



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SALVIA OFFICINALIS EKSTRESİNİN DENEYSEL
İNFLAMASYON VE ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

UMUT KEREM KOLAÇ

DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. MEHMET CENGİZ ÜSTÜNER

2015



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SALVIA OFFICINALIS EKSTRESİNİN DENEYSEL
İNFLAMASYON VE ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

UMUT KEREM KOLAÇ

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. MEHMET CENGİZ ÜSTÜNER**

Proje no: 2014-537

KABUL VE ONAY SAYFASI

Umut Kerem KOLAÇ' ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Salvia officinalis Ekstresinin Deneysel İnflamasyon ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitimve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

10/ 12 / 2015

Üye: Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENÇİ



Üye: Prof. Dr. Emre ENTOK



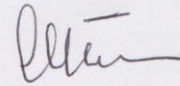
Üye: Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN



Üye: Doç. Dr. Didem TURGUT COŞAN



Üye: Yrd. Doç. Dr. M. Cengiz ÜSTÜNER (Danışman)



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 12/12/2015 tarih ve 1071/5017 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ

Enstitü Müdürü

ÖZET

İnflamasyon, fiziksel ve enfeksiyöz etkilerin yanında vücutta otoimmün olarak meydana gelebilen sistemik ya da bölgesel yanıttır. İnflamasyon sırasında oluşan serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu ürünleri, genlerde mutasyonlara ve kanser de dahil olmak üzere çoğu inflamatuvar hastalıkla ilgili anahtar proteinlerin translasyon sonrası değişiklik geçirmesine neden olmaktadır.

Lipopolisakkarit (LPS), Gram-negatif bakterilerin dış zarının bir parçası olup, inflamatuvar sitokinlerin, serbest oksijen radikallerinin, nitrik oksit ve arazişonik asit metabolitlerinin aşırı üretimine yol açarak inflamasyon oluşumuna sebep olur.

Yüksek flavanoid ve fenolik asit içeriği ile *Salvia officinalis* (*Lamiaceae*) serbest radikalleri ortadan kaldırma özelliği sayesinde kuvvetli bir antioksidan ve antiinflamatuvardır.

Bu çalışmada lipopolisakkaritle oluşturulan deneysel inflamasyon modelinde *Salvia officinalis* ekstresinin inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda 42 adet 4-5 aylık Wistar albino ırkı dişi sıçanlar ile 6 deney grubu oluşturulmuştur. Üç gruba intraperitoneal olarak 1 mg/kg LPS (*E.coli*, serotipe 055-B5) uygulandı. LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra tedavi gruplarına 10 mg/kg ve 30 mg/kg *Salvia officinalis* ekstresi gavaj yoluyla verildi. FDG-PET taraması ile inflamasyon durumunu belirlemek için PET taramasından 1 saat önce ketamin anestezisi altında intrakardiyak olarak ¹⁸F-fluoro-deoksi-D-glukoz (FDG) uygulandı. Hayvanlardan kan ve doku örnekleri toplandı. Akciğer ve karaciğer FDG-PET tutulumu hesaplandı. Karaciğer, böbrek, akciğer dokuları ve eritrosit malondialdehit (MDA) seviyeleri, katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri belirlendi.

Çalışma sonucunda, eritrosit hemolizatında, karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında MDA seviyeleri inflamasyon grubunda, tedavi gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulundu. İnflamasyon grubu SOD aktiviteleri karaciğer, akciğer dokuları ve hemolizatta *Salvia officinalis* ile tedavi edilen gruplardan anlamlı düzeyde düşük olarak tespit edildi. Aynı şekilde KAT ve GPx aktivitelerinin de inflamasyon grubunda tedavi grubu enzim aktivitelerine oranla istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük bulunduğu sonuçlar elde edilmiştir. Akciğer ve karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumunun inflamasyon grubunda, kontrol grubuna göre yüksek olduğu, *Salvia officinalis* tedavi gruplarında ise normale döndüğü saptandı.

