyon 100 ml distile suda çözüldü.
- Stok çözeltiden 1:2 oranında seri dilüsyonlar yapıldı ve konsantrasyonları bilinen bu standart çözeltilerin absorpsiyonu belirtilen protokol izlenerek ölçüldü (Tablo 3.2).
- Konsantrasyonları bilinen standartlardan okunan absorpsiyon değerleri ile Microsoft Office Excel'de standart kalibrasyon grafiği çizildi (Grafik 3.2).
- Örnek konsantrasyonları standart kalibrasyon grafiği kullanılarak hesaplandı.
- Aynı homojenattan protein konsantrasyonları ölçüldü ve GSH konsantrasyonları örnek total protein konsantrasyonlarına oranlandı. Doku GSH ölçüm sonuçları $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak verildi.



Grafik 3.2 GSH standart kalibrasyon grafiği

3.2.3 – Katalaz (KAT) enzim aktivitesinin ölçümü ve prensibi

Katalaz hücre için zararlı olan H_2O_2 'yi su ve oksijene parçalayan bir enzimdir. Loew tarafından 1901 yılında H_2O_2 'yi parçalayan enzim olarak dünyaya tanıtılmıştır (Nicholls, 2012). H_2O_2 'nin 240 nm dalga boyundaki absorpsiyonundaki azalmanın takip edilmesi ile ortamdaki KAT aktivitesinin ölçülmesi esasına dayanır (Aebi, 1984).



Karaciğer doku homojenatındaki KAT enzim aktivitesi Aebi tarafından bildirilen yöntemle ölçülmüştür (Aebi, 1984).

Çözeltiler

- Tris-EDTA-HCl çözeltisi: 12.1 gram tris ile 0.186 gram disodyum EDTA tartılarak 40 ml distile suda çözülür. 2 M'lık HCl ile pH'sı 8'e ayarlanır ve son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- HCl (2M). 16.6 ml HCl içinde distile su bulunan balon jöjeye yavaş yavaş aktarılır ve son hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- H_2O_2 (10 mM). 200 μ l H_2O_2 distile su ile 200 ml'ye seyreltilir.
- Fosfat tamponu (0.1 M, pH:7). 3.4 gram KH_2PO_4 tartılır ve 250 ml distile suda çözülür. 4.35 gram K_2HPO_4 tartılır ve 250 ml distile suda çözülür. K_2HPO_4 üzerine azar azar KH_2PO_4 eklenmesiyle pH'sı 7'ye ayarlanır.

Homojenizasyon

Karaciğer dokularından 0.1 gram kesit tartıldı ve 1/10 oranında soğuk 0.1 M, pH:7 fosfat tamponu ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar +4 °C 600xg'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmından ölçümler yapıldı.

Deney prosedürü

Hazırlanan gözeltiller ile tablo 3.3 de belirtildiği gibi ölçüm işlemi yapılır.

Tablo 3.3 KAT enzim aktivitesi ölçümü deney prosedürü

	Kör	Örnek
Tris-EDTA-HCl	100 µl	100 µl
H ₂ O ₂	-	1800 µl
Distile Su	1900 µl	60 µl
37 °C de 10 dk inkübasyona bırakılır.		
Süpernatant	-	40 µl
230 nm dalga boyunda 5 dakika boyunca köre karşı absorpsansı okunur. (Kinetik okuma yapılır.)		

- Süpernatant 1/40 oranında seyreltikten sonra kullanılır.
- H₂O₂, örnek tüplerini inkübasyona koymadan hemen önce tüplere konulmalıdır.
- İnkübasyon sonrası kuvarz tüpte hazır bulunan 40 µl Süpernatant üzerine inkübe edilen solüsyon eklenir. Kesinlikle karıştırma veya çalkalama yapılmadan ölçüm yapılır.
- Ortamda H₂O₂ azalacağından absorpsans değişiminde azalma olmalıdır.

KAT enzim aktivitesinin hesaplanması

KAT enzim aktivitesinin hesaplanmasında Lartillot ve vd. tarafından bildirilen formül kullanılmıştır (Lartillot, Kedziora & Athias, 1988; Nelson & Kiesow, 1972).

$$Akt = \frac{A.Vt.DF}{\epsilon.t.Ve}$$

A: Enzimatik aktiviteden kaynaklı absorpsans değişimi

Vt: Toplam reaksiyon hacmi (µl)

DF: Dilüsyon faktörü

ε: H₂O₂'nin 240 nm'deki ekstinksiyon katsayısı (0.0394)(M⁻¹.cm⁻¹)

t: Reaksiyon süresi (dk)

Ve: Örnek hacmi (µl)

KAT spesifik aktivitesi katalaz aktivitesinin, aynı homojenattan ölçülen örnek protein konsantrasyonuna oranlanmasıyla U/mg protein olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Katalaz spesifik aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{Katalaz aktivitesi}}{\text{Protein miktarı}}$$

3.2.4 – 8-Hidroksi-dezoksiguanozin (8-OhdG) ölçümü

İçindekiler	Miktar
Standart (24 ng/mL)	0.5 mL
Standart Dilüenti	3 mL
Plate	1 adet (12x8)
Str-HRP Konjugat Reaktifi	6 mL
Yıkama Solüsyonu (30X)	20 mL
Biotin-8-OHdG Ab	1 mL
Kromojen Solüsyonu A	6 mL
Kromojen Solüsyonu B	6 mL
Durdurma Solüsyonu	6 mL
Plate membranı	2 adet
Kilitli poşet	1 adet

Deney Prosedürü:

1) Standart Dilüsyonu yapılır:

Standart	Hazırlama	Son Derişim
Std-5	120 µL Orijinal Standart + 120 µL Standart Dilüenti	12 ng/mL
Std-4	120 µL Std-5 + 120 µL Standart Dilüenti	6 ng/mL
Std-3	120 µL Std-4 + 120 µL Standart Dilüenti	3 ng/mL
Std-2	120 µL Std-3 + 120 µL Standart Dilüenti	1.5 ng/mL
Std-1	120 µL Std-2 + 120 µL Standart Dilüenti	0.75 ng/mL

2) Yıkama Solüsyonu (X) hazırlanır: Konsantre Yıkama solüsyonu (30X) distile su ile 30 kat seyreltilir.

3) Gerektiği kadar strip çıkarılır, kalanlar kilitli poşete konup buzdolabına kaldırılır.

4) Pipetlemeler yapılır:

- Kör kuyucuğu: Numune, Biotin-8-OhdG-antikoru ve Streptavidin-HRP eklenmez; yalnızca Kromojen solüsyonu A ve B eklenir, diğer aşamalar aynı şekilde uygulanır.

- Standart kuyucukları: 50 µL standart, 50 µL Streptavidin-HRP eklenir.

- Numune kuyucukları: 40 µL numune eklenir, sonra 10 µL 8-OhdG-antikoru ve 50 µL Streptavidin-HRP eklenir. Plate membranla kapatılır ve çalkalayıcıda 37 °C'de 60 dakika inkübe edilir.

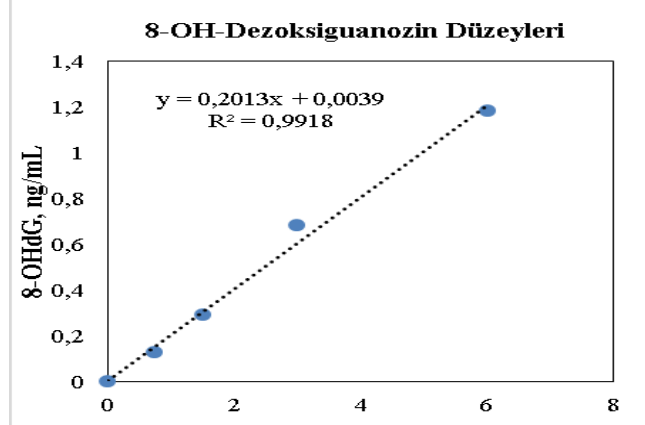
5) Yıkama yapılır: Membran dikkatlice çıkarılır; sıvı aspire edilir. 0,35 mL dilüe Yıkama Solüsyonu (X) eklenir, 1-2 dakika beklenir, sıvı aspire edilir, bu işlem birkaç kez tekrarlanabilir. Aspirasyon sonrasında plate emici kağıt üzerine vurularak içerideki sıvı uzaklaştırılır.

6) Tüm kuyulara 50 µL Kromojen solüsyonu A, sonrasında 50 µL Kromojen solüsyonu B eklenir. Nazikçe karıştırılır; 37 °C'de 10 dakika karanlıkta inkübe edilir.

7) Tüm kuyulara 50 µL Durdurma Solüsyonu eklenir (mavi renk sarıya döner). 15 dakika içerisinde 450 nm'de okunur (Blank well sıfır olarak alınır). Standart eğrinin lineer regresyon eşitliğinden yararlanarak numune konsantrasyonları hesaplanır.

8-Hidroksi-dezoksiguanozin (8-OhdG) ölçümü için standardizasyon

Grafik 3.3 8-OHdG standart kalibrasyon grafiği



3.2.5 – Hem Oksijenaz (OH-1) ölçümü

İçindekiler	Miktar
Standart (64 ng/mL)	0.5 mL
Standart Dilüenti	3 mL
Plate	1 adet (12x8)
Str-HRP Konjugat Reaktifi	6 mL
Yıkama Solüsyonu (30X)	20 mL
Biotin-(HO-1) Ab	1 mL
Kromojen Solüsyonu A	6 mL
Kromojen Solüsyonu B	6 mL
Durdurma Solüsyonu	6 mL
Plate membranı	2 adet
Kilitli poşet	1 adet

Deney Prosedürü:

1) Standart Dilüsyonu yapılır:

Standart	Hazırlama	Son Derişim
Std-5	120 µL Orijinal Standart + 120 µL Standart Dilüenti	32 ng/mL
Std-4	120 µL Std-5 + 120 µL Standart Dilüenti	16 ng/mL
Std-3	120 µL Std-4 + 120 µL Standart Dilüenti	8 ng/mL
Std-2	120 µL Std-3 + 120 µL Standart Dilüenti	4 ng/mL
Std-1	120 µL Std-2 + 120 µL Standart Dilüenti	2 ng/mL

2) Yıkama Solüsyonu (X) hazırlanır: Konsantre Yıkama solüsyonu (30X) distile su ile 30 kat seyreltilir.

3) Gerektiği kadar strip çıkarılır, kalanlar kilitli poşete konup buzdolabına kaldırılır.

4) Pipetlemeler yapılır:

- Kör kuyucuğu: Numune, Biotin-(HO-1)-antikoru ve Streptavidin-HRP eklenmez; yalnızca Kromojen solüsyonu A ve B eklenir, diğer aşamalar aynı şekilde uygulanır.

- Standart kuyucukları: 50 µL standart, 50 µL Streptavidin-HRP eklenir.

- Numune kuyucukları: 40 µL numune eklenir, sonra 10 µL (HO-1)-antikoru ve 50 µL Streptavidin-HRP eklenir. Plate membranla kapatılır ve çalkalayıcıda 37 °C'de 60 dakika inkübe edilir.

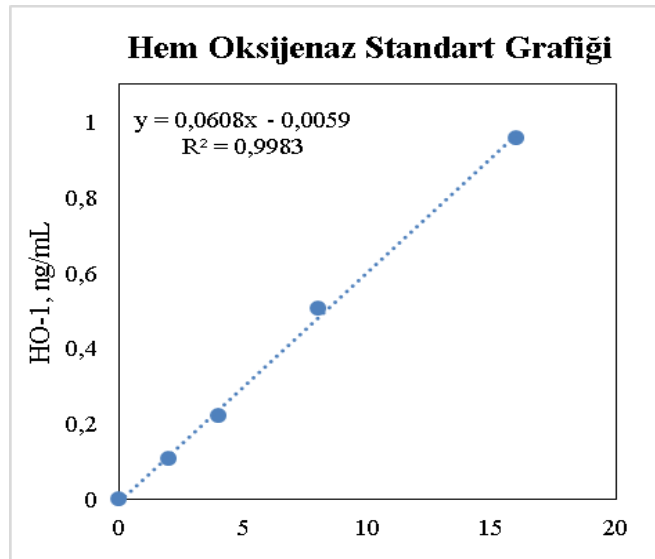
5) Yıkama yapılır: Membran dikkatlice çıkarılır; sıvı aspire edilir. 0,35 mL dilüe Yıkama Solüsyonu (X) eklenir, 1-2 dakika beklenir, sıvı aspire edilir, bu işlem birkaç kez tekrarlanabilir. Aspirasyon sonrasında plate emici kağıt üzerine vurularak içerideki sıvı uzaklaştırılır.

6) Tüm kuyulara 50 µL Kromojen solüsyonu A, sonrasında 50 µL Kromojen solüsyonu B eklenir. Nazıççe karıştırılır; 37 °C'de 10 dakika karanlıkta inkübe edilir.

7) Tüm kuyulara 50 µL Durdurma Solüsyonu eklenir (mavi renk sarıya döner). 15 dakika içerisinde 450 nm'de okunur (Blank well sıfır olarak alınır). Standart eğrinin lineer regresyon eşitliğinden yararlanarak numune konsantrasyonları hesaplanır.

Hem Oksijenaz (OH-1) ölçümü için standardizasyon

Grafik 3.4 HO-1 standart kalibrasyon grafiği



3.2.6 – Protein düzeyinin ölçümü

Biüret yöntemi: Alkali ortamda protein ve peptitlerdeki peptit bağı azotuyla Cu^{2+} iyonlarının reaksiyonu sonucu oluşan mavi-mor rengin 545 nm'deki absorpsiyonunun ölçülmesi esasına dayanır.

Karaciğer doku homojenatındaki protein düzeyi Gornall vd. bildirdiği Biüret yöntemine göre ölçülmüştür (Gornall, Bardawill & David, 1949).

Çözeltiler

- Na-K Tartarat: 6 gram tartılır ve bir miktar distile suda çözülür.
- CuSO_4 : 1.5 gram tartılır ve bir miktar distile suda çözülür.
- NaOH: 30 gram tartılır ve bir miktar distile suda çözülür.

Bu üç çözelti karıştırılarak Biüret reaktifi hazırlanır ve son hacim 1 litreye tamamlanır.

Deney prosedürü

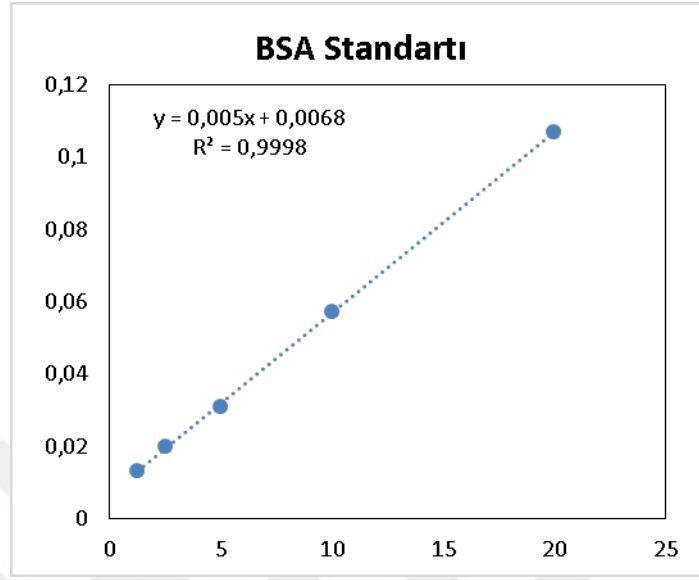
Hazırlanan çözeltiler ile tablo 3.4 da belirtildiği gibi ölçüm işlemi yapılır.

Tablo 3.4 Protein ölçümü deney prosedürü

	Kör	Örnek	Standart
Distile Su	50 μl	-	-
Biüret	1250 μl	1250 μl	1250 μl
Homojenat	-	50 μl	-
BSA Standartı	-	-	50 μl
15 dk karanlıkta bekletildikten sonra 545 nm dalga boyunda köre karşı absorbansı okunur.			

Protein için standardizasyon

- Bovin serum albümin (BSA) standartından 20 mg/ml stok standart çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltilerden 1:2 oranında seri dilüsyon yapılarak farklı konsantrasyonlarda standartlar hazırlandı.
- Konsantrasyonları bilinen standartlardan 545 nm dalga boyunda okunan absorbans değerleri ile Microsoft Office Excel'de standart kalibrasyon grafiği çizildi (Grafik 3.4).
- Karaciğer dokusu protein konsantrasyonları standart kalibrasyon grafiği kullanılarak hesaplandı.



Grafik 3.5 BSA standart kalibrasyon grafiği

3.3 – İstatistiksel analiz

Sürekli veriler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun araştırılmasında Shapiro Wilk's testinden yararlanılmıştır. Normal dağılım gösteren grupların karşılaştırılmasında grup sayısı üç ve üzerinde olan durumlar için Tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanılmıştır. Analizlerin uygulanmasında "SAS Institute Inc. 2015. SAS/IML® 14.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc." programından yararlanılmıştır. İstatistiksel önemlilik için $p=0.05$ değeri kriter kabul edilmiştir.

4 – BULGULAR

Yapılan kısaltmalar şu şekildedir; K (kontrol), C(CCl₄), VAC (viscum album + CCl₄) ve VAPC (Viscum album + Probiyotik + CCl₄), (a) akut hasar, (k) kronik hasar.

4.1 - Biyokimyasal Bulgular

Kronik hasar gruplarında serum total bilirubin ve direkt bilirubin düzeyleri

Total bilirubin seviyelerinde K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır (p<0.001). C grubu ile kıyaslandığında VAPC grubunda anlamlı bir düşüş söz konusudur (p<0.05).

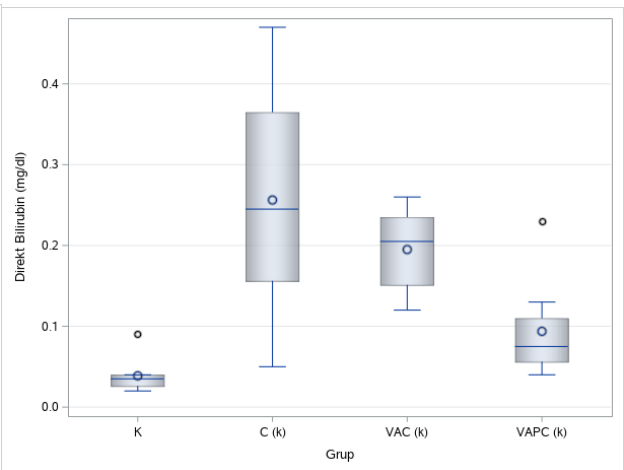
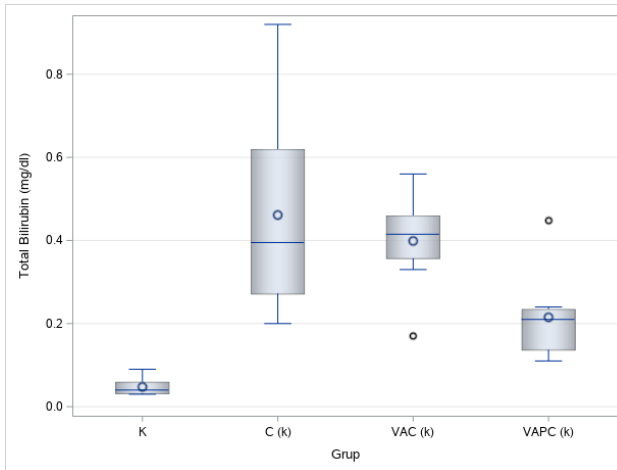
Direkt bilirubin seviyelerinde K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır (p<0.001). C grubuna göre VAPC grubunda anlamlı bir düşüş söz konusudur (p<0.001).

Tablo 4.1 KH Total Bilirubin(mg/dL)

Grup	N	Total Bilirubin(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	0.047	0.021
C (k)	8	0.461	0.245
VAC (k)	8	0.398	0.114
VAPC (k)	8	0.215	0.106

Tablo 4.2 KH Direkt Bilirubin(mg/dL)

Grup	N	Direkt Bilirubin(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	0.038	0.022
C (k)	8	0.256	0.147
VAC (k)	8	0.195	0.050
VAPC (k)	8	0.093	0.062



Grafik 4.1 KH T. Bilirubin düzeyleri(mg/dL) **Grafik 4.2** KH D. Bilirubin düzeyleri (mg/dL)

Kronik hasar gruplarında serum total protein ve albumin düzeyleri

Total protein seviyeleri K grubuna göre C grubunda anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). C grubuna göre VAPC grubu anlamlı şekilde yükselmiştir ($p < 0.05$).