Sonuç olarak *Salvia officinalis*' in sıçanlarda LPS ile oluşturulan inflamasyonun ve oksidatif stresin etkilerini azalttığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Serbest radikaller, antioksidan, inflamasyon, lipopolisakkarit, *Salvia officinalis*

ABSTRACT

Inflammation is a systematic or a local response that may occur as autoimmune in organism besides physical and infectious effects. Free radicals and lipid peroxidation products produced during inflammation causes harmful mutations and post translational changes of key proteins which involves in many inflammatory disorders including cancer.

Lipopolisaccharide (LPS) is a part of the external membrane of gram-negative bacteria that causes inflammation by causing overproduction of inflammatory cytokines, free oxygen radicals, nitric oxide and arachidonic acid metabolites.

Salvia officinalis (Lamiaceae) is a powerful antioxidant and anti-inflammatory herb thanks to its feature of removing free radicals with its high flavonoid and phenolic acid content.

The aim of this study is to investigate the effects of *Salvia officinalis* extract on inflammation and antioxidant system in an experimental inflammation model induced by LPS in rats.

In our study, 4-5 months old 42 female *Wistar albino* rats were divided into 6 groups. In three groups, 1 mg/kg LPS (E.coli, serotype 055-B5) was applied to rats intraperitoneally. After 24 hours from LPS injection 10 mg/kg and 30 mg/kg *Salvia officinalis* extract was orally administered to treatment groups. ¹⁸F-fluoro- deoxy-D-glucose (¹⁸FDG) was applied intracardially under ketamine anesthesia 1 hour before PET scanning in order to determine status of inflammation with FDG-PET scanning. Rats were sacrificed and blood and tissue samples were collected. Lung and liver FDG-PET uptake was calculated. Malondialdehyde (MDA) levels, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) enzyme activities of liver, kidney, lung tissues and erythrocyte hemolysate were determined.

As a result of the study, MDA levels in erythrocyte hemolysate, liver, lung and kidney tissues were found to be significantly higher in inflammation group compared to treatment groups, whereas SOD activities of liver and lung tissues and hemolysate were determined significantly lower in inflammation group compared to group treated with *Salvia officinalis*. Likewise CAT and GPx activities in inflammation control group were found to be significantly lower compared to treatment groups. Lung and liver ¹⁸F-FDG uptake were found to be higher in inflammation group than control group. In treatment groups ¹⁸F-FDG uptake was at normal level.

In conclusion, *Salvia officinalis* was found to be efficient in reducing free oxygen radical production and ameliorating inflammation induced by LPS in rats.

Key words: Free radicals, antioxidant, inflammation, Lipopolisaccharide, *Salvia officinalis*

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO DİZİNİ	x
ŞEKİL DİZİNİ	xii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İnflamasyon	4
2.1.1. İnflamasyonun süreci	5
2.1.2. İnflamatuvar mediyatörler	7
2.2. Lipopolisakkarit (LPS)	10
2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem	11
2.3.1. Serbest radikaller	11
2.3.2. Serbest oksijen radikalleri	12
2.3.3. Serbest radikallerin kaynakları	13
2.3.4. Serbest radikallerin etkileri	17
2.3.5. Antioksidan sistem	20
2.3.6. Antioksidanların sınıflandırılması	21
2.4. <u>Salvia officinalis</u> (Adaçayı)	25

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
3.1. Gereç	29
3.1.1. Deney hayvanları	29
3.1.2. Kimyasal maddeler	29
3.1.3. Aygıtlar	30
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Deney grupları ve doz miktarları	31
3.2.2. Deney planı ve uygulamalar	32
3.2.3. İstatistiksel analiz	42
4. BULGULAR	43
4.1. Karaciğer Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	43
4.1.1. Karaciğer homojenatında malondialdehit (MDA) seviyeleri	43
4.1.2. Karaciğer homojenatında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	44
4.1.3. Karaciğer homojenatında katalaz (KAT) aktivitesi	45
4.1.4. Karaciğer homojenatında glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi	46
4.2. Böbrek Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	47
4.2.1. Böbrek homojenatında malondialdehit (MDA) seviyeleri	47
4.2.2. Böbrek homojenatında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	48
4.2.3. Böbrek homojenatında katalaz (KAT) aktivitesi	49