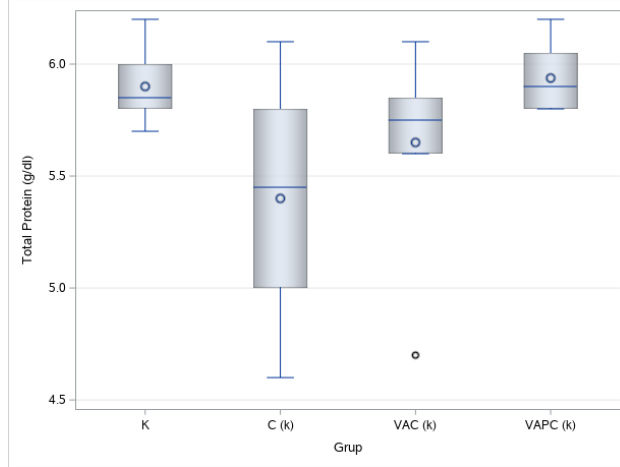
Albumin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 4.3 KH Total Protein(g/dL)

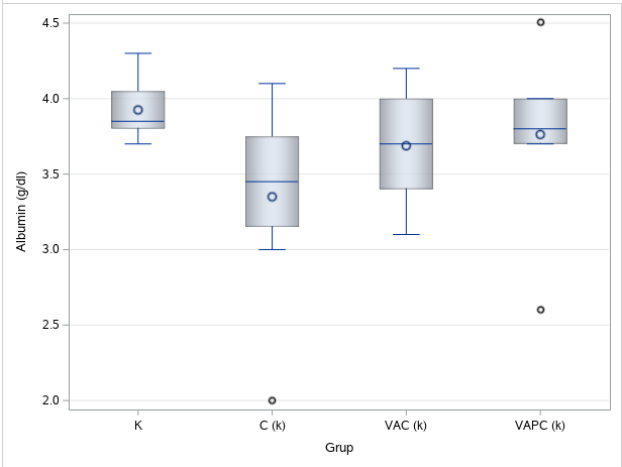
Grup	N	Total Protein(g/dL)	
		Ort	Sd
K	8	5.90	0.16
C (k)	8	5.40	0.52
VAC (k)	8	5.65	0.41
VAPC (k)	8	5.93	0.15

Tablo 4.4 KH Albumin(g/dL)

Grup	N	Albumin(g/dL)	
		Ort	Sd
K	8	3.92	0.19
C (k)	8	3.35	0.65
VAC (k)	8	3.68	0.38
VAPC (k)	8	3.76	0.53



Grafik 4.3 KH Total Protein düzeyleri(g/dL)



Grafik 4.4 KH Albumin düzeyleri(g/dL)

Kronik hasar gruplarında serum AST ve ALT aktivitesi

AST seviyeleri için K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p<0.001$). C grubuna göre VAC ve VAPC gruplarında AST seviyeleri anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0.05$, $p<0.01$).

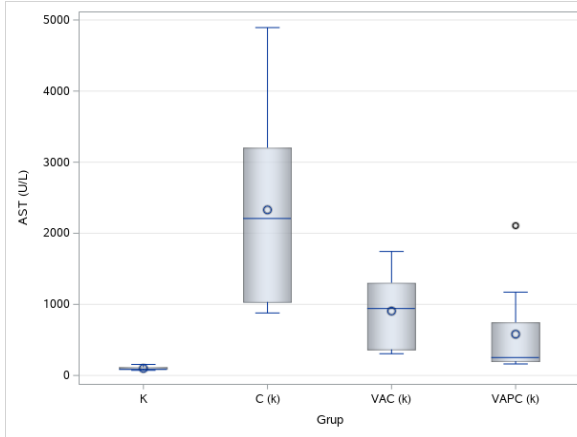
ALT seviyeleri için K grubuna göre C grubunda anlamlı bir şekilde yükselme söz konusudur ($p<0.001$). C grubuna göre VAPC grubundaki ALT seviyelerinde anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.05$).

Tablo 4.5 KH AST aktivitesi(U/L)

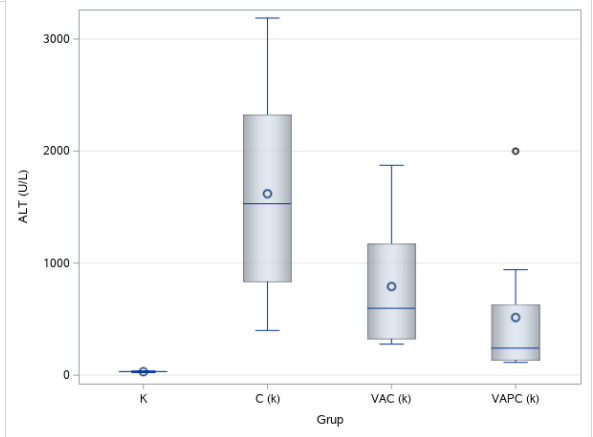
Grup	N	AST(U/L)	
		Ort	Sd
K	8	98.75	28.65
C (k)	8	2329.25	1466.6
VAC (k)	8	905.75	541.0
VAPC (k)	8	580.25	702.4

Tablo 4.6 KH ALT aktivitesi(U/L)

Grup	N	ALT(U/L)	
		Ort	Sd
K	8	31.0	5.34
C (k)	8	1619.1	960.90
VAC (k)	8	791.0	585.41
VAPC (k)	8	514.3	658.92



Grafik 4.5 KH AST düzeyleri(U/L)



Grafik 4.6 KH ALT düzeyleri(U/L)

Kronik hasar gruplarında serum ALP ve LDH aktivitesi

K grubuna göre C grubundaki ALP seviyelerinde anlamlı bir yükseliş vardır ($p<0.001$).

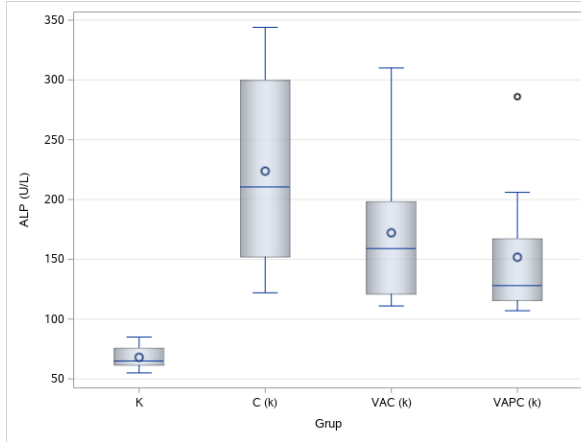
K grubuna göre C grubundaki LDH seviyelerinde anlamlı bir yükselme vardır ($p<0.001$). C grubuna göre VAC ve VAPC gruplarında LDH seviyeleri anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0.01$, $p<0.01$).

Tablo 4.7 KH ALP aktivitesi (U/L)

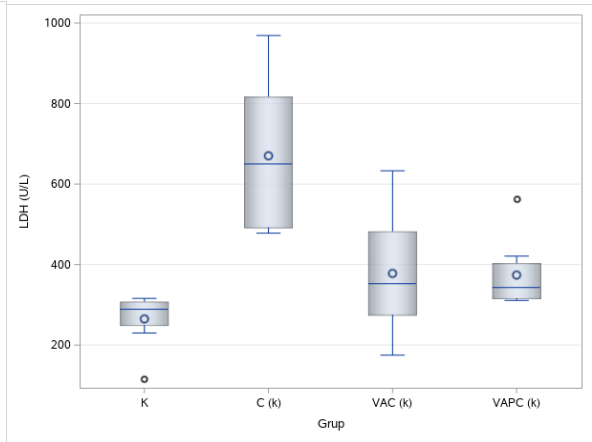
Grup	N	ALP(U/L)	
		Ort	Sd
K	8	68.00	10.99
C (k)	8	223.75	86.10
VAC (k)	8	172.12	66.50
VAPC (k)	8	151.75	62.46

Tablo 4.8 KH LDH aktivitesi (U/L)

Grup	N	LDH(U/L)	
		Ort	Sd
K	8	265.00	67.07
C (k)	8	670.12	187.94
VAC (k)	8	378.00	149.39
VAPC (k)	8	374.00	85.15



Grafik 4.7 KH ALP düzeyleri(U/L)



Grafik 4.8 KH LDH düzeyleri(U/L)

Kronik hasar gruplarında serum trigliserid ve kolesterol düzeyleri

K grubuna göre C grubundaki trigliserit seviyeleri anlamlı olarak artmıştır ($p<0.001$). C grubuna göre VAC ve VAPC gruplarında trigliserit seviyeleri anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0.05$, $p<0.05$).

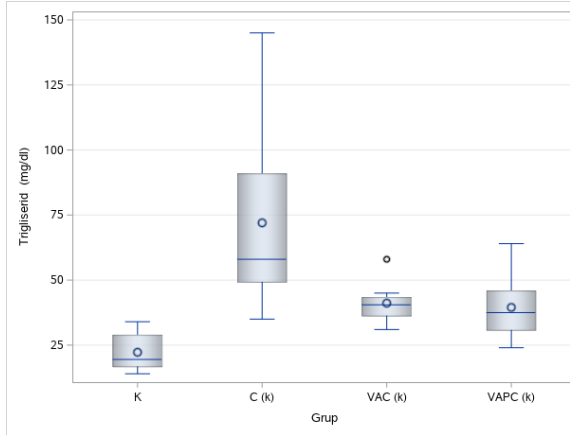
K grubuna göre C grubundaki kolesterol seviyeleri anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$). C grubuna göre VAPC grubundaki kolesterol seviyelerinde anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.01$). VAC grubuna göre VAPC grubunda da anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.05$).

Tablo 4.9 KH Trigliserid düzeyleri(mg/dL)

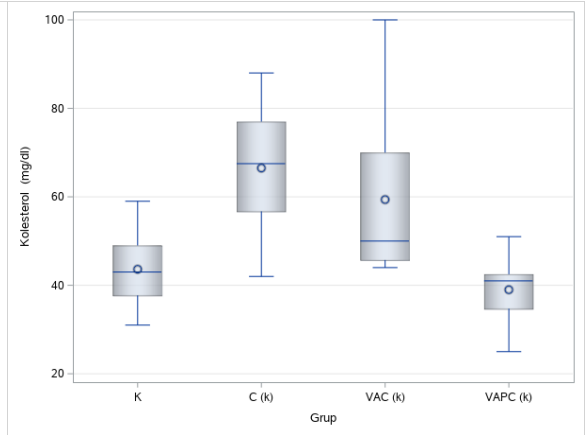
Grup	N	Trigliserid(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	22.25	7.36
C (k)	8	72.00	37.41
VAC (k)	8	41.12	8.14
VAPC (k)	8	39.50	12.79

Tablo 4.10 KH Kolesretol düzeyleri(mg/dL)

Grup	N	Kolesterol(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	43.62	8.89
C (k)	8	66.50	14.97
VAC (k)	8	59.37	19.61
VAPC (k)	8	39.00	8.43



Grafik 4.9 KH TG düzeyleri(mg/dL)



Grafik 4.10 KH Kolesretol düzeyleri(mg/dL)

Kronik hasar gruplarında serum LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeyleri

K grubuna göre C grubundaki LDL kolesterol seviyelerinde anlamlı bir artış vardır ($p<0.05$). C grubuna göre VAPC grubunda anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.01$). VAC grubuna göre VAPC grubunda da anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.05$).

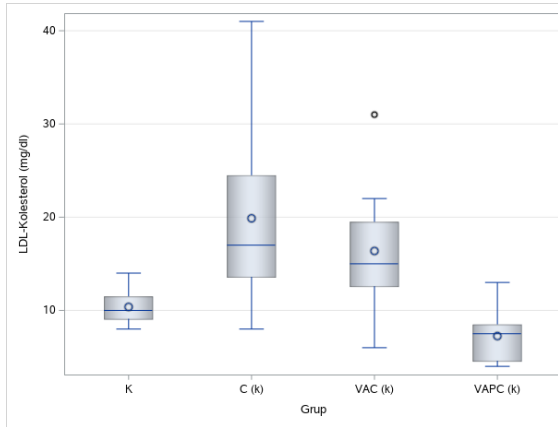
HDL kolesterol seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 4.11 KH LDL düzeyleri(mg/dL)

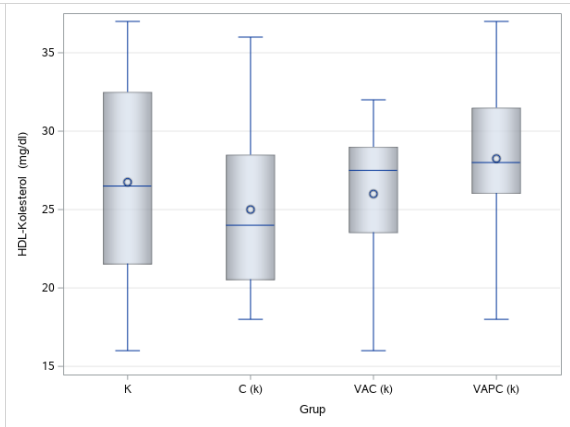
Grup	N	LDL Kolesterol(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	10.37	2.06
C (k)	8	19.87	10.21
VAC (k)	8	16.37	7.50
VAPC (k)	8	7.25	3.01

Tablo 4.12 KH HDL düzeyleri(mg/dL)

Grup	N	HDL Kolesterol(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	26.75	7.16
C (k)	8	25.00	5.92
VAC (k)	8	26.00	4.95
VAPC (k)	8	28.25	5.77



Grafik 4.11 KH LDL düzeyleri(mg/dL)



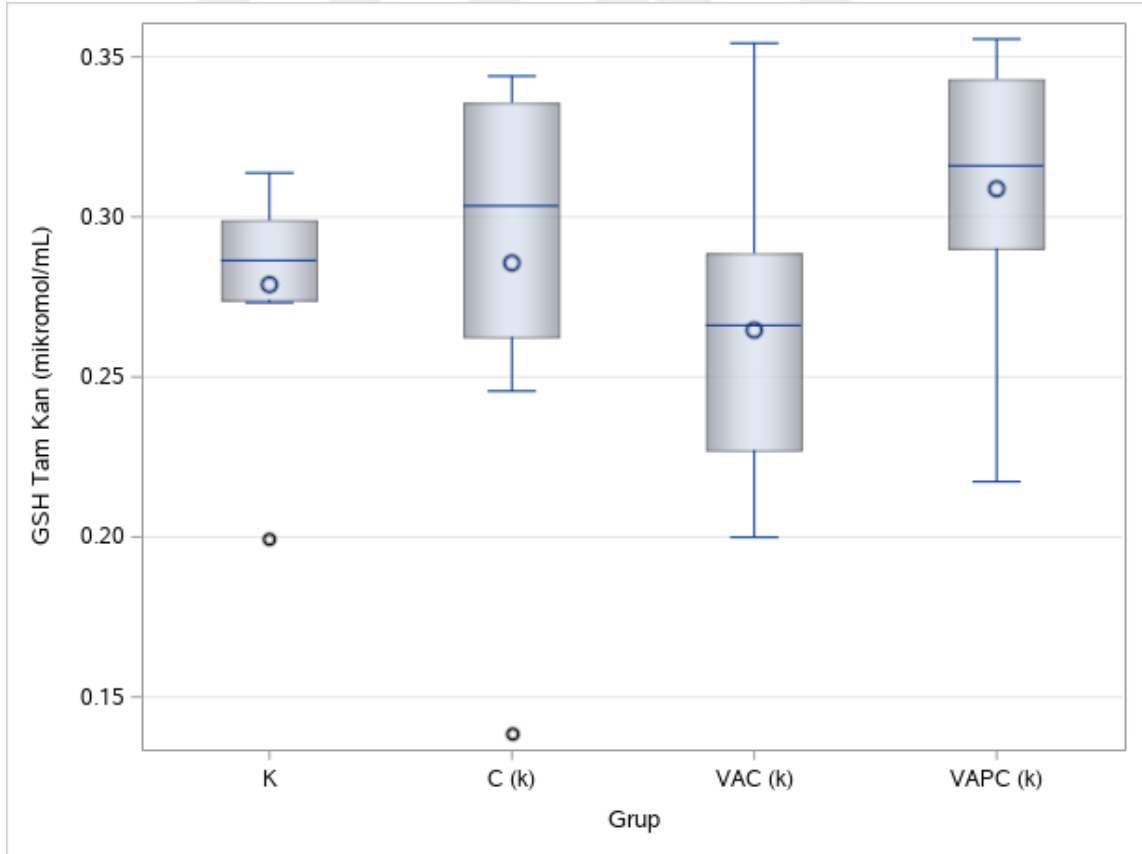
Grafik 4.12 KH HDL düzeyleri(mg/dL)

Kronik hasar gruplarında tam kan GSH düzeyleri

Tam kan GSH düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.13 ve grafik 4.13 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 4.13 Kronik Hasar Gruplarında tam kan GSH Düzeyleri (mikromol/mL)

Grup	N	GSH Tam Kan (mikromol/mL)	
		Ort	Sd
K	8	0.27	0.04
C (k)	8	0.28	0.07
VAC (k)	8	0.26	0.05
VAPC (k)	8	0.31	0.04



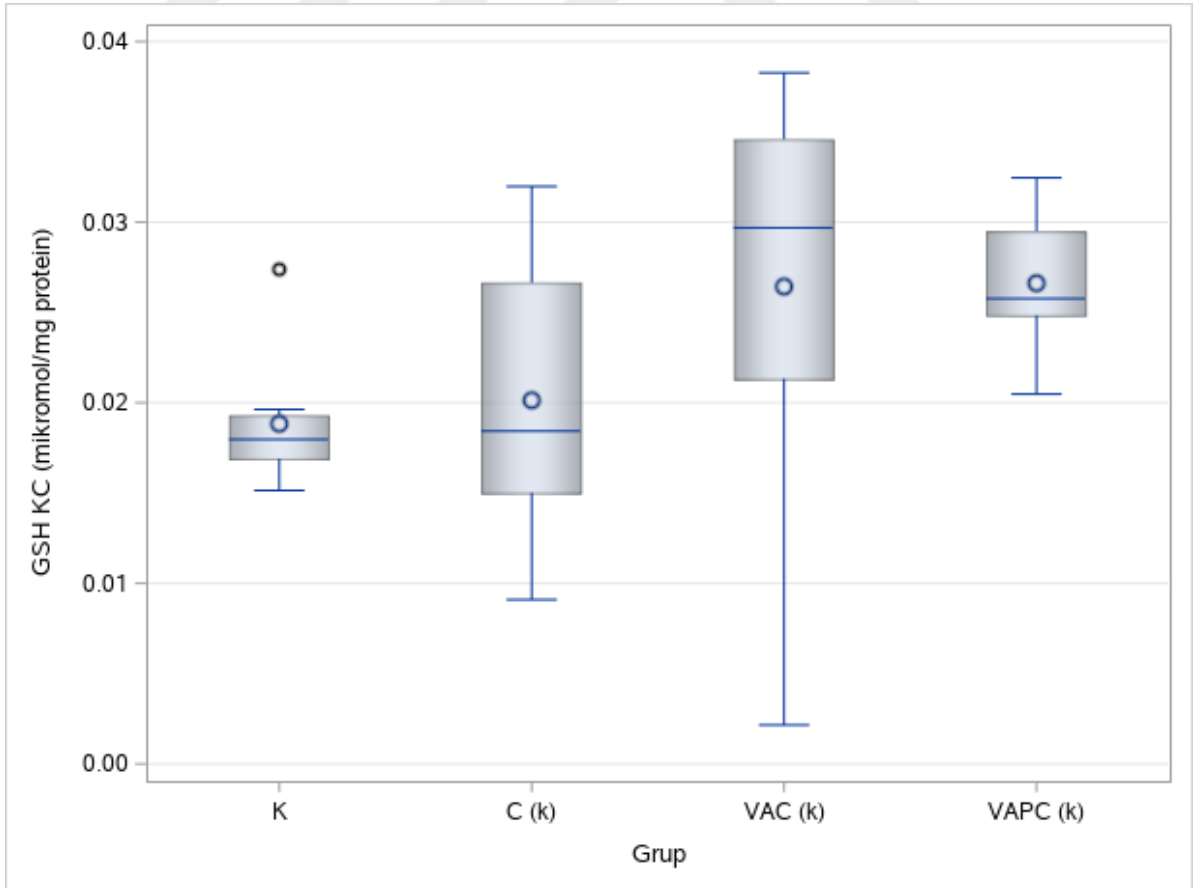
Grafik 4.13 Kronik Hasar Gruplarında tam kan GSH Düzeyleri (mikromol/mL)

Kronik hasar gruplarında karaciğer GSH düzeyleri

Karaciğer GSH düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.14 ve grafik 4.14 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 4.14 Kronik Hasar Gruplarında karaciğer GSH Düzeyleri (mikromol/mg protein)

Grup	N	GSH Karaciğer (mikromol/mg protein)	
		Ort	Sd
K	8	0.018	0.003
C (k)	8	0.020	0.008
VAC (k)	8	0.026	0.011
VAPC (k)	8	0.026	0.003



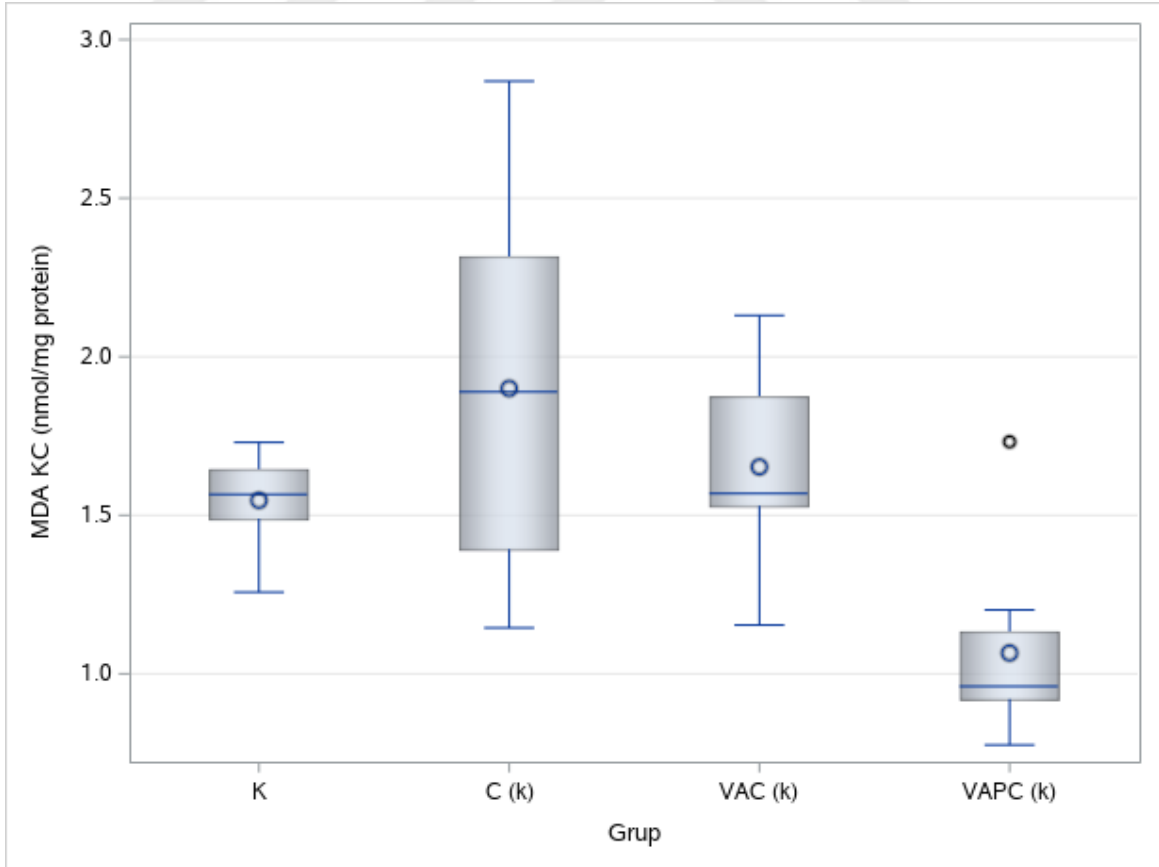
Grafik 4.14 Kronik Hasar Gruplarında karaciğer GSH Düzeyleri (mikromol/mg protein)

Kronik hasar gruplarında karaciğer MDA düzeyleri

Karaciğer MDA düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.15 ve grafik 4.15 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında C ve VAC grubuna göre VAPC grubunda anlamlı bir düşüş vardır ($p < 0.001$, $p < 0.05$).

Tablo 4.15 Kronik Hasar Gruplarında karaciğer MDA Düzeyleri (nmol/mg protein)

Grup	N	MDA Karaciğer (nmol/mg protein)	
		Ort	Sd
K	8	1.55	0.14
C (k)	8	1.90	0.59
VAC (k)	8	1.65	0.30
VAPC (k)	8	1.06	0.29



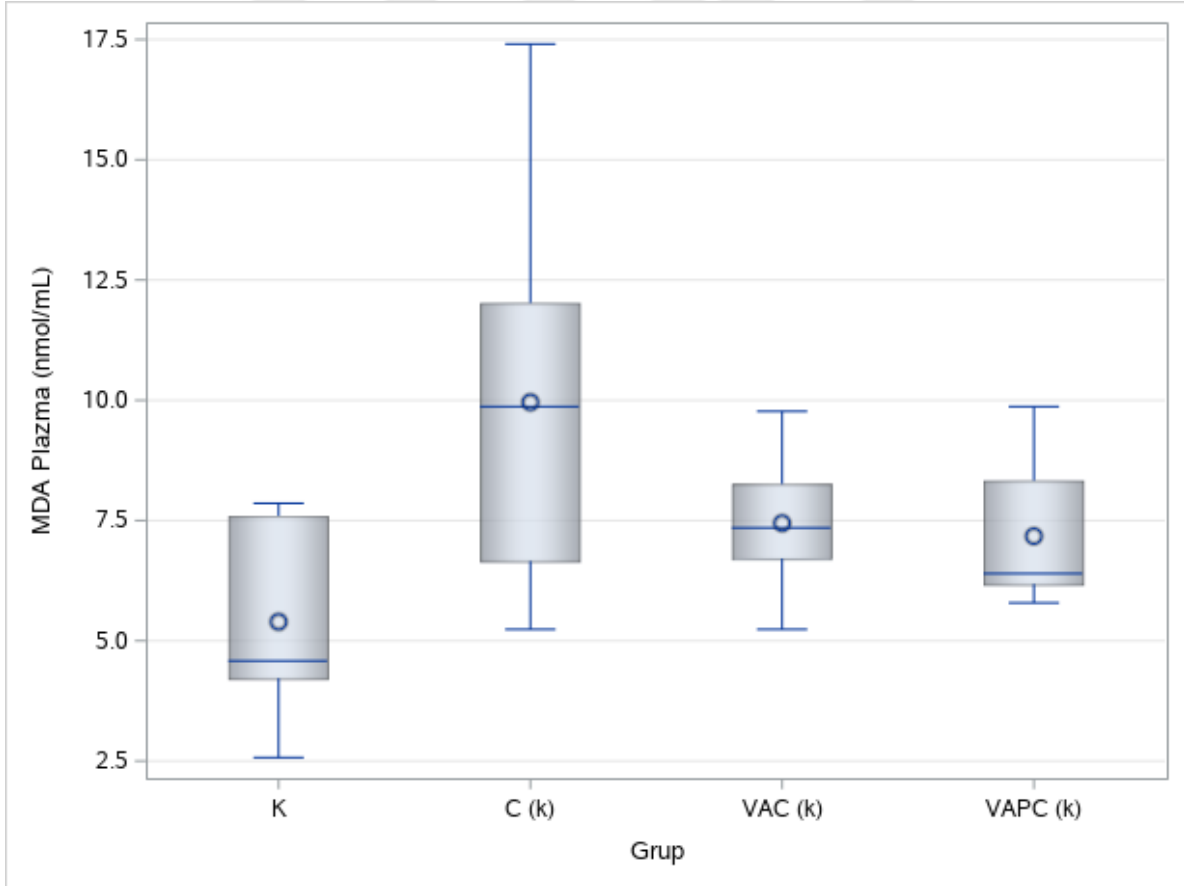
Grafik 4.15 Kronik Hasar Gruplarında karaciğer MDA Düzeyleri (nmol/mg protein)

Kronik hasar gruplarında plazma MDA düzeyleri

Plazma MDA düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.16 ve grafik 4.16 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p < 0.05$)

Tablo 4.16 Kronik Hasar Gruplarında plazma MDA Düzeyleri (nmol/mL)

Grup	N	MDA Plazma (nmol/mL)	
		Ort	Sd
K	8	5.39	2.00
C (k)	8	9.95	3.95
VAC (k)	8	7.44	1.39
VAPC (k)	8	7.17	1.54



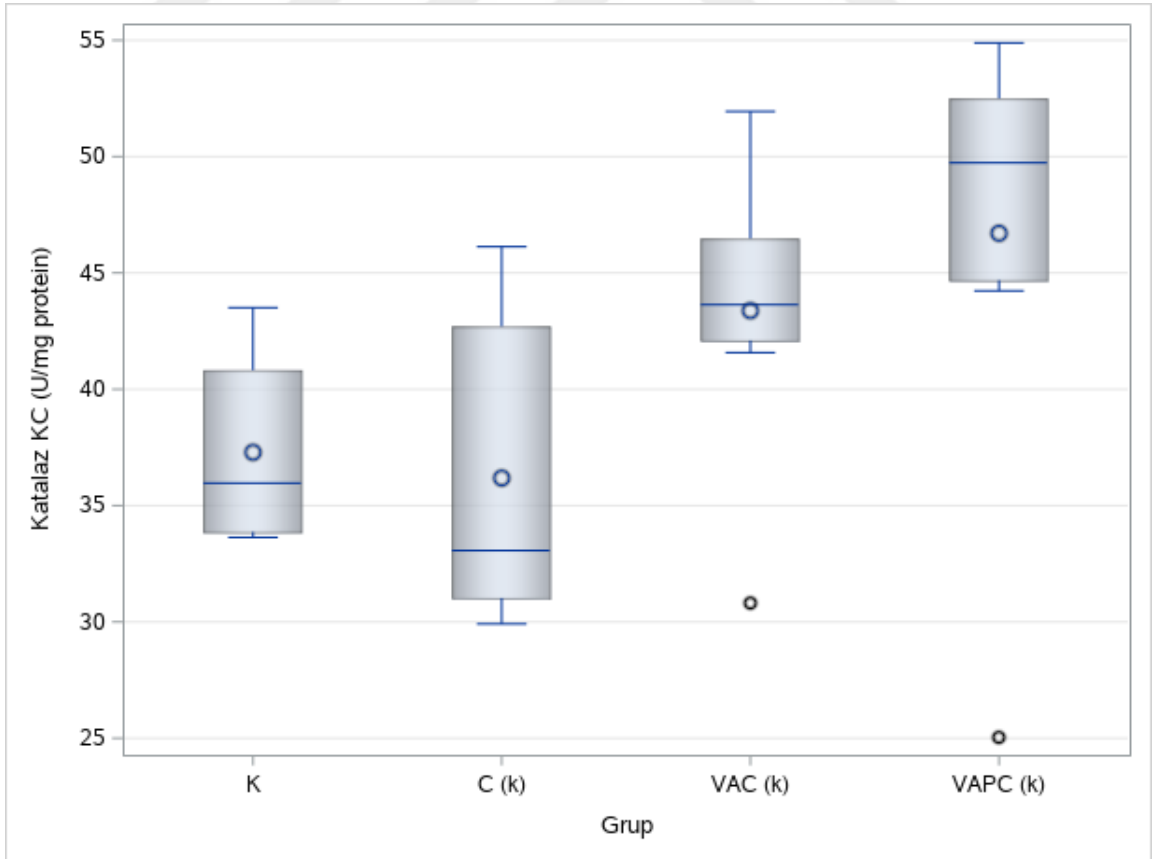
Grafik 4.16 Kronik Hasar Gruplarında plazma MDA Düzeyleri (nmol/mL)

Kronik hasar gruplarında karaciğer Katalaz aktivitesi

Karaciğer KAT düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.17 ve grafik 4.17 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında K ve C grubuna göre VAPC grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p < 0.05$, $p < 0.05$)

Tablo 4.17 Kronik Hasar Gruplarında karaciğer KAT Aktivitesi (U/mg protein)

Grup	N	Katalaz Karaciğer (U/mg protein)	
		Ort	Sd
K	8	37.28	4.09
C (k)	8	36.18	6.58
VAC (k)	8	43.37	6.07
VAPC (k)	8	46.70	9.48



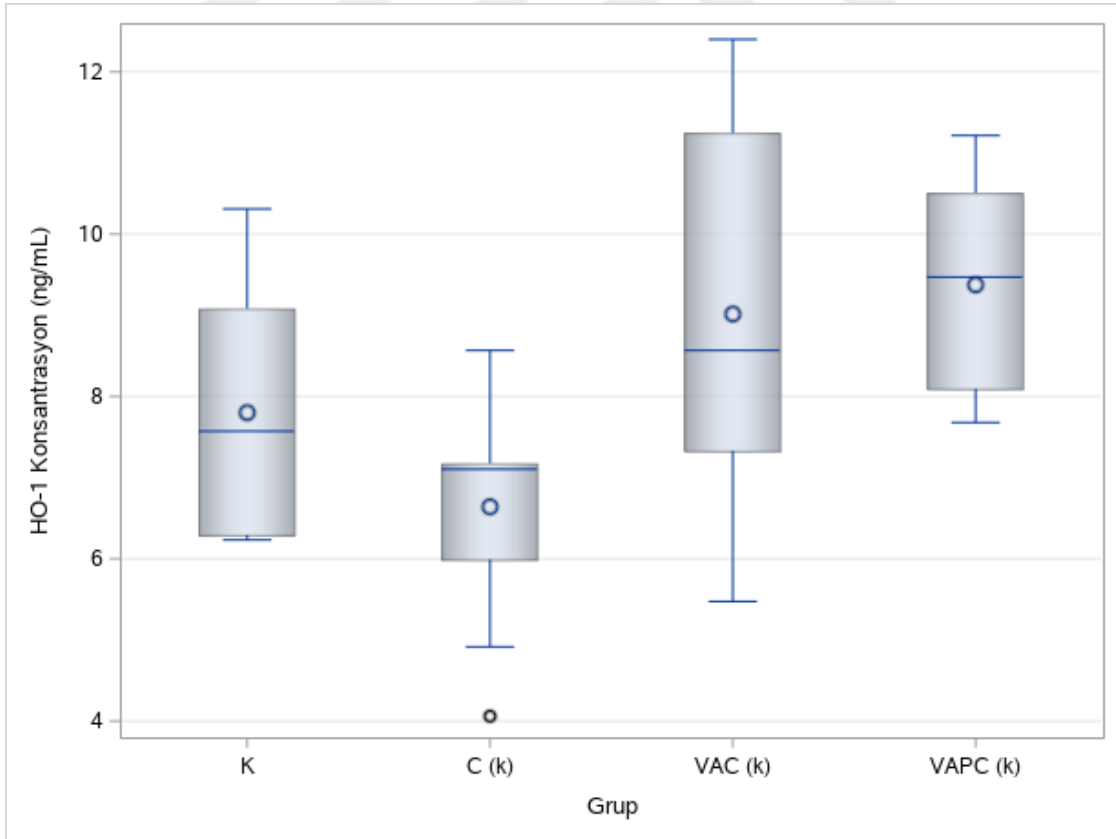
Grafik 4.17 Kronik Hasar Gruplarında karaciğer KAT Aktivitesi (U/mg protein)

Kronik hasar gruplarında serum HO-1 düzeyleri

Serum HO-1 düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.18 ve grafik 4.18 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında C grubu ile VAPC grubu kıyaslandığında VAPC grubu anlamlı olarak yükselmiştir ($p < 0.01$)

Tablo 4.18 Kronik Hasar Gruplarında serum HO-1 Düzeyleri (ng/mL)

Grup	N	HO-1(ng/mL)	
		Ort	Sd
K	8	7.80	1.65
C (k)	8	6.64	1.43
VAC (k)	8	9.01	2.50
VAPC (k)	8	9.37	1.38



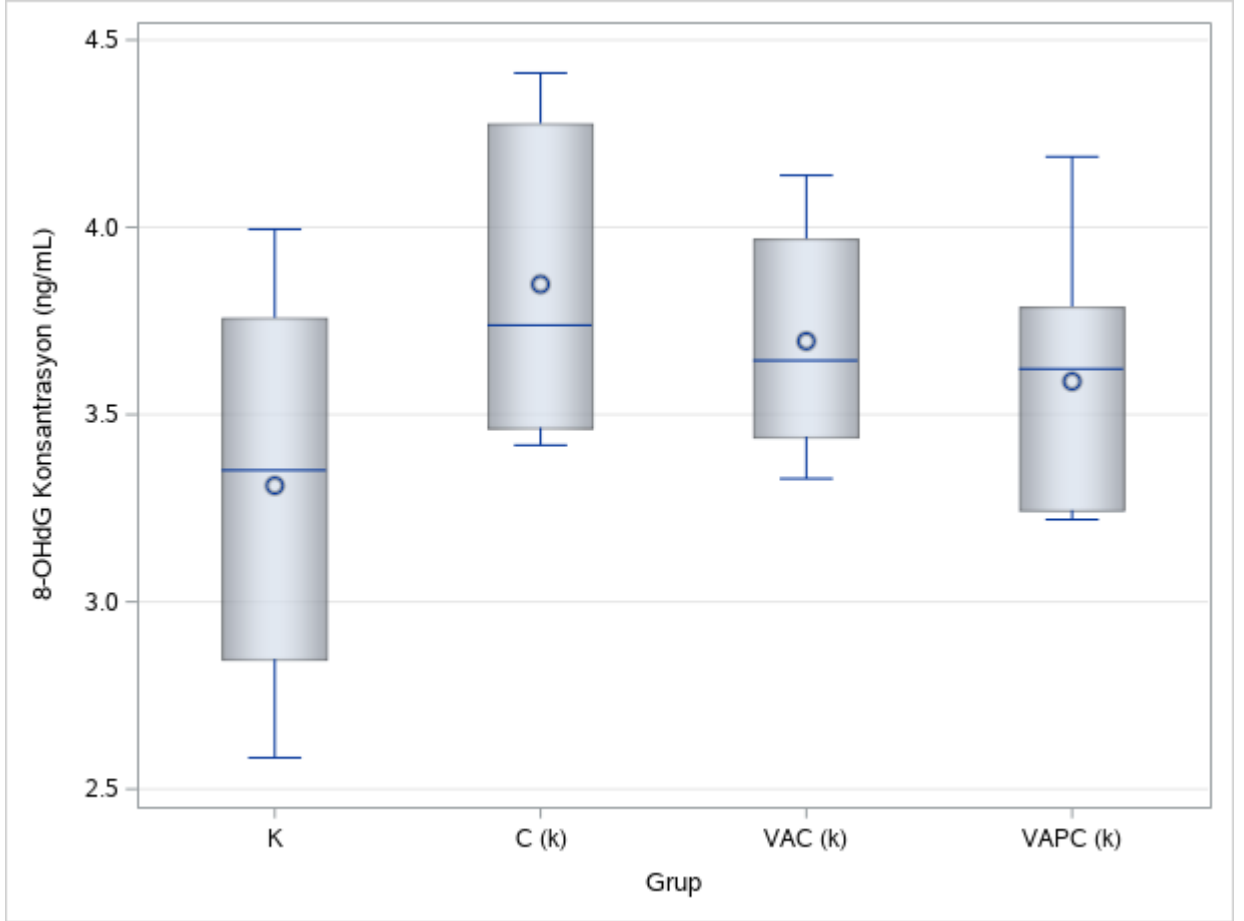
Grafik 4.18 Kronik Hasar Gruplarında serum HO-1 Düzeyleri (ng/mL)

Kronik hasar gruplarında serum 8-OHdG düzeyleri

Serum 8-OHdG düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.19 ve grafik 4.19 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında İstatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.19 Kronik Hasar Gruplarında serum 8-OHdG Düzeyleri (ng/mL)

Grup	N	8-OHdG (ng/mL)	
		Ort	Sd
K	8	3.31	0.52
C (k)	8	3.84	0.41
VAC (k)	8	3.69	0.30
VAPC (k)	8	3.58	0.34



Grafik 4.19 Kronik Hasar Gruplarında serum 8-OHdG Düzeyleri (ng/mL)

Akut hasar gruplarında serum total bilirubin ve direkt bilirubin düzeyleri

Total bilirubin düzeyleri K grubu ile kıyaslandığında C grubu anlamlı olarak yükselmiştir ($p<0.001$).

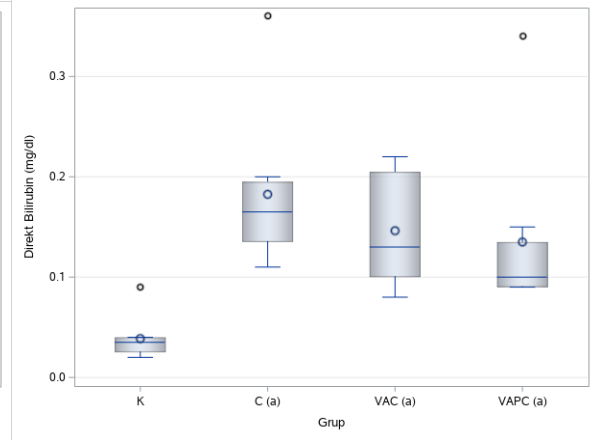
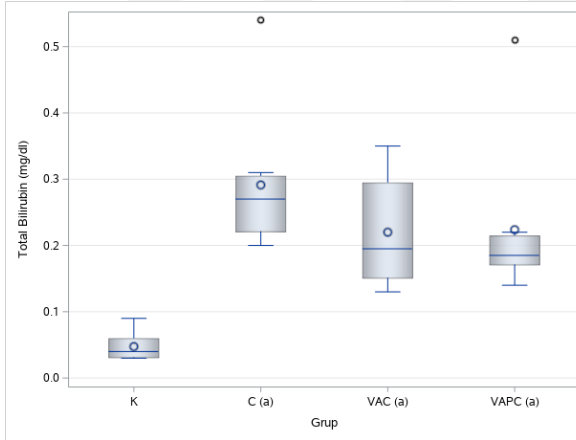
Direkt bilirubin düzeyleri K grubu ile kıyaslandığında C grubu anlamlı olarak yükselmiştir ($p<0.01$).

Tablo 4.20 AH Total Bilirubin(mg/dL)

Grup	N	Total Bilirubin(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	0.04	0.02
C (a)	8	0.29	0.10
VAC (a)	8	0.22	0.08
VAPC (a)	8	0.22	0.11

Tablo 4.21 AH Direkt Bilirubin(mg/dL)

Grup	N	Direkt Bilirubin(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	0.03	0.02
C (a)	8	0.18	0.07
VAC (a)	8	0.14	0.05
VAPC (a)	8	0.13	0.08



Grafik 4.20 AH Total Bilirubin (mg/dL)

Grafik 4.21 AH Direkt Bilirubin (mg/dL)

Akut hasar gruplarında serum total protein ve albumin düzeyleri

Total protein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$).