4.2.4. Böbrek homojenatında glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi	51
4.3. Akciğer Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	52
4.3.1. Akciğer homojenatında malondialdehit (MDA) seviyeleri	52
4.3.2. Akciğer homojenatında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	53
4.3.3. Akciğer homojenatında katalaz (KAT) aktivitesi	54
4.3.4. Akciğer homojenatında glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi	56
4.4. Hemolizata Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	57
4.4.1. Hemolizatta malondialdehit (MDA) seviyeleri	57
4.4.2. Hemolizatta süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ...	58
4.4.3. Hemolizatta katalaz (KAT) aktivitesi	59
4.5. Akciğer ¹⁸ F-FDG Tutulumu	60
4.6. Karaciğer ¹⁸ F-FDG Tutulumu	62
5. TARTIŞMA	64
5.1. <i>S. officinalis</i> ' in MDA Düzeyleri Üzerine Olan Etkisi	65
5.2. <i>S. officinalis</i> ' in SOD ve KAT Aktivitesi Üzerine Olan Etkisi.	66
5.3. <i>S. officinalis</i> ' in GPx Aktivitesi Üzerine Olan Etkisi	68
5.4. <i>S. officinalis</i> ' in ¹⁸ F-FDG Tutulumu Üzerine Olan Etkisi	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	70
KAYNAKLAR	71

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>		<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1.	Radikal ve Radikal Olmayan Oksijen Türevleri	12
Tablo 3.1.	Deney gruplarına uygulanan maddeler ve miktarları	32
Tablo 4.1.	Karaciğer homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	44
Tablo 4.2.	Karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	45
Tablo 4.3.	Karaciğer homojenatında KAT aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	46
Tablo 4.4.	Karaciğer homojenatında GPx aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	47
Tablo 4.5.	Böbrek homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	48
Tablo 4.6.	Böbrek homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	49
Tablo 4.7.	Böbrek homojenatında KAT aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	50
Tablo 4.8.	Böbrek homojenatında GPx aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	52
Tablo 4.9.	Akciğer homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	53
Tablo 4.10.	Akciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	54
Tablo 4.11.	Akciğer homojenatında KAT aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	55
Tablo 4.12.	Akciğer homojenatında GPx aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	57
Tablo 4.13.	Hemolizatta MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	58
Tablo 4.14.	Hemolizatta SOD % inhibisyon değerleri ve bunların	

	istatistiksel değerlendirilmeleri	59
Tablo 4.15.	Hemolizatta KAT aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	60
Tablo 4.16.	Deney gruplarının akciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	61
Tablo 4.17.	Deney gruplarının karaciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	62

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	İnflamasyon sürecindeki lökosit olayları	7
Şekil 2.2.	Serbest radikallerin kaynakları	14
Şekil 2.3.	Mitokondride süperoksit radikali oluşumu	15
Şekil 3.1.	Katalaz standart grafiği	38
Şekil 3.2.	MDA standart eğrisi	41
Şekil 4.1.	Deney gruplarının karaciğer homojenatında MDA değerleri	43
Şekil 4.2.	Deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri	44
Şekil 4.3.	Deney gruplarının karaciğer homojenatında KAT aktivite değerleri	45
Şekil 4.4.	Deney gruplarının karaciğer homojenatında GPx aktivite değerleri	47
Şekil 4.5.	Deney gruplarının böbrek homojenatında MDA değerleri	48
Şekil 4.6.	Deney gruplarının böbrek homojenatında SOD % inhibisyon değerleri	49
Şekil 4.7.	Deney gruplarının böbrek homojenatında KAT aktivite değerleri	50
Şekil 4.8.	Deney gruplarının böbrek homojenatında GPx aktivite değerleri	51
Şekil 4.9.	Deney gruplarının akciğer homojenatında MDA değerleri	53
Şekil 4.10.	Deney gruplarının akciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri	54