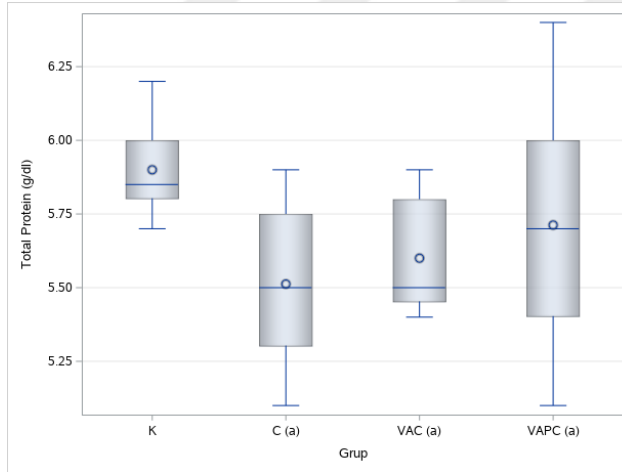
Albumin düzeylerinde K grubu ile kıyaslandığında C grubu anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.001$).

Tablo 4.22 AH Total Protein (g/dL)

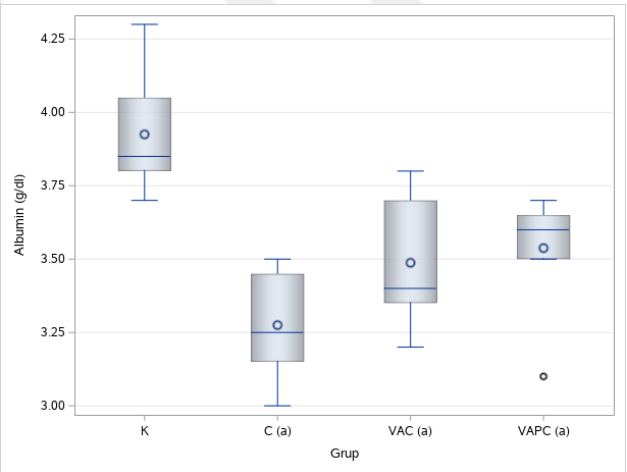
Grup	N	Total Protein(g/dL)	
		Ort	Sd
K	8	5.90	0.16
C (a)	8	5.51	0.28
VAC (a)	8	5.60	0.20
VAPC (a)	8	5.71	0.43

Tablo 4.23 AH Albumin (g/dL)

Grup	N	Albumin(g/dL)	
		Ort	Sd
K	8	3.92	0.19
C (a)	8	3.27	0.18
VAC (a)	8	3.48	0.21
VAPC (a)	8	3.53	0.19



Grafik 4.22 AH Total Protein düzeyleri (g/dL)



Grafik 4.23 AH Albumin düzeyleri (g/dL)

Akut hasar gruplarında AST ve ALT aktivitesi

AST düzeylerinde K grubu ile kıyaslandığında C grubu anlamlı olarak yükselmiştir ($p<0.001$). C grubu ile kıyaslandığında VAPC grubu anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

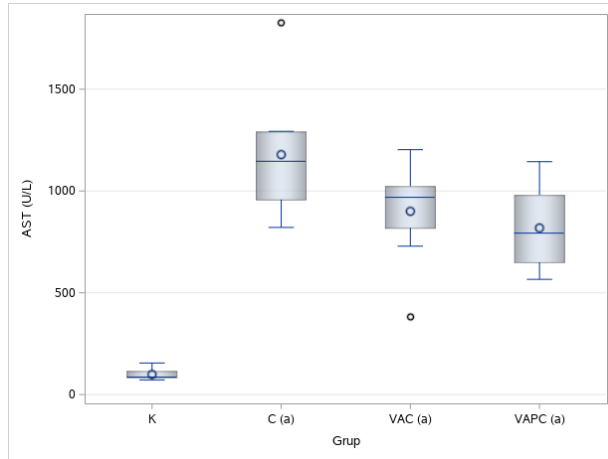
ALT düzeylerinde K grubu ile kıyaslandığında C grubu anlamlı olarak yükselmiştir ($p<0.001$). C grubu ile kıyaslandığında VAC ve VAPC gruplarındaki ALT seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma söz konusudur ($p<0.05$, $p<0.01$).

Tablo 4.24 AH AST aktivitesi (U/L)

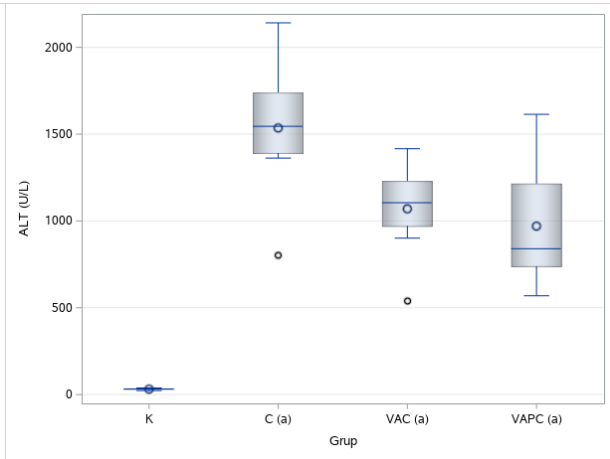
Grup	N	AST(U/L)	
		Ort	Sd
K	8	98.75	28.65
C (a)	8	1178.62	311.70
VAC (a)	8	900.12	247.37
VAPC (a)	8	818.37	203.26

Tablo 4.25 AH ALT aktivitesi (U/L)

Grup	N	ALT(U/L)	
		Ort	Sd
K	8	31.00	5.34
C (a)	8	1535.50	385.01
VAC (a)	8	1069.75	264.92
VAPC (a)	8	970.12	372.46



Grafik 4.24 AH AST aktivitesi (U/L)



Grafik 4.25 AH ALT aktivitesi (U/L)

Akut hasar gruplarında serum ALP ve LDH aktivitesi

ALP düzeyleri K grubu ile kıyaslandığında C grubu istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselmiştir ($p < 0.05$)

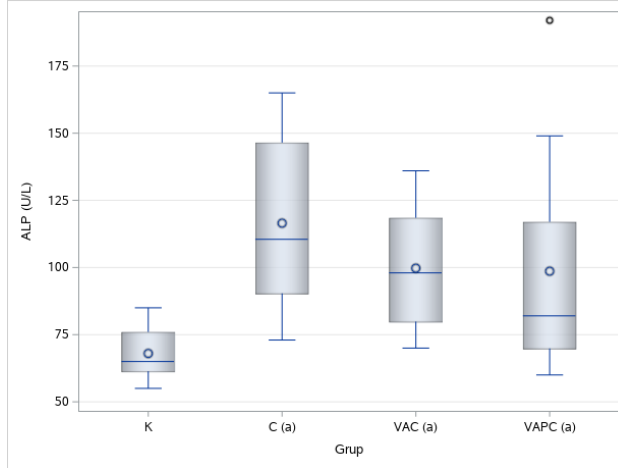
LDH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 4.26 AH ALP aktivitesi (U/L)

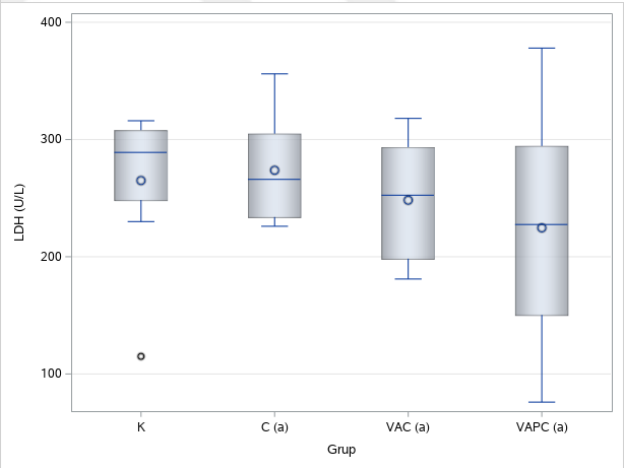
Grup	N	ALP(U/L)	
		Ort	Sd
K	8	68.00	10.99
C (a)	8	116.50	34.99
VAC (a)	8	99.75	23.92
VAPC (a)	8	98.62	46.63

Tablo 4.27 AH LDH aktivitesi (U/L)

Grup	N	LDH(U/L)	
		Ort	Sd
K	8	265.00	67.07
C (a)	8	273.75	45.67
VAC (a)	8	248.25	53.60
VAPC (a)	8	224.62	102.27



Grafik 4.26 AH ALP aktivitesi (U/L)



Grafik 4.27 AH LDH aktivitesi (U/L)

Akut hasar gruplarında serum trigliserit ve kolesterol düzeyleri

K grubundaki Trigliserit düzeyleri C grubu kıyaslandığında, C grubundaki trigliserit düzeyleri anlamlı olarak yükselmiştir ($p < 0.001$).

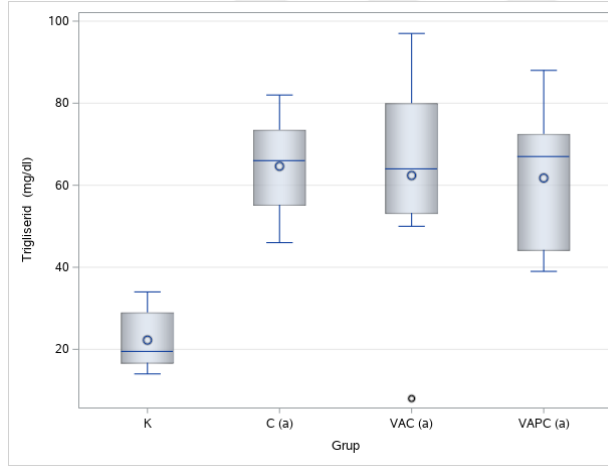
Kolesterol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 4.28 AH Trigliserid düzeyleri (mg/dL)

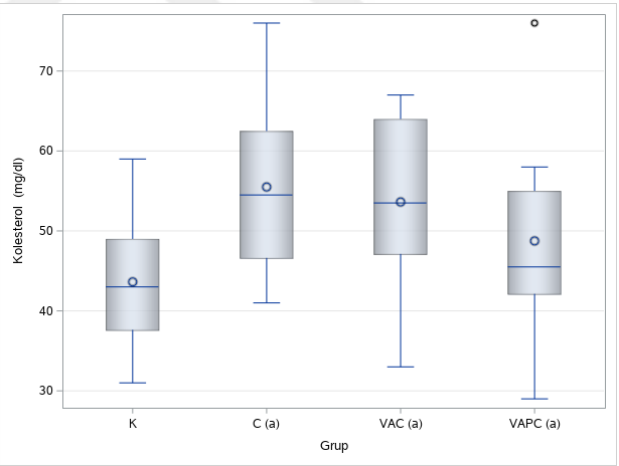
Grup	N	Trigliserid(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	22.25	7.36
C (a)	8	64.62	12.08
VAC (a)	8	62.37	27.28
VAPC (a)	8	61.75	17.72

Tablo 4.29 AH Kolesretol düzeyleri (mg/dL)

Grup	N	Kolesterol(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	43.62	8.89
C (a)	8	55.50	11.62
VAC (a)	8	53.62	11.52
VAPC (a)	8	48.75	13.87



Grafik 4.28 AH TG düzeyleri (mg/dL)



Grafik 4.29 AH Kolesretol düzeyleri (mg/dL)

Akut hasar gruplarında serum LDL ve HDL kolesterol Düzeyleri

LDL kolesterol düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$).

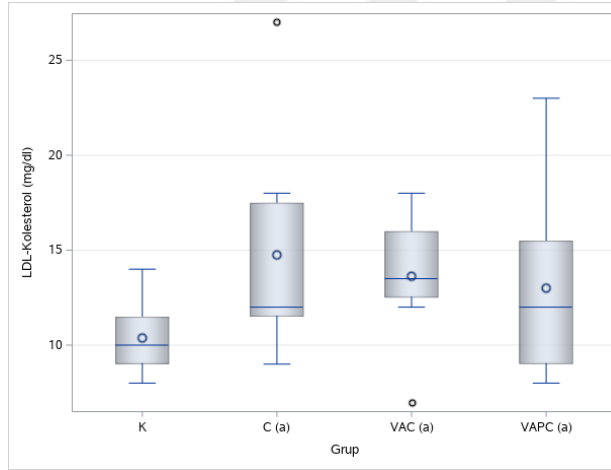
HDL kolesterol düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.30 AH LDL düzeyleri(mg/dL)

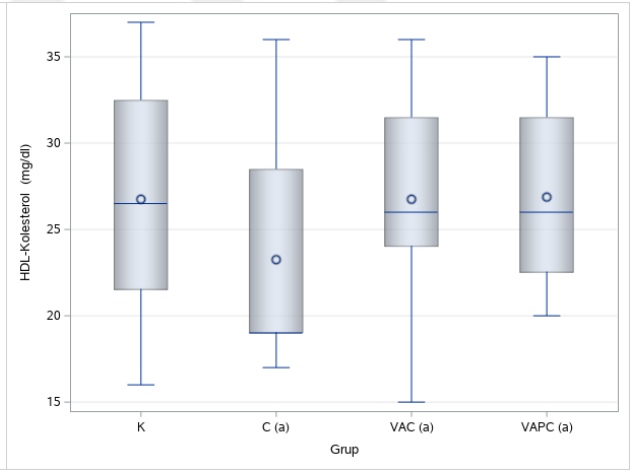
Grup	N	LDL Kolesterol(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	10.37	2.06
C (a)	8	14.75	5.80
VAC (a)	8	13.62	3.33
VAPC (a)	8	13.00	5.18

Tablo 4.31 AH HDL düzeyleri(mg/dL)

Grup	N	HDL Kolesterol(mg/dL)	
		Ort	Sd
K	8	26.75	7.16
C (a)	8	23.25	7.26
VAC (a)	8	26.75	6.60
VAPC (a)	8	26.87	5.56



Grafik 4.30 AH LDL düzeyleri(mg/dL)



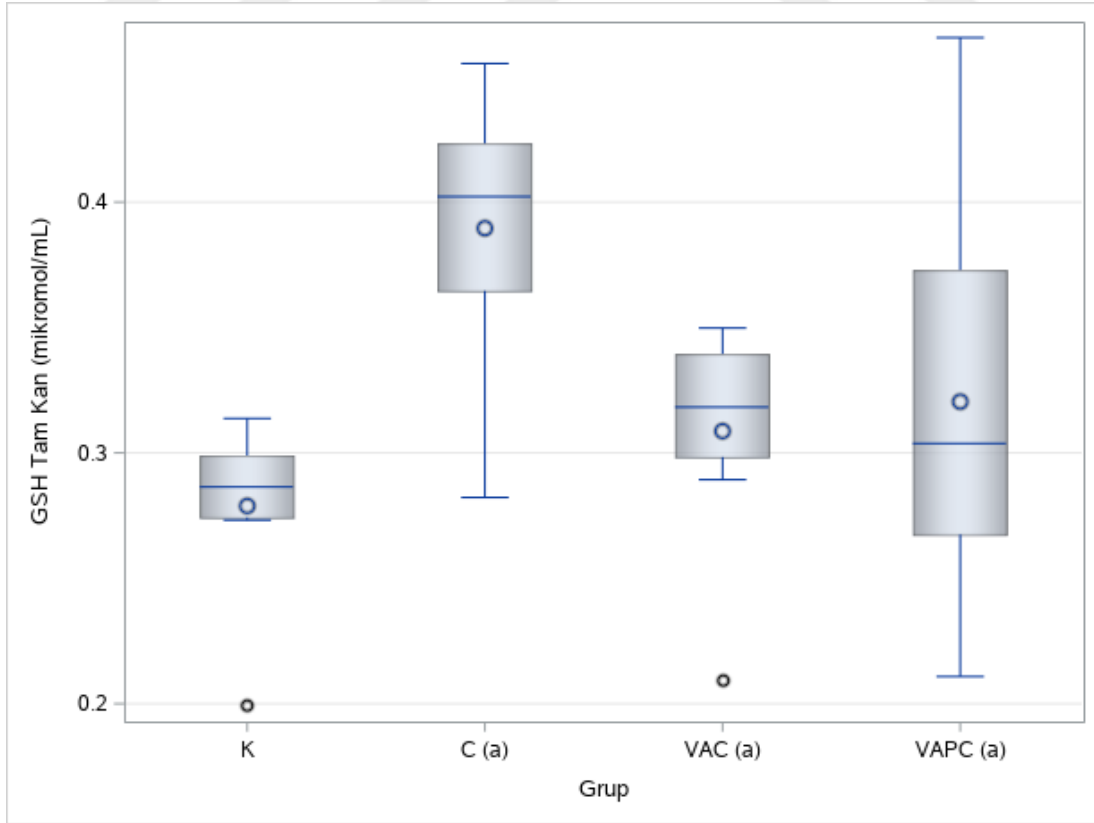
Grafik 4.31 AH HDL düzeyleri(mg/dL)

Akut hasar gruplarında tam kan GSH düzeyleri

Tam kan GSH düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.32 ve grafik 4.32 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında K grubu ile kıyaslandığında C grubu anlamlı olarak yükselmiştir ($p < 0.01$). C grubu ile kıyaslandığında VAC grubu anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 4.32 Akut Hasar Gruplarında tam kan GSH Düzeyleri (mikromol/mL)

Grup	N	GSH Tam Kan (mikromol/mL)	
		Ort	Sd
K	8	0.27	0.03
C (a)	8	0.38	0.05
VAC (a)	8	0.30	0.04
VAPC (a)	8	0.32	0.08



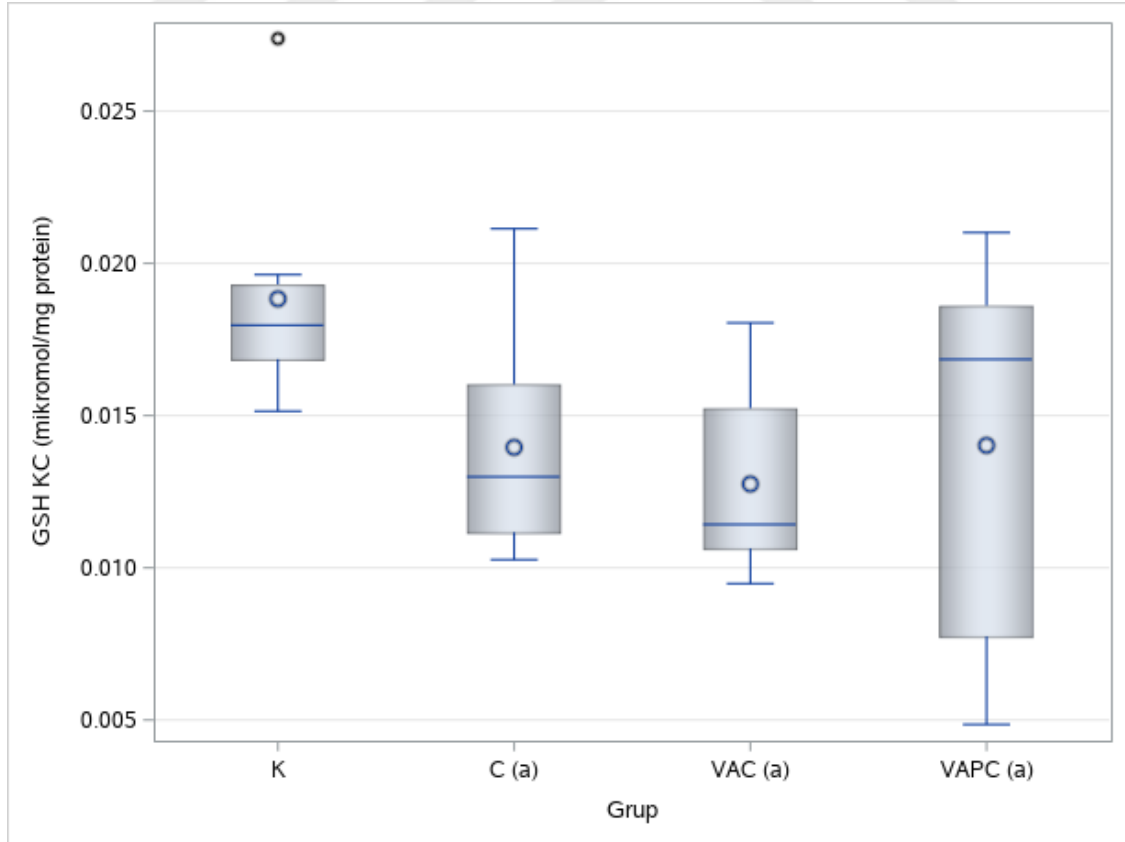
Grafik 4.32 Akut Hasar Gruplarında tam kan GSH Düzeyleri (mikromol/mL)

Akut hasar gruplarında karaciğer GSH düzeyleri

Karaciğer GSH düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.33 ve grafik 4.33 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında K grubu ile kıyaslandığında VAC grubu anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 4.33 Akut Hasar Gruplarında karaciğer GSH Düzeyleri (mikromol/mg protein)

Grup	N	GSH Karaciğer (mikromol/mg protein)	
		Ort	Sd
K	8	0.02	0.003
C (a)	8	0.01	0.003
VAC (a)	8	0.01	0.003
VAPC (a)	8	0.01	0.00



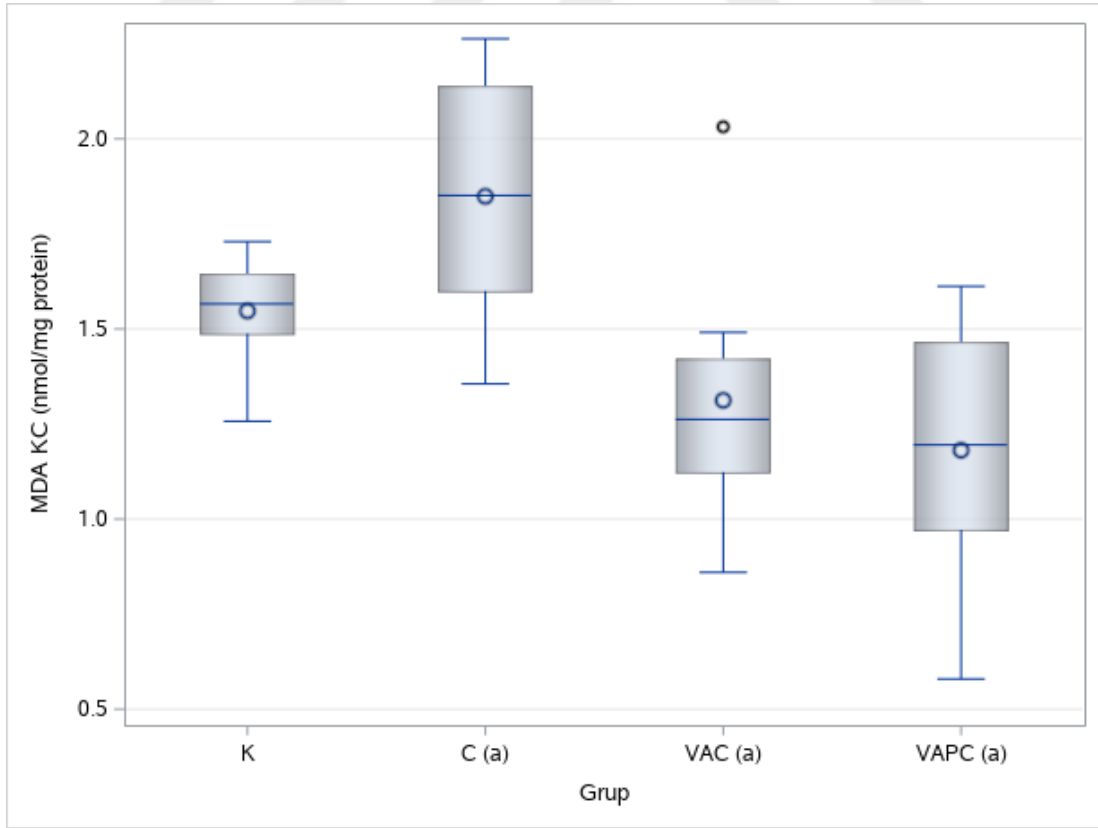
Grafik 4.33 Akut Hasar Gruplarında karaciğer GSH Düzeyleri (mikromol/mg protein)

Akut hasar gruplarında karaciğer MDA düzeyleri

Karaciğer MDA düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.34 ve grafik 4.34 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında C grubu ile kıyaslandığında VAC ve VAPC grupları anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.01$, $p < 0.001$).

Tablo 4.34 Akut Hasar Gruplarında karaciğer MDA Düzeyleri (nmol/mg protein)

Grup	N	MDA Karaciğer (nmol/mg protein)	
		Ort	Sd
K	8	1.54	0.14
C (a)	8	1.84	0.32
VAC (a)	8	1.31	0.34
VAPC (a)	8	1.18	0.34



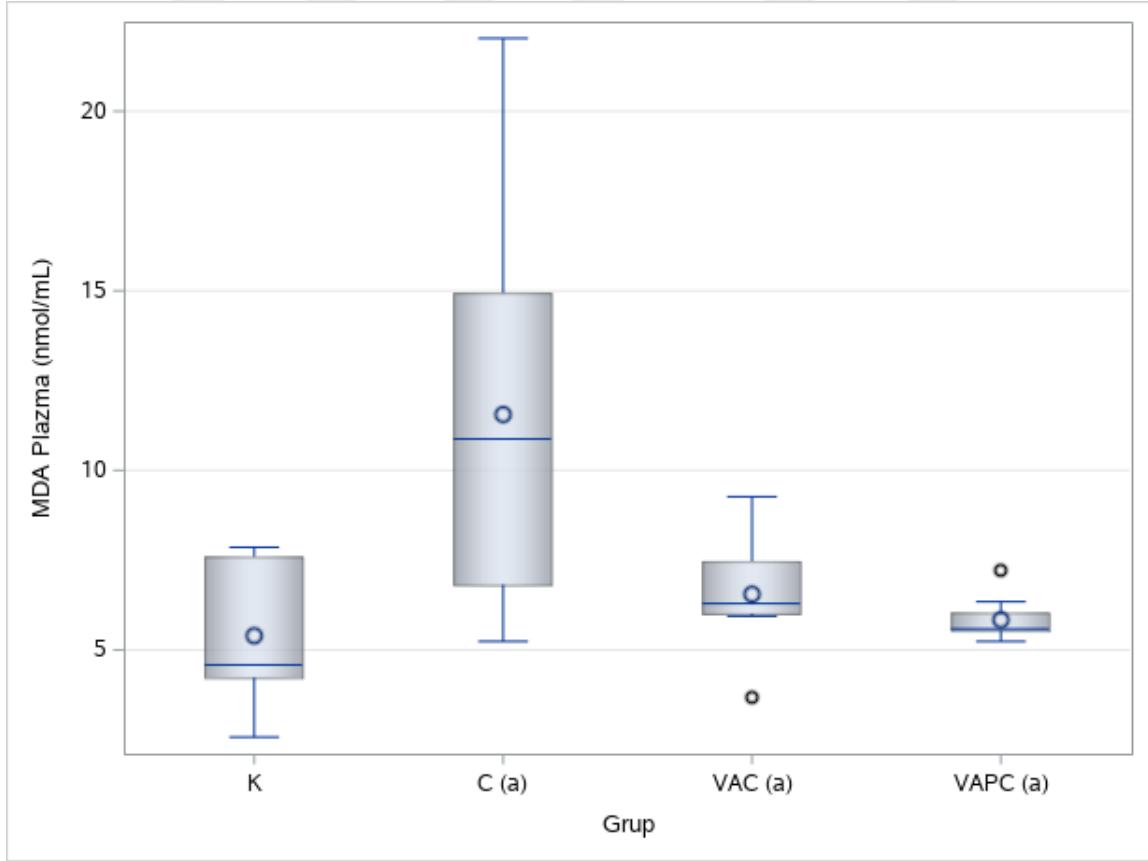
Grafik 4.34 Akut Hasar Gruplarında karaciğer MDA Düzeyleri (nmol/mg protein)

Akut hasar gruplarında plazma MDA düzeyleri

Plazma MDA düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.35 ve grafik 4.35 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında K grubu ile C grubu kıyaslandığında C grubunda anlamlı bir yükseliş gözlenmiştir ($p < 0.01$). C grubu ile kıyaslandığında VAC ve VAPC grupları anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.01$, $p < 0.01$).

Tablo 4.35 Akut Hasar Gruplarında plazma MDA Düzeyleri (nmol/mL)

Grup	N	MDA Plazma (nmol/mL)	
		Ort	Sd
K	8	5.39	2.00
C (a)	8	11.55	5.65
VAC (a)	8	6.55	1.61
VAPC (a)	8	5.83	0.65



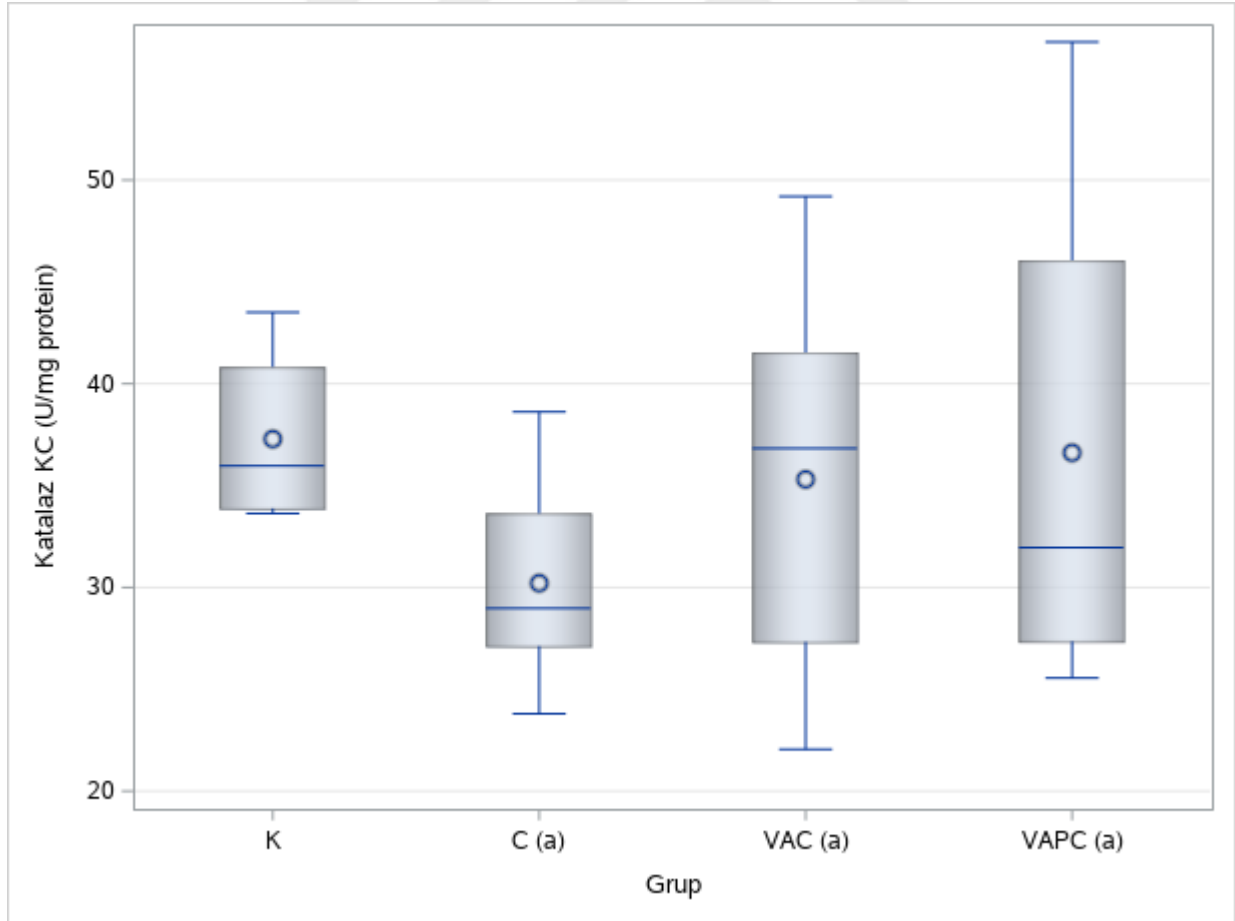
Grafik 4.35 Akut Hasar Gruplarında plazma MDA Düzeyleri (nmol/mL)

Akut hasar gruplarında karaciğer Katalaz aktivitesi

Karaciğer KAT düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.36 ve grafik 4.36 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında gruplar arasında anlamlı düzeyde fark olmadığı bulunmuştur.

Tablo 4.36 Akut Hasar Gruplarında karaciğer KAT Aktivitesi (U/mg protein)

Grup	N	Katalaz Karaciğer (U/mg protein)	
		Ort	Sd
K	8	37.28	4.09
C (a)	8	30.21	4.84
VAC (a)	8	35.30	9.57
VAPC (a)	8	36.61	12.41



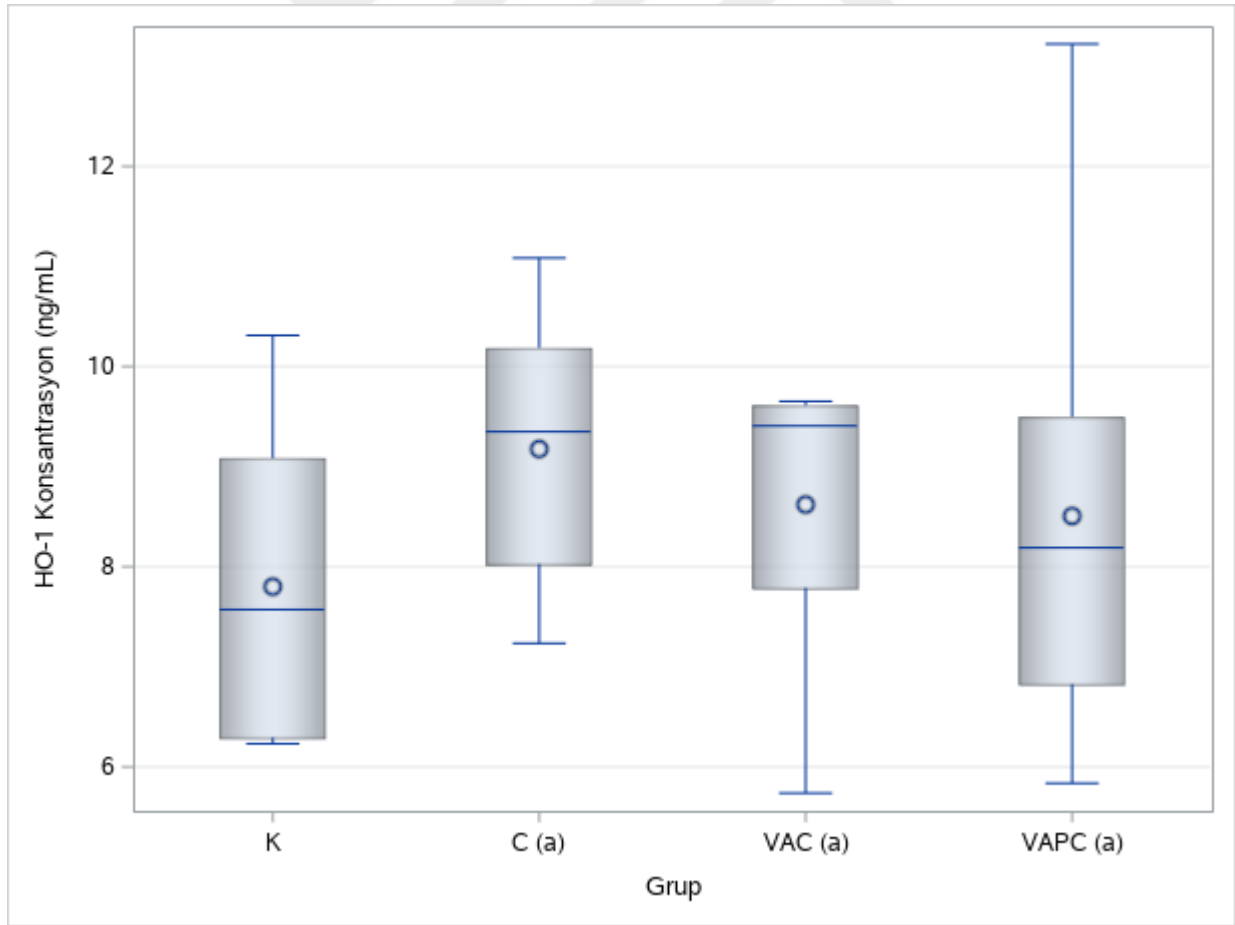
Grafik 4.36 Akut Hasar Gruplarında karaciğer KAT Aktivitesi (U/mg protein)

Akut hasar gruplarında serum HO-1 düzeyleri

Serum HO-1 düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.37 ve grafik 4.37 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında gruplar arasında anlamlı düzeyde fark olmadığı bulunmuştur.

Tablo 4.37 Akut Hasar Gruplarında serum HO-1 Düzeyleri (ng/mL)

Grup	N	HO-1(ng/mL)	
		Ort	Sd
K	8	7.80	1.65
C (a)	8	9.17	1.37
VAC (a)	8	8.62	1.45
VAPC (a)	8	8.50	2.35



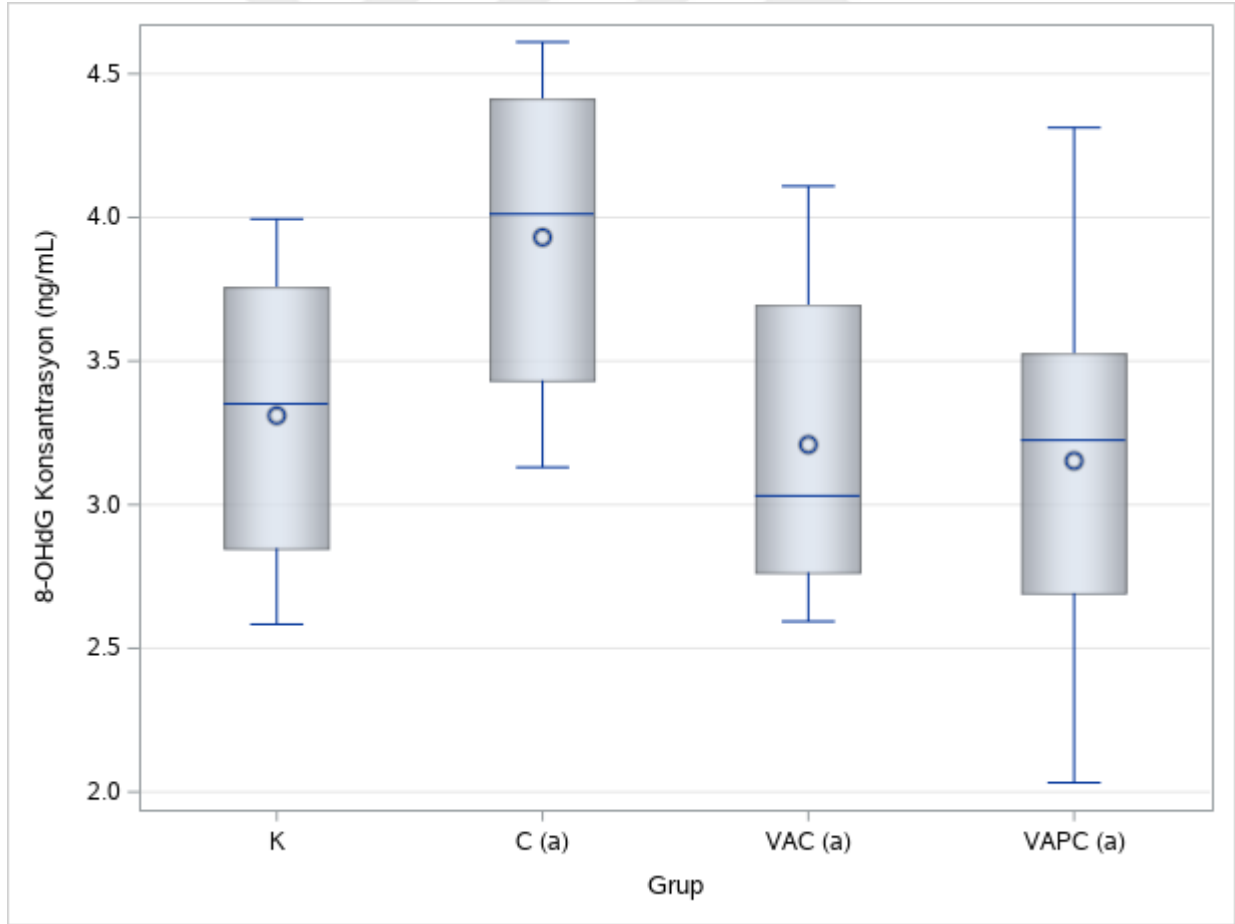
Grafik 4.37 Akut Hasar Gruplarında serum HO-1 Düzeyleri (ng/mL)

Akut hasar gruplarında serum 8-OHdG düzeyleri

Serum 8-OHdG düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 4.38 ve grafik 4.38 de verilmiştir (ortalama \pm SD). Yapılan istatistiksel analiz sonrasında gruplar arasında anlamlı düzeyde fark olmadığı bulunmuştur.