Şekil 4.11.	Deney gruplarının akciğer homojenatında KAT aktivite değerleri	55
Şekil 4.12.	Deney gruplarının akciğer homojenatında GPx aktivite değerleri	56
Şekil 4.13.	Deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri	58
Şekil 4.14.	Deney gruplarının hemolizatta SOD % inhibisyon değerleri	59
Şekil 4.15.	Deney gruplarının hemolizatta KAT değerleri	60
Şekil 4.16.	Deney gruplarının akciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri	61
Şekil 4.17.	Deney gruplarının akciğer ve karaciğer ¹⁸ F-FDG-PET görüntüleri	62
Şekil 4.18.	Deney gruplarının karaciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri	63

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
LPS	Lipopolisakkarit
¹⁸F-FDG	¹⁸ F-floro- deoksi-D-glukoz
MDA	Malondialdehit
KAT	Katalaz
SOD	Süperoksit dismutaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
NF-κB	Transkripsiyon faktörü nükleer kappa B
TLR	Toll benzeri reseptörler
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
Th1	Yardımcı T hücresi 1
Th2	Yardımcı T hücresi 2
IFN γ	İnterferon-gamma
IgE	İmmünoglobülin E
IL-8	İnterlökin-8
IL-1	İnterlökin-1
MPO	Miyeloperoksidaz
O₂⁻	Süperoksit radikali
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HOCl[•]	Hipokloröz asit
AA	Araşidonik asit
HPETE	Hidroperoksieikozatetraenoik asit
HETE	Hidroksieikozatetraenoik asit

TAF	Trombosit aktifleştirici faktör
TNF-α	Tümör nekroz faktör-alfa
COX	Siklooksigenaz
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
EGF	Epidermal büyüme faktörü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
TKBF	Trombosit kökenli büyüme faktörü
NOS	Nitrik oksit sentaz
ONOO⁻	Peroksinitritin
LBP	Lipopolisakkarit bağlayıcı protein
O₂	Oksijen
HO⁻	Hidroksil
ATP	Adenozin trifosfat
ROO⁻	Peroksil radikali
ETS	Elektron transport sistemi
LOX	Lipooksigenaz
LOO^o	Lipid peroksil
LOOH	Lipidperoksit
L^o	Lipid radikali
HNE	4-hidroksinonenal
TBA	Tiyobarbitürik asit
GSH	Glutasyon
GSSG	Glutasyon disülfid

PLGPx	Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
GST	Glutatyon-s-transferazlar
GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
PBS	Phosphate buffered saline
DTT	Dithiothreitol
WST	Water-soluble tetrazolium salt
BSA	Bovin serum albumin
PET	Pozitron emisyon tomografi
SUD	Standart tutulum değeri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamasyon, dokuların her türlü canlı, cansız yabancı etkene veya meydana gelebilecek içsel/dışsal hasara karşı başlattığı doğal savunma cevabıdır. İnflamasyonun tetiklenmesi infeksiyöz (gram-pozitif ve gram negatif bakteriler, virüs, mantar vb.) ya da infeksiyöz olmayan (travma, yanık, yabancı cisim, iskemi vb.) birçok nedenle meydana gelebilir. Bu uyarılara karşı dokular, çok iyi şekilde kontrol edilen, uyumlu işleyen hücresel, humoral ve vasküler bir dizi yanıt oluşturarak hasara karşı tamiri başlatırlar. Bu yanıtta temel amaç, inflamasyonu meydana getiren nedeni yok etmek, etkisini hafifletmek ve/veya doku tamir sürecine yardımcı olmaktır (Entok vd., 2014; Ganong, 2002; Libby, 2007).

İnflamasyondaki belirtileri oluşturan ve doku hasarının giderilmesinde görev alan kompleman sistemin elemanları, araşidonik asit metabolik ürünleri, serbest oksijen radikalleri, nitrik oksit, uyarılmış lenfosit, monosit ile makrofajlardan salınan sitokinler ve lizozom enzimleri gibi mediyatörler inflamatuvar süreçte birbirleriyle etkileşim göstererek kompleks inflamatuvar cevabı oluştururlar (Barnes, Chung, & Page, 1998; Kuralay & Çavdar, 2006).