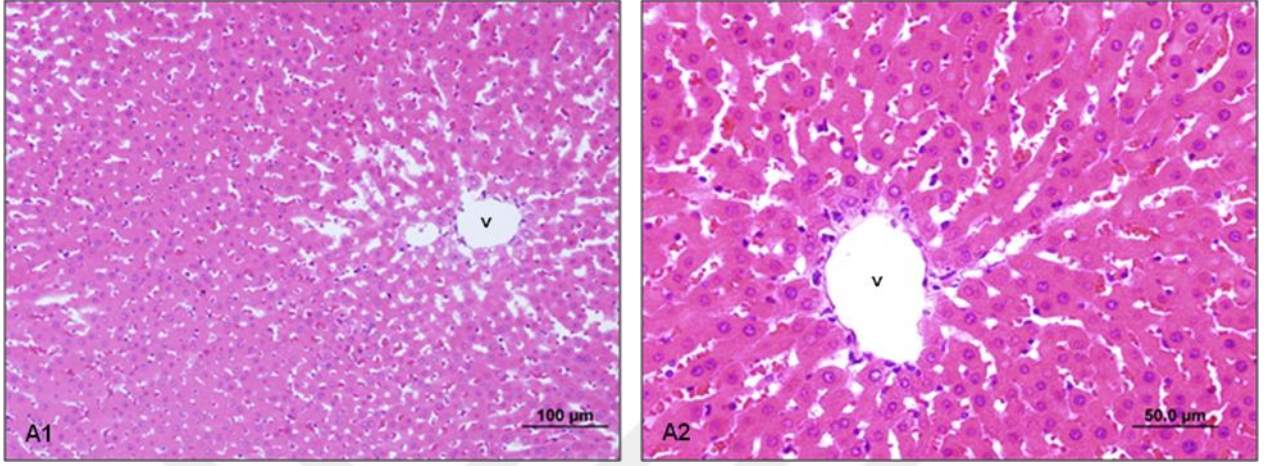
Tablo 4.38 Akut Hasar Gruplarında serum 8-OHdG Düzeyleri (ng/mL)

Grup	N	8-OHdG (ng/mL)	
		Ort	Sd
K	8	3.31	0.52
C (a)	8	3.93	0.56
VAC (a)	8	3.21	0.57
VAPC (a)	8	3.15	0.72



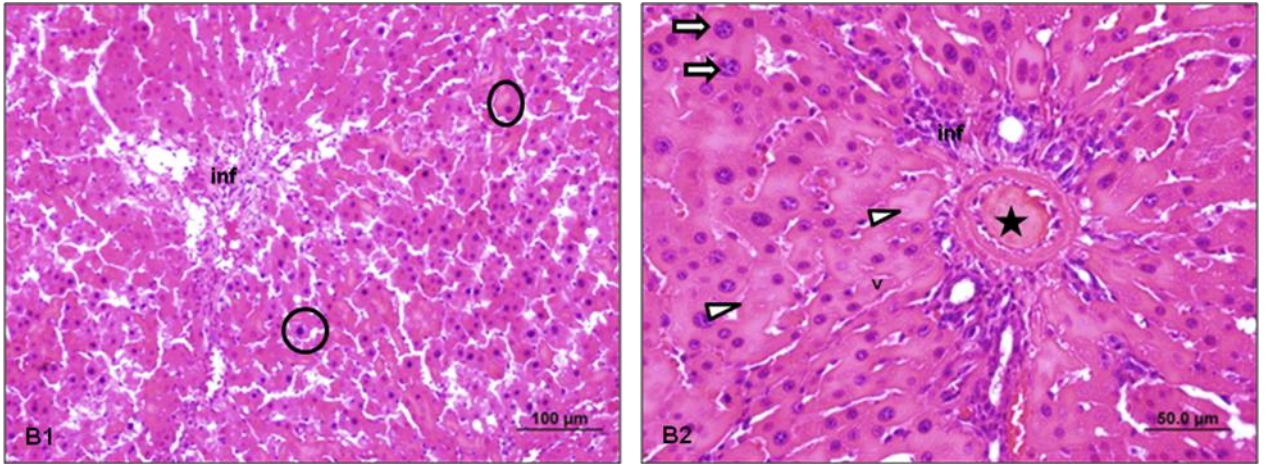
Grafik 4.38 Akut Hasar Gruplarında serum 8-OHdG Düzeyleri (ng/mL)

4.2 – Histolojik Bulgular



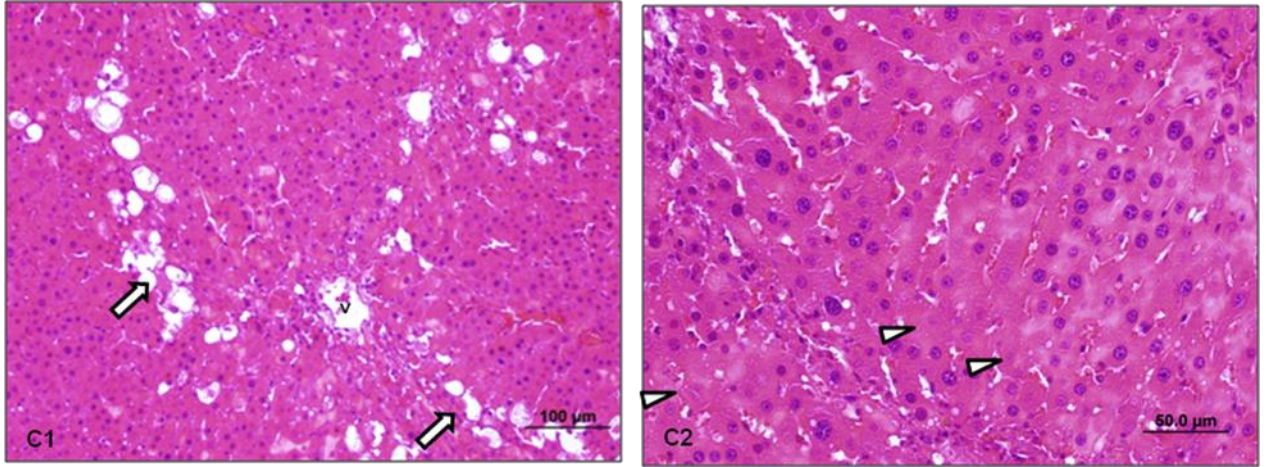
Şekil 4.2.1 K grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü

Kontrol (K) grubu: Kontrol grubuna ait deney hayvanlarının karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde hepatosit hücreleri, sinüzoidal yapılar ve vena sentralis (v) yapılarıyla beraber normal karaciğer yapısı görülmekte (A1-A2) (HE, scale bar:100µm, 50.0µm).



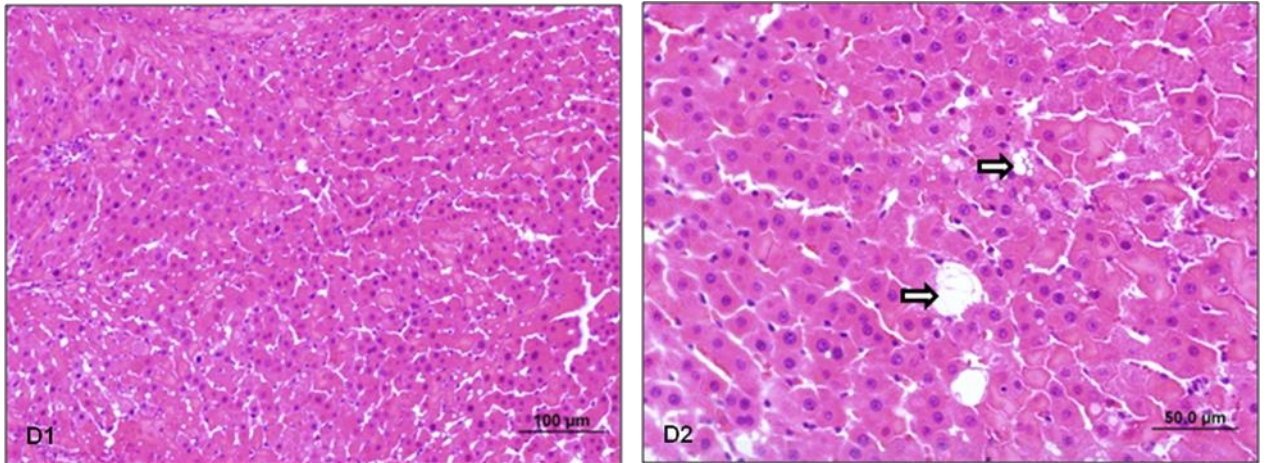
Şekil 4.2.2 KH C grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü

CCl₄ (C) kronik hasar grubu: Kronik hasar C grubuna ait deney hayvanlarının karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde K grubuyla karşılaştırıldığında parankim dokuda piknotik nükleuslu eozinofilik sitoplazmalı nekrotik hücreler (O), asimetric nükleer yapıli hepatosit hücreleri (→), hepatosit hücrelerinde karyolizis (▶) ve portal alanda inflamasyon (inf) ve vasküler kongesyon (*) dikkat çekmekte (B1-B2), (HE, scale bar: 100µm, 50.0µm)



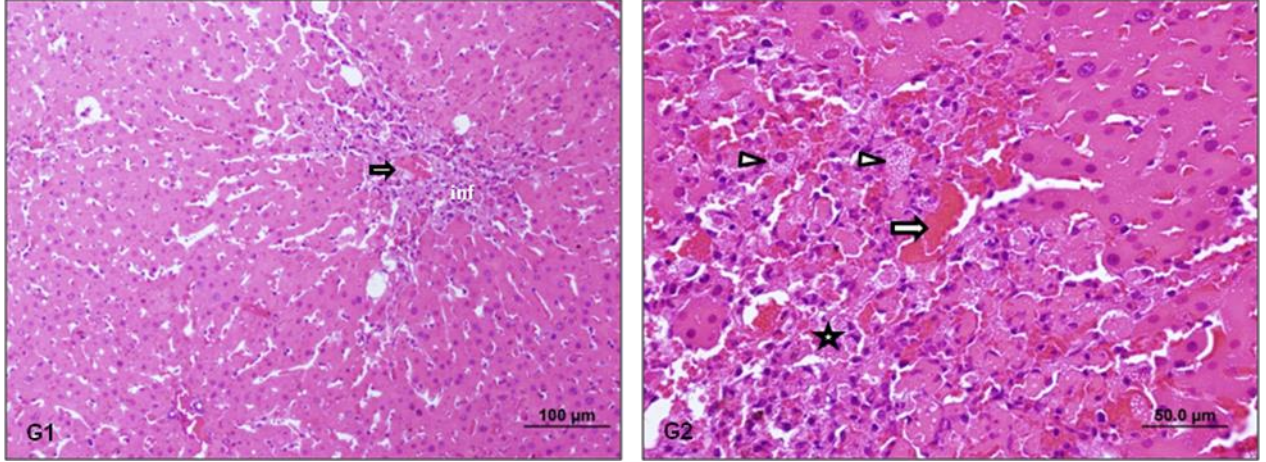
Şekil 4.2.3 KH VAC grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü

CCl₄ + VA (VAC) kronik hasar grubu: Kronik hasar VAC grubuna ait deney hayvanlarının karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde kronik hasar C grubuyla karşılaştırıldığında azalmış hasara rağmen parankim dokuda makroveziküler yapıların (→) ve karyolizisin (▶) devam ettiği gözlenmekte (C1-C2) (HE, scale bar:100µm, 50.0µm).



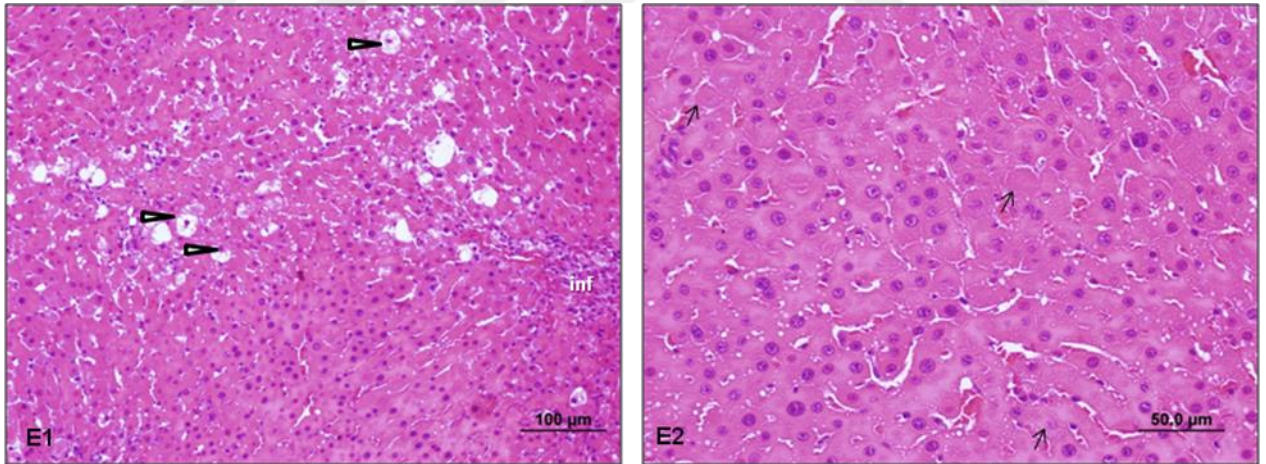
Şekil 4.2.4 KH VAPC grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü

CCl₄ + VA+ pro (VAPC) kronik hasar grubu: Kronik hasar VAPC grubuna ait deney hayvanlarının karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde kronik hasar C grubuyla karşılaştırıldığında azalmış hasar ve birkaç makroveziküler yapıların (→) dışında normale yakın karaciğer gözlenmekte (D1-D2) (HE, scale bar:100µm, 50.0µm).



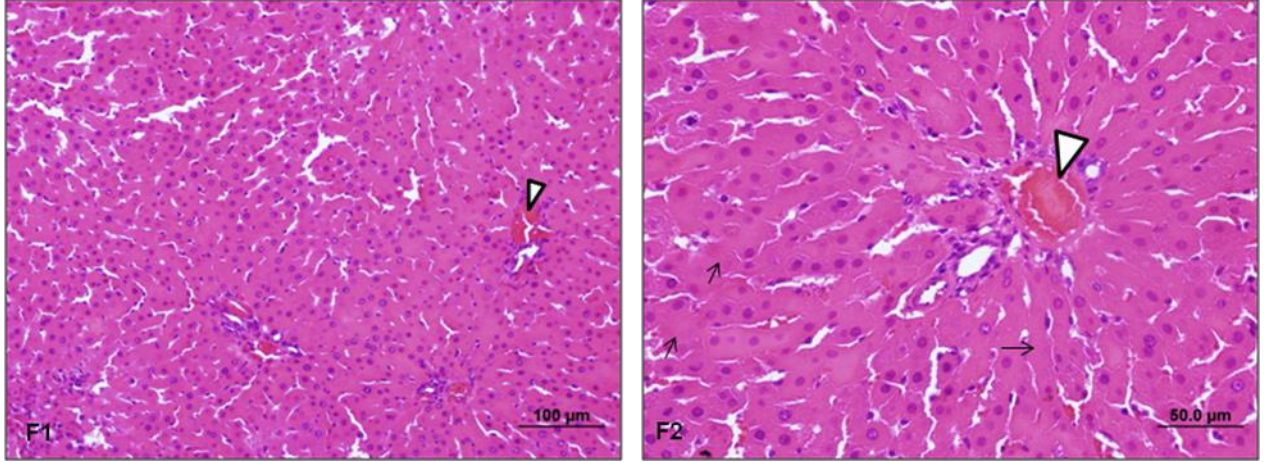
Şekil 4.2.5 AH C grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü

CCl₄ (C) akut hasar grubu: Akut hasar C grubuna ait deney hayvanlarının karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde parankim dokuda mikroveziküler yapı (▶) ve dejenerasyon hepatosit hücreleri (*), inflamasyon (inf) ve vasküler kongesyon (→) dikkat çekmekte (G1-G2) (HE, scale bar:100µm, 50.0µm).



Şekil 4.2.6 AH VAC grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü

VA + CCl₄ (VAC) akut hasar grubu: Akut hasar VAC grubuna ait deney hayvanlarının karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde akut hasar C grubuyla karşılaştırıldığında azalmış hasar gözlenmekle birlikte parankim dokuda kısmi mikroveziküler yapı hücrelerin (▶) ve karyolizisin (→) devam ettiği gözlenmektedir (E1-E2), (HE, scale bar:100µm, 50.0µm).



Şekil 4.2.7 AH VAPC grubunu oluşturan sıçan karaciğerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü

VA + pro + CCl₄ (VAPC) akut hasar grubu: Akut hasar VAPC grubuna ait deney hayvanlarının karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde akut hasar C grubuyla karşılaştırıldığında portal alanda görülen birkaç vasküler kongesyon (►) dışında azalmış hasar ve normale yakın karaciğer gözlenmekte (F1-F2), (HE, scale bar:100µm, 50.0µm).

Karaciğer histoloji skorlama

KARACİĞER	Kar yoli zis	Nek roz	Asimetrik nükleer yapıdaki hepatosit çekirdekleri	Damar kongesyonu	Mikroveziküler yapılı hepatosit hücreleri	Makroveziküler yapılı hepatosit hücreleri	İnflamasyon
K1	0	0	0	0	0	0	0
K2	0	0	0	0	0	0	0
K3	0	0	0	0	0	0	0
K4	0	0	0	0	0	0	0
K5	0	0	0	0	0	0	0
K6	0	0	0	0	0	0	0
K7	0	0	0	0	0	0	0

K8	0	0	0	0	0	0	0
C (k)1	3	3	3	2	1	1	3
C (k)2	3	3	3	3	1	1	2
C (k)3	3	3	3	3	1	0	3
C (k)4	3	3	3	3	0	1	3
C (k)5	3	3	3	3	0	0	3
C (k)6	3	3	3	3	0	1	3
C (k)7	3	3	3	3	1	1	3
C (k)8	3	3	3	3	1	1	3
VAC (k) 1	2	1	0	1	1	3	0
VAC (k) 2	3	1	0	2	1	3	0
VAC (k) 3	2	1	1	1	1	3	1
VAC (k) 4	1	0	0	1	0	3	2
VAC (k) 5	2	1	1	1	0	3	2
VAC (k) 6	2	1	0	1	1	3	1
VAC (k) 7	2	0	0	1	0	3	0
VAC (k) 8	2	1	1	1	1	3	0
VAPC (k) 1	0	0	0	0	0	2	1
VAPC (k) 2	0	0	0	0	0	2	0
VAPC (k) 3	1	0	0	0	0	3	0
VAPC (k) 4	0	0	0	0	0	3	0
VAPC (k) 5	0	0	0	0	0	2	1

VAPC (k) 6	0	0	0	0	0	2	0
VAPC (k) 7	0	1	0	0	0	2	1
VAPC (k) 8	0	0	0	0	0	2	0
C (a) 1	2	2	2	3	3	1	3
C (a) 2	1	2	1	3	2	1	3
C (a) 3	1	1	1	3	2	1	2
C (a) 4	1	1	0	2	2	1	3
C (a) 5	1	1	1	3	3	1	3
C (a) 6	0	2	1	2	3	1	2
C (a) 7	0	2	0	2	2	1	3
C (a) 8	0	2	1	2	3	1	3
VAC (a) 1	2	1	0	0	3	1	1
VAC (a) 2	2	0	0	0	2	1	0
VAC (a) 3	2	1	0	0	2	1	0
VAC (a) 4	1	1	0	1	2	1	0
VAC (a) 5	3	0	0	0	2	1	0
VAC (a) 6	3	0	0	0	3	0	1
VAC (a) 7	2	0	0	0	3	0	0
VAC (a) 8	1	0	0	0	3	1	1

VAPC (a) 1	0	0	0	3	0	0	1
VAPC (a) 2	1	0	0	2	0	0	1
VAPC (a) 3	0	0	0	2	0	0	0
VAPC (a) 4	0	0	0	2	0	0	0
VAPC (a) 5	0	0	0	3	0	0	0
VAPC (a) 6	0	0	0	3	0	0	1
VAPC (a) 7	0	0	0	3	0	1	0
VAPC (a) 8	1	0	0	2	0	1	0

Skorlamada 0: HASAR YOK, 1: AZ HASAR, 2: ORTA HASAR, 3:YOĞUN HASAR olarak skorlanmıştır.

5 - TARTIŞMA

Kronik hasar gruplarındaki serum total bilirubin ve direkt bilirubin düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubundaki total bilirubin ve direkt bilirubin seviyeleri yükselmiştir ($p<0.001, p<0.001$). Bu yükselmeye C grubundaki hasarın azaltılmasında VA ve probiyotiklerin birlikte verilmesi hem total bilirubin hem de direkt bilirubin seviyelerinde etkili olmuştur ($p<0.05, p<0.001$). Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile Roseline ve ark. elde ettiği sonuçlar arasında istatistiksel olarak benzerlik olsa da, bu çalışmadaki kronik hasar serum total bilirubin ve direkt bilirubin düzeyleri Roseline ve ark. çalışmasına göre daha düşük seviyelerde seyretmiştir (Roseline ve ark. 2018)

Akut hasar gruplarındaki serum total bilirubin ve direkt bilirubin düzeyleri için, K grubu ile kıyaslandığında C grubundaki düzeylerde anlamlı bir yükseliş ($p<0.001, p<0.001$) olmasına karşın iyileşme söz konusu olmamıştır. VA ve probiyotiklerin birlikte verilmesi bilirubin düzeyleri için koruyucu etki göstermemiştir. Cebovic ve ark. yaptığı çalışmada da istatistiksel olarak akut hasar gruplarındaki bu parametrelerde iyileşme gözlemlenmemiştir (Cebovic ve ark. 2006).

Kronik hasar gruplarındaki total protein düzeyleri karşılaştırıldığında K grubu ile kıyaslandığında C grubundaki seviyelerde anlamlı bir azalma vardır ($p<0.05$). C grubuna göre VAPC grubundaki seviyelerde iyileşme söz konusu olmuştur ($p<0.05$). Bununla beraber Roseline ve ark. elde ettiği sonuçlar ile kıyaslandığında total protein düzeylerine ilişkin sonuçlar paralellik gösterse de bu çalışmada albümin seviyelerinde anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Roseline ve ark. 2018).

Cebovic ve ark. yaptığı çalışmanın aksine, bu çalışmada akut hasar gruplarındaki total protein düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Cebovic ve ark. 2006). Albumin düzeyleri K grubu ile kıyaslandığında C grubu anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.001$).

Kronik hasar gruplarındaki AST düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p<0.001$). Kronik hasar grubundaki AST seviyeleri için Viscum albumin(VA) tek başına verilmesi ve probiyotikler ile kombinlenerek verilmesi de anlamlı olarak karaciğer hasarında azalmaya yardımcı olmuştur ($p<0.05, p<0.01$).

Kronik hasar gruplarındaki ALT düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p<0.001$). Kombine tedavi ALT seviyelerinin düşürülmesinde etkili olmuştur ($p<0.05$).

Roseline ve ark. elde ettiği kronik hasardaki ALT ve AST seviyeleri ile bu çalışma arasında paralel sonuçlar gözlemlenmiştir (Roseline ve ark. 2018). Probiyotiklerin hepatolojideki birçok tedavi yönteminin bir parçası haline gelmesi, kombine tedavinin tek başına VA tedavisine kıyasla daha etkili olmasına katkı sağlamıştır (Lata ve ark. 2011).