Birçok inflamasyon modeli bakteri kökenli endotoksinlerin etkisiyle oluşturulmaktadır. Lipopolisakarit (LPS) de Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının önemli bir bileşiği olup endotoksin özelliği göstermektedir. LPS uygulamasıyla monosit ve makrofaj hücre zarlarında bulunan reseptörler uyarılır ve bir dizi reaksiyon başlar. Uyarılan reseptörler transkripsiyon faktörü nükleer kappa B (NF-κB) aktivasyonunu ve protein kinazların uyarılmasını sağlar. Böylece lökositler, vasküler hücreler ve plazmadan inflamatuvar mediyatörlerin ve serbest oksijen radikallerin salınması ile inflamasyon etkenlerine karşı bir cevap oluşturulur (Caroff & Karibian, 2003; Iontcheva, Amar, Zawawi, Kantarci, & Van Dyke, 2004; İskit, 2005).

Biyolojik sistemler sürekli olarak doğal metabolik faaliyetler sonucu ya da oksitleyici kimyasal ajanlar, radyasyon, ultraviyole ışınları ve çevresel toksinler gibi yabancı maddelere maruz kalındığında serbest radikaller ortaya çıkar. Bu serbest radikallerin en önemli hedefleri lipidler, nükleik asitler ve proteinlerdir (Bobrowski, 2005; Finkel & Holbrook, 2000).

Organizmada oluşan serbest radikaller ile bunların etkilerini yok eden antioksidanlar arasında bir denge mevcuttur. Bu dengenin bozulması "oksidatif stres" olarak adlandırılır. Vücutta serbest radikallere karşı oluşturulan savaş "antioksidan sistem" adı verilen bir savunma mekanizmasıyla yürümektedir. Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri, antioksidanlar tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde antioksidanlar, oksijen

ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik olarak çalışırlar. Antioksidanlar iç kaynaklı olabildiği gibi dış kaynaklı da olabilirler. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (Gpx) gibi redoks döngüsünde yer alan enzimler endojen kaynaklı enzimatik antioksidanları oluşturarak primer antioksidan savunma sisteminin elemanları olarak dikkat çekerler (Devasagayam vd., 2004; Halliwell & Gutteridge, 1984; Albayrak, 2015).

Bitki dokuları ekzojen ve endojen kaynaklı serbest radikallerin neden olduğu oksidatif strese maruz kaldıklarından birçok antioksidan savunma sistemi geliştirmişlerdir. Bitkilerdeki önemli redoks potansiyeline sahip antioksidan bileşenler flavonoidler, fenolik asitler, karotenoidler ve fenolik diterpenlerdir. Fenolik asitler genellikle serbest radikalleri yakalama özelliğine sahipken, flavonoidler radikalleri temizleyerek ve metallerle bağ yaparak radikal oluşumunu engellerler (Brewer, 2011).

Lamiaceae (*Ballıbabagiller*) familyasından aromatik bitkilerin oluşturduğu *Salvia* (Adaçayı) cinsi, bilinen yaklaşık olarak 900 türüyle geniş bir gruptur. *Salvia officinalis* bu grubun yaygın bir türü olup uzun çağlardan beri kozmetik ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. İçerdiği triterpenler oleanolik, ursolik asit ve diterpen karnosol dışında fumarik asit, kafeik asit, tannik asit, niasin, nikotinamid, flavonlar, flavanoid glikozidler gibi birçok madde ile antioksidan, antifungal, antibakteriyel, antidiyabetik, antitümör ve antiinflamatuvar olarak etki göstermektedir (Johnson, 2011; Lu & Foo, 2001; Büyükkaya, 2002).

Moleküler düzeyde, kronik inflamasyon sırasında oluşan serbest radikaller ve aldehitler (malondialdehit gibi), zararlı gen mutasyonlarına ve kanserle ilgili anahtar proteinlerin transkripsiyon sonrası değişiklik geçirmesine neden olur (Hofseth & Wargovich, 2007).