Kronik hasar gruplarındaki ALP düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p < 0.001$). Ancak tedavi aşamasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Kronik CCl₄ maruziyeti rat karaciğer enzimlerinde anlamlı artışa sebep olmuştur. Bu hasarın iyileştirilmesinde Viscum album tek başına yeterli olsa da kombine tedavi daha da etkin olmuştur. Viscum albumun içerdiği fitokimyasallar ve probiyotik bakterilerin karaciğer koruyucu etkileri bir araya geldiğinde karşımıza çıkan bu sonuçlar beklentilerimizi karşıladı.

Akut hasar gruplarındaki AST düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p < 0.001$). C grubuna göre VAPC grubunda anlamlı bir dşuş vardır ($p < 0.05$). Kombine tedavi karaciğer hasarına karşı koruyucu etki göstermiştir.

Akut hasar gruplarındaki ALT düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p < 0.001$). C grubuna göre VAC ve VAPC grupları anlamlı şekilde azalmıştır ($p < 0.05$, $p < 0.01$). VA'nın tek başına verilmesi de kombine şekilde verilmesi de etkili olmuştur. Ancak kombine tedavi ALT seviyelerinin düşürülmesinde daha da etkili olmuştur.

Abdel-Salam ve ark. yaptığı çalışmadaki ALT ve AST seviyeleri ile bu çalışmadaki seviyeler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar paralellik gösterse de bu çalışmadaki ALT ve AST seviyelerindeki artış Omar ve ark. yaptığı çalışmadaki artışdan fazladır (Abdel-Salam ve ark. 2010).

Akut hasar gruplarındaki ALP düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubu anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p < 0.05$). Akut hasar grubunda VA tek başına verilmesi ve probiyotikler ile kombinlenerek verilmesi de koruyucu etki sağlamamıştır. Patrick-Iwuanyanwu ve ark. yaptığı çalışma ile paralel şekilde bu çalışmada da ALP seviyeleri K grubuna göre C grubunda artış göstermiş ancak onların aksine bu çalışmada herhangi bir koruyucu etkiş gözlemlenmemiştir (Patrick-Iwuanyanwu ve ark. 2010).

Hem kronik hem de akut hasar gruplarında ALT, AST ve ALP düzeyleri benzer şekilde seyretmiştir. Her iki durum için de kombine tedavi daha etkili olmuştur.

Kronik hasar gruplarındaki LDH düzeyleri karşılaştırıldığında K grubu ile kıyaslandığında C grubunda anlamlı bir yükselme vardır($p<0.001$). C grubu ile kıyaslandığında VAC ve VAPC gruplarında anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.001, p<0.001$). Kronik hasar grubunda VA tek başına verilmesi ve probiyotikler ile kombinlenerek verilmesi de aynı şekilde tedavi sağlamıştır.

Akut hasar gruplarındaki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Kronik hasar gruplarındaki trigliserit düzeyleri karşılaştırıldığında K grubu ile kıyaslandığında C grubunda anlamlı bir yükselme vardır($p<0.001$). C grubu ile kıyaslandığında kombine tedavi(VAPC) ve VA(VAC)'nın tek başına verilmesi trigliserit seviyelerinin düşürülmesinde etkili olmuştur ($p<0.05, p<0.05$).

Kronik hasar gruplarındaki kolesterol düzeyleri karşılaştırıldığında K grubu ile kıyaslandığında C grubunda anlamlı bir yükselme vardır ($p<0.05$). C grubu ile kıyaslandığında VAPC grubunda anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.01$). Kombine tedavi (VAPC) ile kıyaslandığında VA grubuna göre kolesterol seviyelerinin düşürülmesinde VAPC daha etkili olmuştur ($p<0.05$).

Akut hasar gruplarındaki trigliserit düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p<0.001$). VA ve VAPC grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. İki grup da koruyucu etki göstermemiştir.

Akut hasar gruplarındaki kolesterol düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$).

Kronik hasar gruplarındaki LDL düzeyleri karşılaştırıldığında K grubu ile kıyaslandığında C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p<0.05$). C grubuna göre VAPC grubunda anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.01$). Kombine tedavi (VAPC), VA'nın tek başına verilmesine göre LDL seviyelerinin düşürülmesinde daha etkili olmuştur ($p<0.05$). Kronik hasar gruplarındaki HDL düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$).

Akut hasar gruplarındaki LDL düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$). Akut hasar gruplarındaki HDL düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir($p>0.05$).

Avcı ve ark. (2006), Türk halk tıbbında bir çare olarak *Viscum album*'un antihipertakolesterolemik etkisinin kullanıldığını göstermiştir.

Viscum album (Mistletoe) yapraklarından hazırlanan sulu ekstrenin plazma kolesterol ve albümin düzeyleri üzerine etkisi incelenmiştir (Ben ve ark. 2006). Analiz sonuçlarında total kolesterol (TC) azalır, yüksek yoğunluklu lipoproteinlerin (HDL) düzeyi önemli ölçüde artarken, LDL'nin, toplam protein ve albümin düzeylerinin anlamlı bir değişiklik göstermemiştir.

Oksidatif stres, serbest radikal üretimiyle antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması sonucunda hücresel hasarla sonuçlanan bir durum olarak tanımlanır (Jenkins, 2000). Oluşan oksidatif stres antioksidan savunma sistemi ile kontrol edilmeye çalışılsa bile bazen yetersiz kalır ve dışarıdan antioksidanlara ihtiyaç duyulur (Thomas, 1995). CCl₄'ün serbest radikaller ile karaciğer hasarına sebep olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (McBrien, 1982).

Son yıllarda, başta bitkilerden olmak üzere doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlar, oksidatif hasarı önlemek için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Doğal antioksidanların sentetik olanlara göre bazı avantajları vardır. Kolay, ekonomik olarak elde edilebilir ve hafif veya ihmal edilebilir yan etkilere sahiptirler.

Oksidatif stres durumlarında nonenzimatik antioksidan GSH ve enzimatik antioksidanlar olan KAT aktivitesi azalırken lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyleri artmaktadır.

Kronik hasar gruplarındaki tam kan GSH düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$). Kronik hasar gruplarındaki karaciğer GSH düzeyleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$).

Akut hasar gruplarındaki tam kan GSH düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre C grubundaki seviyeler anlamlı olarak yükselmiştir ($p<0.01$). C grubu ile kıyaslandığında VAC grubundaki seviyeler anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). VA tek başına GSH düzeylerinin düşürülmesinde koruyucu rol oynamıştır. Akut hasar gruplarındaki karaciğer GSH düzeyleri karşılaştırıldığında K grubuna göre VAC grubundaki seviyeler anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). VA tek başına GSH düzeylerinin düşürülmesinde koruyucu rol oynamıştır.

GSH düzeylerinde Cebovic ve ark. yaptığı çalışmaya paralel sonuçlar gözlemlenmiştir (Cebovic ve ark. 2006).

Kronik hasarda anlamlı fark gözlenmezken akut hasar gruplarındaki bu değişiklikler, CCl₄ maruziyetine vücudun oluşturduğu tepkiden

kaynaklanabilir. Kronik maruziyette vücut CCl₄ hasarına karşı GSH üretimini arttırıp bu maruziyete karşı koymaya çalışmış ve bunun sonucunda GSH seviyeleri sürekli artıp azalmış olabilir. Bu nedenle de anlamlı farklılıklar gözlemlenmemiş olabilir. Ancak akut hasarda vücudun GSH sistemi son 24 saatte devreye girip GSH harcanmış bu sebeple de GSH seviyeleri düşmüş olabilir.

CCl₄ maruziyeti kaynaklı karaciğerdeki oksidatif stres sonucunda dokudaki ve plazmadaki lipit peroksidasyonunun belirlenmesi için doku ve plazma MDA seviyeleri ölçüldü.

Kronik hasar gruplarında karaciğer MDA düzeylerinde C ve VAC gruplarına göre VAPC grubundaki seviyelerde anlamlı bir düşüş vardır ($p<0.001$, $p<0.05$). VA ve probiyotiklerin kombine şekilde verilmesi kronik karaciğer MDA seviyeleri için anlamlı bir tedavi biçimi olabilir.

Vücutta hücre zarının yapısında bulunan lipitler veya lipit içeren moleküller *Viscum album* ile korunarak reaktif serbest radikallerin hücreye zarar vermesi engellenir. Dış etkilerle oluşan lipit radikalleri oksijenle reaksiyona girerek reaktif lipitperoksidi oluşturur. Oluşan lipitperoksit lipit ve lipoproteinleri hasara uğrattır (Orhan ve ark. 2005).

2005 yılında Chen ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada selenyumla zenginleştirilmiş *Lactobacillus*'un farelerde karbon tetraklorür (CCl₄) tarafından indüklenen hepatik yaralanma üzerindeki koruyucu etkisini göstermiştir. Etki, makrofaj fonksiyonunun ve antioksidan enzim aktivitelerinin artmasıyla ve bunun sonucunda lipid peroksidasyonunun ve TNF'nin salınmasının azalmasıyla ilişkiliydi (Chen ve ark.2005, Cesaro, 2011).

Vicaş ve ark. (2011) yaptığı çalışmada *Viscum album* L., serbest radikalleri temizleyerek ökse otunun antioksidan aktivitesini göstermiştir.

Kronik hasar gruplarındaki plazma MDA düzeylerini incelediğimizde K grubuna göre C grubundaki MDA seviyelerinde anlamlı bir yükseliş vardır ($p<0.05$)

Akut hasar gruplarındaki karaciğer MDA düzeylerini incelediğimizde C grubuna göre kıyaslandığında VAC ve VAPC gruplarında anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir ($p<0.01$, $p<0.001$). Akut CCl₄ hasarında karaciğer MDA düzeyleri için VA'nın tek başına veya probiyotikler ile kombine şekilde verilmesi de koruyucu etki gösterebilir.

Viscum album, hidroperoksit oluşumuna karşı radikal süpürücü aktivite ve koruyucu etkiye sahiptir (Onay-Ucar ve ark. 2006).

Akut hasar gruplarındaki plazma MDA düzeylerinde ise K grubuna göre C grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p < 0.01$). C grubuna göre VAC ve VAPC gruplarında anlamlı bir düşüş vardır ($p < 0.01$, $p < 0.01$). Akut CCl₄ hasarında plazma MDA düzeyleri için VA'nın tek başına veya probiyotikler ile kombine şekilde verilmesi kontrol grubuna yakın sonuçlar elde etmemiz açısından anlamlıdır.

Chiva ve ark. CCl₄ kaynaklı sirozlu sıçanlarda *Lactobacillus johnsonii* LA1 ve antioksidanların bir kombinasyonu uyguladı. 10 günlük tedaviden sonra, intestinal enterobakterilerde ve enterokoklarda ve bakteriyel translokasyonda tedavi edilmemiş kontrol sıçanlarına kıyasla bir azalma ve malonildialdehit (MDA) seviyelerinde bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Chiva ve ark. 2002). Yine Chiva ve ark. (2002) yaptığı çalışmada tek başına veya probiyotikler ile kombinasyon halinde antioksidanlar alan siroz fareler, muhtemelen antioksidanların etkisinin bir sonucu olarak bağırsak MDA'sında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir.

Bu çalışmadaki MDA düzeyleri ile Cebovic ve ark. yaptığı çalışmada sonuçlar paralellik göstermektedir (Cebovic ve ark. 2006).

Önemli tıbbi değerlere sahip olan bitkilerin fenolik olarak zengin olduğu ve yüksek antioksidan potansiyele sahip oldukları bulunmuştur (Akinmoladun ve ark., 2007). Çeşitli çalışmalarda diabetes mellitusun artmış serbest radikal oluşumu ve antioksidanlarda azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Rahimi ve ark. 2005).

Viscum album ekstresinin antioksidan aktivitesini belirlemek için doku malondialdehid (MDA) ve protein olmayan sülfidril gruplarının (GSH) düzeyleri spektrofotometrik yöntemler kullanılarak ölçülmüştür. Deneylerde elde edilen bulgular Avrupa ökseotu (*Viscum album* L.) alt türlerinin konakçı bitkiye bağlı olarak güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Orhan ve ark. 2005).

Deliorman ve ark.(2005) üç *Viscum album* sulu ve etanolik ekstraktlarının antioksidan aktivitesini incelemişlerdir ve antioksidan aktivitesini belirleyen doku MDA ve GSH düzeyleri spektrofotometrik yöntemler kullanılarak ölçmüştür.

KAT enzimi oksidatif stresin belirlenmesinde kullanılabilen önemli enzimlerden birisidir. Oksidatif stres ile konsantrasyonu artan H₂O₂'nin su ve oksijene parçalanmasını katalize ederek antioksidan özellik gösterir. CCl₄ hücresel düzeyde serbest radikal miktarını artırır. Önemli serbest

radikallerden biri olan H₂O₂ düzeyindeki artış ortamdaki KAT aktivitesinde azalmaya neden olur.

Kronik hasar gruplarındaki karaciğer KAT aktiviteleri karşılaştırıldığında K ve C grubuna göre VAPC grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p < 0.05$, $p < 0.05$). Kombine tedavi(VAPC) KAT enzim aktivitesinde tedavi görevi üstlenmiştir.

Avcı ve ark.(2006), Türk halk tıbbında bir çare olarak *Viscum album*'un antioksidan aktivitesinin kullanıldığını göstermiştir.

Akut hasar gruplarındaki karaciğer KAT aktiviteleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$). Akut hasar KAT düzeylerinde Cebovic ve ark. yaptığı çalışmanın aksine bu çalışmada anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Cebovic ve ark. 2006).

Kronik hasar gruplarındaki serum HO-1 düzeyleri karşılaştırıldığında C grubu ile VAPC grubu kıyaslandığında VAPC grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p < 0.05$). Kombine tedavi HO-1 düzeyleri üzerinde etkili olmuştur. Kronik hasar gruplarındaki serum 8-OHdG düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$).

Akut hasar gruplarındaki serum HO-1 düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir($p > 0.05$). Akut hasar gruplarındaki serum 8-OHdG düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$).

HO-1 ve 8-OHdG seviyelerindeki değişiklikler deney süresine bağlı olarak henüz seruma yansımamış olabilir. Bu sebeple anlamlı farklılıkları gözlemleyememiş olabiliriz.

DNA hasarını ve oksidatif stresi tespit edebilmek adına serumda ölçülen HO-1 ve 8-OHdG düzeyleri beklentinin aksine anlamlı sonuçlar vermemiştir. Parametreler serumda değil de karaciğer dokusunda ölçülseydi daha farklı sonuçlar ile karşılaşabilirdik.

Kienle (2010) çalışmasında, *Viscum album* L.'nin fagositozda makrofaj yeteneğinin artmasında rol oynadığını göstermiştir. *Viscum album* L., lektinler ve viskotoksinlerin aktif bileşenleri, büyüme inhibisyonu ve sitotoksik etkiler sergiler. *Viscum album* L., timüs bezlerinin uyarılmasında rol oynar ve bağışıklık sistemini güçlendirmek için T-hücreleri, granülositler, monositler, doğal öldürücü hücreler ve dendritik hücrelerin aktivasyonunu geliştirir. Aynı zamanda DNA stabilizasyon özelliklerine sahip olduğunu öne sürmüştür.

Günümüzde birkaç fitokimyasalın ya hepatotoksinin atılımını hızlandırarak ya da onun neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe ederek, mikrozomal enzimleri indüklemeye kabiliyetine sahip olduğu açıktır (Mehta ve ark, 1999). Flavonoid, triterpen, saponin ve alkaloid gibi bitki bileşenleri hepatoprotektif faaliyetlere sahip olduğu bilinmektedir. Bu fitokimyasalların ekstrelerde buldukları bildirilmiştir (Yusuf, L., Oladunmoye, M. K., & Ogundare, A. O. 2015).

Cebovic ve ark. 2006'da yaptıkları çalışmada *Viscum album* L'nin deney hayvanlarında in vivo CCl₄ kaynaklı oksidatif strese karşı önemli antioksidan ve hepatoprotektif potansiyel gösterdiğini göstermiştir. Mekanizmanın çoğunlukla antioksidan enzim aktivitelerinin indüksiyonuna aracılık ettiği düşünülmektedir. Ek olarak, uygulanan ökseotu ekstresi ayrıca normal dokularda etkili bir antioksidan olarak bozulmuş oksidatif dengenin restorasyonu üzerinde faydalı etkilere sahip olabilir. Verileri ökseotunun, oksidatif doku hasarının yol açtığı karaciğer yaralanmalarının önlenmesinde potansiyel olarak yararlı olabileceğini, ancak etki mekanizmalarının daha da açıklanmasının gerekliliğini vurguladığını göstermektedir (Cebovic ve ark. 2006).

Alpsoy ve ark. (2010), *Viscum album* L'nin anti-oksidan ve anti-mutajenik aktivitelerini araştırmışlardır. Trikloretilen (TCE), oksidatif ve genotoksik hasarı indüklediğinden, TCE maruz kalan lenfosit kültürlerine *Viscum album* L. ekstresi uygulanmıştır. TCE maruz kalan lenfosit kültürleri üzerinde bulunan *Viscum album* L., özellikle lipid peroksidasyonuna ve DNA tamir mekanizmasına indüksiyon özelliklerine karşı koruyucu özellikler gösterdi ve tedavi edilen lenfosit kültürleri de anti-oksidan ve anti-mutajenik aktiviteler sergiledi (Alpsoy ve ark. 2010).

Bugüne kadar bu biyolojik işlevler hakkında belgelenen farmakolojik araştırmalara dayanarak, *Viscum album* L. (VA) preparatları, kanserin tamamlayıcı bir tedavisi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. *Viscum album*un anti-tümör aktivitesini anlamak için yapılan bir çalışmaya göre, apoptosisi indükleyerek ve anjiyogenez ve diğer birçok immüno-modülatör mekanizmayı inhibe ederek anti-tümör aktivitesi sergilediği ortaya konmuştur (Hedge ve ark. 2011).

Onay ve Ucar ve ark. (2006) 12 serbest radikal temizleme aktivitesini (DPPH), metanolik *Viscum album* ssp. Ferrik indirgeyici antioksidan kapasitesini (FRAP) incelemiştir.

Ökse otu (*Viscum album*) ekstresinin, CCl₄ indüksiyonunun neden olduğu hepatik hasarın zararlı etkisini tersine çevirmede etkili olduğu

kanıtlandı. Aslında, kronik hepatit C hastalarında yapılan ve 1 yıl boyunca monoterapi olarak ökse otu preparatları ile tedavi edilen iki yeni çalışma, yüksek transaminazlarda belirgin bir gelişme olduğunu bildirmiştir (Rosalki ve Mcintyre, 1999, Roseline 2018).

Bununla birlikte, Viscum album'un hepatik enflamasyonu modüle ettiği mekanizma (lar) hala belirsizliğini koruyor. Viscum album ekstraktları ökseotu lektinler, viskumin veya aglütinin olarak da bilinen sitotoksik glikoproteinler ve hücre zarına zarar veren bir peptid olan viskotoksin içerir (Green ve Flamm, 2002). Diğer bileşenler polisakkaritler (galakturonan ve arabinogalaktan) ve alkaloitlerdir. Viscum album özütleri hem bağışıklık düzenleyici (TNF-a ve IL-12'yi indükler) hem de doza bağımlı olması muhtemel apoptoz indükleyici özelliklere sahiptir (Boyde ve Latner 1967, Roseline 2018).

Kronik hasar karaciğer histolojisini incelediğimizde K grubuna göre C grubunda nekrotik hücreler, asimetric netrotik yapıli hepatosit hücreleri, karyolizis, inflamasyon ve kongesyon dikkat çekmektedir. C grubuna göre VAC grubunda azalmış hasara rağmen parankim dokuda mikroveziküler yapıların ve karyolizisin devam ettiği gözlenmiştir. C grubu ile kıyaslandığında VAPC grubunda birkaç mikroveziküler yapıların dışında azalmış hasar ve K grubuna yakın karaciğer gözlenmiştir.

Akut hasar karaciğer histolojisini incelediğimizde K grubuna göre C grubunda parankim dokuda mikroveziküler yapı, dejenere hepatosit hücreleri, inflamasyon ve vaskuler kongesyon dikkat çekmektedir. C grubuna göre VAC grubunda azalmış hasara rağmen parankim dokuda mikroveziküler yapıların ve karyolizisin devam ettiği gözlenmiştir. C grubu ile kıyaslandığında VAPC grubunda portal alanda görülen birkaç vaskuler kongesyon dışında azalmış hasar ve K grubuna yakın karaciğer gözlenmiştir.

Biyokimyasal bulgular ile histolojik bulgular paralellik göstermektedir. VAC grubu oksidatif stres kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruyucu ve tedavi edici etkinlik gösterse de VAPC grubu daha etkili olmuştur.

Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında Viscum album ile birlikte verilen probiyotiklerin, CCl₄ kaynaklı karaciğer hasarında hem koruyucu hem de tedavi edici etkileri olabileceğini düşünmekteyiz.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmadaki amaç Viscum album ile beraber verilen probiyotiklerin karaciğer hasarına karşı koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılmasıydı. Probiyotik takviyesi ile sıçanların barsak sistemini desteklemek böylelikle de oral yolla verilen Viscum album'un etkinliğini arttırmak amaçlandı.

Çalışmadaki elde edilen önemli sonuçlar şu şekildedir; Serum total ve direkt bilirubin seviyelerinde kombine tedavi koruyucu ve tedavi edici etkinlik göstermiştir ($p<0.1$, $p<0.001$). Serum ALT ve AST seviyelerinde kombine tedavi hem koruyucu hem de tedavi edici etkinlik gösterdi ($p<0.01$, $p<0.01$). Kronik hasar gruplarındaki karaciğer MDA düzeyleri C grubuna kıyasla VAPC grubunda anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.001$). Kronik hasar gruplarındaki karaciğer KAT aktivitesine bakıldığında C grubuna kıyasla VAPC grubunda anlamlı bir yükseliş vardır ($p<0.05$). Akut hasar gruplarındaki plazma ve karaciğer MDA düzeyleri C grubuna göre VAC ve VAPC gruplarında anlamlı şekilde düşmüş gözlemlenmiştir ($p<0.01$, $p<0.001$).

Hem akut hem de kronik CCl_4 maruziyeti sıçanların karaciğer enzimlerinde, lipid profilinde ve de oksidatif stres parametrelerinde farklılıklar meydana getirdi. Kombine tedavi karaciğer enzimlerinin normal seviyelere inmesinde etkin rol oynadı. Lipid profili için de umut vadeden sonuçlar gözlemlendi. Viscum album'un antikanser özelliğinden yola çıkarak tasarlanmış bu çalışmada oksidatif strese karşı kombine tedavinin etkili olabileceği gösterilmiştir.

Akut veya kronik CCl_4 maruziyetine karşı Viscum album'un etkinliğini gösteren birkaç çalışma olsa da hiçbiri bu çalışma kadar kapsamlı değildi. Çalışmanın gelecekte yapılacak iyi tasarlanmış araştırmalara önderlik edeceğini düşünmekteyiz.

Viscum album ve probiyotik takviyesinin potansiyel hepatoprotektif etkileri gösterilen bu çalışma, kanıta dayalı tedavi için ileriki çalışmalara ihtiyaç duymaktadır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abdel-Salam, Omar Mohamed, Amany Ameen Sleem, and Nermeen M. Shaffie (2010). "Effect of *Viscum album* on acute hepatic damage caused by carbon tetrachloride in rats." *Turkish Journal of Medical Sciences* 40.3: 421-426.

Adaramoye, Oluwatosin, et al. (2012). "Methanolic extract of African mistletoe (*Viscum album*) improves carbohydrate metabolism and hyperlipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats." *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 5.6 :427-433.

Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in enzymology*(Vol. 105, pp. 121-126). Academic Press.

Akinmoladun, Afolabi C., et al. (2007). "Chemical constituents and antioxidant activity of *Alstonia boonei*." *African Journal of Biotechnology* 6.10

Alpsoy, L., et al. (2010). "Antioxidant and antimutagenic activities of *Viscum album* fruit ethanolic extract in human lymphocytes." *African Journal of Biotechnology* 9.17 : 2539-2543.

Aslan, R., Şekeroğlu, M. R., & Bayiroğlu, F. (1995). "Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma." *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2, 137-142.

Aslan, R., Şekeroğlu, M. R., Gültekin, F., & Bayiroğlu, F. (1997). "Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals: Relation to age, sex, habits, lifestyle and environment." *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 32(8), 2101-2109.

Avcı, Gulcan, et al. (2006). "Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine." *Journal of ethnopharmacology* 107.3 : 418-423.

Baytop, Turhan. (1999) "*Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün.*" Nobel Tıp Kitabevleri.

Ben, E. E., et al. (2001). "Increased plasma total cholesterol and high density lipoprotein levels produced by the crude extract from the leaves of *Viscum album* (mistletoe)." *Nigerian Journal Of Physiological Sciences*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Boyde, T. R. C., & Latner, A. L. (1962, January). Starch-gel electrophoresis of transaminases in human-tissue extracts and sera. In *Biochemical Journal* (vol. 82, no. 3, p. p51). 59 Portland Place, London England

Burger, Angelika M., et al. "Antiproliferative activity of an aqueous mistletoe extract in human tumor cell lines and xenografts in vitro." *Arzneimittelforschung* 51.09 : 748-757.

Cebovic, Tatjana, et al. (2006). "The european mistletoe (*viscum album l.*) grown on plums extract inhibits CCl₄-induced liver damage in rats." *Fresenius Environmental Bulletin* 15.5 : 393.

Cengiz, S. (2007). Çeşitli killer üzerine katalaz immobilizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir

Cesaro, Claudia, et al. (2011). "Gut microbiota and probiotics in chronic liver diseases." *Digestive and Liver Disease* 43.6 : 431-438.

Chen L, Pan DD, Zhou J, et al. (2005). "Protective effect of selenium-enriched *Lactobacillus* on CCl₄-induced liver injury in mice and its possible mechanisms." *World J Gastroenterol*;11:5795–800.

Chiva M, Soriano G, Rochat I, et al. (2002). "Effect of *Lactobacillus johnsonii* La1 and antioxidants on intestinal flora and bacterial translocation in rats with experimental cirrhosis." *J Hepatol*;37:456–62.

Coşkun, Turgay. (2006). "Pro-, pre-ve sinbiyotikler." *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 49.2: 128-148. 21.1-2

Çetin E. (2011), Meme kanseri hücre hatları üzerine ökse otu ekstraktlarının apoptotik etkisinin araştırılması, Yayımlanmamış Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Isparta

Diplock, A. (1998). Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe Concise Monograph Series, 59.

Duke JA. (1987) CRC Handbook of Medicinal Herbs. 5th ed. Boca Raton,FL: CRC Press; p. 512.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Dündar, Y., & Aslan, R. (1999a). "Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü." *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(1-2), 32-39.

Dündar, Y., & Aslan, R. (1999b). "Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller – Antioksidanlar." *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2(2), 134-142.

Elliott, J. G. (1999). "Application of antioxidant vitamins in foods and beverages: Developing nutraceuticals for the new millenium." *Food Technology*, 53(2), 46-48.

Elluru, S. R., van Huyen, J. P. D., Delignat, S., Kazatchkine, M. D., Friboulet, A., Kaveri, S. V., & Bayry, J. (2008). "Induction of maturation and activation of human dendritic cells: a mechanism underlying the beneficial effect of *Viscum album* as complimentary therapy in cancer." *BMC Cancer*, 8(1), 161.

Elluru, Sri Ramulu, et al. (2009). "Antiangiogenic properties of *viscum album* extracts are associated with endothelial cytotoxicity." *Anticancer Research* 29.8 : 2945-2950.

Elluru, Sri Ramulu, et al. (2015). "Dissecting the anti-inflammatory effects of *Viscum album*: Inhibition of cytokine-induced expression of cyclo-oxygenase-2 and secretion of prostaglandin E2." *Mistletoe: From Mythology to Evidence-Based Medicine*. Vol. 4. Karger Publishers. 67-73.

Eno, A. E., et al. (2004). "The Effects Of A Nigerian Specie Of cum abum tletoe) Leaf Extract On The Blood Pressure Of Normotensive And Doca-Induced Hypertensive Rats." *Nigerian Journal of Physiological Sciences* 19.1 : 33-40.

Ergun, Fatma, and Didem Deliorman. (1995). "Chemical constituents of *Viscum album* L." *Journal of Faculty of Pharmaceutical Science Ankara* 24 : 95-108.

Evans, Mark D., Miral Dizdaroglu, and Marcus S. Cooke. (2004). "Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance." *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 567.1 : 1-61.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Evelson, P., Ordóñez, C. P., Llesuy, S., & Boveris, A. (1997). "Oxidative stress and in vivo chemiluminescence in mouse skin exposed to UVA radiation." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 38(2-3), 215-219.

Farombi, E. O., Shrotriya, S., Na, H. K., Kim, S. H., & Surh, Y. J. (2008). Curcumin attenuates dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats through Nrf2-mediated induction of heme oxygenase-1. *Food and Chemical Toxicology*, 46(4), 1279-1287.

Franz, H. (1985). "Ingredients of mistletoe (*Viscum album* L.) as potential drugs." *Die Pharmazie* 40.2 : 97-104.

Fridovich, I. (1975). "Superoxide dismutases." *Annual Review of Biochemistry*, 44(1), 147-159.

Fridovich, I. (1978). "The biology of oxygen radicals." *Science*, 201(4359), 875-880.

Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). "Determination of serum proteins by means of the biuret reaction." *Journal of Biological Chemistry*, 177(2), 751-766.

Gray, A. M., and P. R. Flatt. (1999). "Insulin-secreting activity of the traditional antidiabetic plant *Viscum album* (mistletoe)." *Journal of Endocrinology* 160.3 : 409-414.

Green, R. M., & Flamm, S. (2002). "AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests." *Gastroenterology*, 123(4), 1367-1384.

Grossarth-Maticek, Ronald, et al. (2001). "Use of Iscador, an extract of European mistletoe (*Viscum album*), in cancer treatment: prospective nonrandomized and randomized matched-pair studies nested within a cohort study." *Alternative Therapies in Health and Medicine* 7.3 : 57.

Guicciardi, M.E., Gores, G.J., (2010), "Apoptosis as a mechanism for liver disease progression" *Seminars In Liver Disease*, 30,4, 402- 410 p.

Gupta, Gaurav, et al. (2012). "Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Viscum album* L.(Loranthaceae) in mice and rats." *Journal of Ethnopharmacology* 141.3 : 810-816.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Gutteridge, J. M. (1995). "Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage." *Clinical Chemistry*, 41(12), 1819-1828.

Halliwel, B., Murcia, M. A., Chirico, S., & Aruoma, O. I. (1995). "Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work." *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35(1-2), 7-20.

Halliwel, B., & Gutteridge, J. M. (1990). "Role of free radicals and KATalytic metal ions in human disease: an overview." *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.

Hill HS, Guarner F.(2004). "Probiotics and human health: a clinical perspective" *Postgrad Med J*, 80: 516-526 – 78.

Horneber, M.A., Bueschel, G., Huber, R., Linde, K., Rostock, M. (2008). "Mistletoe therapy in oncology." *Cochrane Database Syst. Rev.*, CD003297

Huber, R., et al. (2005). "Mistletoe treatment induces GM-CSF-and IL-5 production by PBMC and increases blood granulocyte-and eosinophil counts: a placebo controlled randomized study in healthy subjects." *European journal of medical research* 10.10 : 411

Jenkins, R. R. (2000). "Exercise and oxidative stress methodology: a critique." *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2), 670s-674s.

Ji, L. L., Stratman, F. W., & Lardy, H. A. (1988). "Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle: influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise." *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 263(1), 150-160.

Kaur, Indu Pal, Kanwaljit Chopra, and Amarpreet Saini. (2002). "Probiotics: potential pharmaceutical appliKATions." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 15.1 : 1-9.

Khil, Lee-Yong, et al. (2007). "Mechanisms involved in Korean mistletoe lectin-induced apoptosis of cancer cells." *World Journal of Gastroenterology: WJG* 13.20 : 2811.

Khosh, Farhang, and Mehdi Khosh. (2001). "Natural approach to hypertension." *Alternative Medicine Review* 6.6 : 590-601.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Kienle, Gunver S., and Helmut Kiene. (2010). "Influence of *Viscum album* L (European mistletoe) extracts on quality of life in cancer patients: a systematic review of controlled clinical studies." *Integrative Cancer Therapies* 9.2 : 142-157.

Kidd, P. M. (1997). "Glutathione: systemic protectant against oxidative and free radical damage." *Altern Med Rev*, 2(3), 155-176.

Koca, N., & Karadeniz, F. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16, 32-37.

Kovacs, Eva. (2002). "The in vitro effect of *Viscum album* (VA) extract on DNA repair of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in cancer patients." *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 16.2 : 143-147.

Lata, Jan, et al. (2011). "Probiotics in hepatology." *World Journal of Gastroenterology: WJG* 17.24 : 2890.

Lawrence, R. A., & Burk, R. F. (1976). "Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. " *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71(4), 952-958.

Lima, C.F., Fernandes-Ferreira, M., Pereira-Wilson, C., (2007). "Drinking of *Salvia officinalis* tea increases CCl₄-induced hepatotoxicity in mice" *Food and Chemical Toxicology* 45, 3, 456- 464 p.

McBrien, D. C. H. (1982). *Free radicals, lipid peroxidation and cancer*. No. 1. Academic Pr.

McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). "Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). " *Journal of Biological chemistry*, 244(22), 6049-6055.

Mehta, R. S., Shankar, M. B., Geetha, M and Saliyu, A. K. (1999). "Hepatoprotective activity of *Trianthema portulacastrum*. " *Indian Drugs* 36:241-4.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Oboh, G., and J. B. T. Rocha. (2007a). "Distribution and antioxidant activity of polyphenols in ripe and unripe tree pepper (*Capsicum pubescens*)." *Journal of Food Biochemistry* 31.4 : 456-473.

Oboh, Ganiyu, and Joao Batista T. Rocha. (2007b). "Polyphenols in red pepper [*Capsicum annum* var. *aviculare* (Tepin)] and their protective effect on some pro-oxidants induced lipid peroxidation in brain and liver." *European Food Research and Technology* 225.2 : 239-247.

Ofem Ben, E. E., et al. (2006). "Increased plasma total cholesterol and high density lipoprotein levels produced by the crude extract from the leaves of *Viscum album* (mistletoe)." *Nigerian Journal Of Physiological Sciences* 21.1-2

Ohiri, F. C., et al. (2003). "Hypoglycemic properties of *Viscum album* (mistletoe) in alloxan-induced diabetic animals." *Pharmaceutical biology* 41.3 : 184-187.

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.

Orhan, Didem Deliorman, et al. (2005). "Evaluation of the hypoglycemic effect and antioxidant activity of three *Viscum album* subspecies (European mistletoe) in streptozotocin-diabetic rats." *Journal of Ethnopharmacology* 98.1-2 : 95-102.

Ostermann, Thomas, Christa Raak, and Arndt Büssing. (2009). "Survival of cancer patients treated with mistletoe extract (Iscador). A Systematic Literature Review." *BMC cancer* 9.1 : 451.

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). "Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. " *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3122-3128.

ÖnayUçar, Evren, Ali Karagöz, and Nazlı Arda. (2006). "Antioxidant activity of *Viscum album* ssp. *album*." *Fitoterapia* 77.7-8 : 556-560.

Özcelik, E. (2012). Kitosan ve blueberry'nin asetaminofen aracılı karaciğer toksisitesi üzerine etkileri Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Özkan, AM Gençler, and M. Koyuncu. (2005). "Traditional medicinal plants used in Pınarbaşı area (Kayseri-Turkey)." *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 2 : 63-82.

Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *J Clin Exp Invest Vol*, 6(3).

Packer, L. (1991). Protective role of vitamin E in biological systems. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(4), 1050S-1055S.

Patrick-Iwuanyanwu, Kingsley C., Eugene N. Onyeike, and Mathew O. Wegwu. (2010). "Hepatoprotective effects of methanolic extract and fractions of African mistletoe *Tapinanthus bangwensis* (Engl. & K. Krause) from Nigeria." *EXCLI journal* 9 : 187.

Rahimi, Roja, et al. (2005). "A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications." *Biomedicine & Pharmacotherapy* 59.7 : 365-373

Reid G, Jass J, Sebulsy MT, McCormick JK. , (2001). Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical Microbiology Review*, 16: 658-672.

Rice-Evans, KATHERINE A., Nicholas J. Miller, and George Paganga. (1996). "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids." *Free Radical Biology and Medicine* 20.7 : 933-956.

Roseline, E., Boisa, N., & Tamuno-Emine, D. G. (2018) Therapeutic Effect Of *Viscum Album* Against CCl_4 Induced Hepatotoxicity In Male Albino Rats. *World Journal Of Pharmaceutical And Medical Research* : 14-20

Rosalki, S. B., & McIntyre, N. I. (1999). Biochemical investigations in the management of liver disease. *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, ed, 2, 506-507.

Samuelsson, Gunnar. (1959). "Phytochemical and pharmacological studies on *Viscum album* L. III. Isolation of a hypotensive substance: gamma-aminobutyric acid." *Svensk Farmaceutisk Tidskrift* 63 : 545.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Sever, M (2012), *In vivo* effect of *Epilobium hirsutum* L. and *Viscum album* L. on protein and mrna expressions of rat liver vitamin d3 metabolizing cyp24a1 and cyp27b1 enzymes, Yayınlanmamış Yüksek lisans Tezi. Middle East Technical University, School of Natural and Applied Sciences, Ankara

Simona Ioana, et al. (2011). "The in vitro antioxidant and anti-proliferative effect and induction of phase II enzymes by a mistletoe (*Viscum Album*) extract." *Bulletin UASVM Agriculture* 68.2

Srivastava, S. K., & Beutler, E. (1968). Accurate measurement of oxidized glutathione content of human, rabbit, and rat red blood cells and tissues. *Analytical Biochemistry*, 25, 70-76.

Stratton, S. P., & Liebler, D. C. (1997). "Determination of singlet oxygen-specific versus radical-mediated lipid peroxidation in photosensitized oxidation of lipid bilayers: effect of β -carotene and α -tocopherol." *Biochemistry*, 36(42), 12911-12920.

Suveren E.(2013), Effects Of *Viscum album* On Cardiac Tissue In Rats, Yayınlanmamış Doktora Tezi. Bolu: Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Bolu

Swanston-Flatt, Sara K., et al. (1989). "Glycaemic effects of traditional European plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice." *Diabetes Res* 10.2 : 69-73.

Temür, Nuri. , 2006. "Çam, kavak, söğüt ve armut ağaçları üzerinde yetişen ökse otu (*Viscum album* l.) bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi." MS thesis. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat

Tenorio, F. A., et al. (2005). "Vasodilator activity of the aqueous extract of *Viscum album*." *Fitoterapia* 76.2 : 204-209.

Thomas, M. J. (1995). "The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working". *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35(1-2), 21-39.

Urech, Konrad, et al. (2006). "Antiproliferative effects of mistletoe (*Viscum album* L.) extract in urinary bladder carcinoma cell lines." *Anticancer Research* 26.4B : 3049-3055.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Valavanidis, Athanasios, Thomais Vlachogianni, and Constantinos Fiotakis. (2009). "8-hydroxy-2deoxyguanosine (8-OHdG). a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis." *Journal of Environmental Science and Health* Part C 27.2 : 120-139.

Van Der Meulen, J. H., McArdle, A., Jackson, M. J., & Faulkner, J. A. (1997). "Contraction-induced injury to the extensor digitorum longus muscles of rats: the role of vitamin E. " *Journal of Applied Physiology*, 83(3), 817-823.

Valentiner, Ursula, et al. (2002). "The cytotoxic effect of mistletoe lectins I, II and III on sensitive and multidrug resistant human colon cancer cell lines in vitro." *Toxicology* 171.2-3 : 187-199.

Yesilada, Erdem, et al. (1998). "Effects of the Turkish subspecies of *Viscum album* on macrophage-derived cytokines." *Journal of Ethnopharmacology* 61.3 : 195-200.

Yu, B. P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*, 74(1), 139-162.

Yusuf, L., Oladunmoye, M. K., & Ogundare, A. O. (2015). "Hepatoprotective effect of methanolic leave extracts of *v. album* on paracetamol-induced laboratory animals. " *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*, 46.

Yücecan, S., et al. (1988). "Plants used in the treatment of hypertension in the East and Southeast Anatolia." *Journal of Faculty of Pharmacy of Hacettepe University* 8 : 25-31.

Wagner, H., et al. (1986). "Phenylpropanes and lignans of *viscum album* cardioactive drugs V1." *Planta medica* 52.02 : 102-104.

Wallace, A.D. , Meyer, S. A., (2010) Hepatotoxicity, Chapter 13, A text book of Modern Toxicology, Editor Hodson E., Fourth Edition, 277-290 p.

Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Meltem Erdaş
Doğum tarihi ve yeri : 12/11/1993 Bursa
Uyruğu : TC Vatandaşı
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : Eskibağlar mh. Kirazlıyayla sk. No:6 Dr:7
Tepebaşı/Eskişehir

Eğitim Durumu :

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü - Fitoterapi Yüksek Lisans
2016-2018

Okan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi - Beslenme ve Diyetetik 2011-
2016 (Onur Belgesi)

Okan Üniversitesi - İngilizce Hazırlık 2011-2012

Turhan Tayan Anadolu Lisesi 2007-2011

Kükürtlü Ticaret ve Sanayi Odası İlköğretim Okulu - 1999-2007

Mesleki Deneyim :

Uzm. Dyt. Meltem Erdaş Beslenme ve Diyet Danışmanlık Merkezi -
Yönetici Diyetisyen

Fitovision Tıbbi Çaylar - Güney Marmara Bölge Yöneticisi

Osmaneli Belesiyesi - Diyetisyen

Bilecik Belediyesi - Diyetisyen

Yayımlar :

Effects of conivaptan and mannitol on serum cytokine levels (TNF- α , IL-15 and IL-35) following bilateral carotid artery occlusion / Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences 2018 / Sözlü Bildiri

Investigation of the effect of l-name (n-nitro l- arginine methyl ester) and vitamin e (α -tocopherol) on oxidative damage of liver tissue resulting from cigarette smoke exposure in male rats / International Biochemical Congress 2017 / Poster Sunumu

Levels of serum cytokines (TNF- α , IL-15 and IL-35) after treatments with conivaptan and mannitol following bilateral common carotid artery occlusion / Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences 2018 / Poster Sunumu

Bilimsel Etkinlikler

Projeler

:

ESOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri(BAP) 2017-1767

Kurslar ve Eğitim Programları

:

Araştırmacılar için Deney Hayvanları Kullanımı ile İlgili Sertifikalı Eğitim Kursu (ESOGÜ)

Karbonhidrat Sayım Kursu (Diyed)