Yüksek flavonoid ve fenolik içeriği bulunan *Salvia officinalis*' in serbest radikalleri temizleme özelliğine dair çeşitli araştırmalar yürütülmüştür. Yapılan çalışmalarda *Salvia officinalis*' in *in vitro* koşullarda serbest radikalleri uzaklaştırdığı ve kültür ortamında da kanser hücresi gelişimini engellediği yönünde sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmalardan elde edilen veriler, *Salvia officinalis*' in serbest radikallerin oluşturduğu DNA hasarlarını tamir edici özellikte olmasından ve lipit peroksidasyonuna neden olan polimerize zincir reaksiyonlarını engelleyici olarak görev yapmasından dolayı önemli bir antioksidan ve antiinflamatuvar olduğunu göstermiştir (Kontogianni vd., 2013; Tosun vd., 2014).

Verilen bilgiler doğrultusunda çalışmamızda, LPS ile tetiklenen deneysel inflamasyon hayvan modelinde *Salvia officinalis* ekstresinin inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine olan etkilerinin araştırılması planlandı. Araştırmadan elde edilecek sonuçlar kanser ve diğer birçok hastalığın patogeneğinde önemli rol oynayan inflamatuvar sürecin

önlenmesi, yeni doğal etken maddelerin tedavide kullanılabilmesi ve ilerideki çalışmalara ışık tutması açısından önemlidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnflamasyon

İnflamasyon, aşırı sıcak-soğuk gibi fiziksel etmenler, travma, kimyasal maddeler, patojenler ve toksinler olmak üzere birçok eksojen veya endojen uyarının oluşturduğu hücrel ve vasküler bir biyolojik cevaptır. Birçok hastalığın patolojisi sonucu lokal veya sistemik olarak meydana gelen zarara karşı organizmanın aldığı koruyucu önlem olarak görülür. Aynı zamanda dokularda iyileşme sürecinin başlatıcısıdır (Carrero & Stenvinkel, 2009; Ganong, 2002).

İnflamasyonun tanımlanması çok eski çağlara dayanmaktadır. M.S. 1.yy' da Celsus' un ortaya koyduğu üzere, hasara karşı verilen doku yanıtı; rubor (yerel kızarıklık), tumor (yerel şişlik), calor (yerel ısı artışı) ve dolor (yerel ağrı) olarak tanımlamıştır. Daha sonra 1850' llerde Rudolf Virchow tarafından *Functio laesa* (organ disfonksiyonu) eklenerek inflamasyonun beşinci karakteristik özelliği belirlenmiştir (Libby, 2007).

İnflamatuar yanıt, hasara neden olan uyarının etkisinin hafifletilmesinin yanında, etkenin bölgeden uzaklaştırılması veya lokal olarak tutulması gibi işlevleri yerine getirir. Bununla birlikte hasarın giderilmesinde de rol oynamaktadır. Böylece organizmanın zararlı etkene karşı direncinin artması sağlanmış olur. Bunun dışında kontrol altına alınamayan otoimmün rahatsızlıklar, romatoid artrit ve alerjik reaksiyonların da patogeneğinde önemli bir yeri vardır (Ganong, 2002).

İnflamasyon; diyabet, bazı kanserler, ateroskleroz, osteoporoz, sarkoidoz ve tüberküloz gibi birçok hastalığın altında yatan birleştirici patofizyolojik mekanizmada rol oynar. İnflamasyonun koordineli çalışan ortak etki mekanizmaları zararın etkilerini hafifletirken, farklı hedef dokularda doku hasarı ve oksidatif stres meydana gelmesine neden olabilir. Ayrıca hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesi sürecine, anjiyogeneze ve fibrozis oluşumuna katılır. Tüm bu biyolojik cevabın gelişmesi doğal ve kazanılmış bağışıklık hücreleri tarafından düzenlenen birçok inflamatuvar mediyatör ile kontrol edilmektedir (Libby, 2007).

Doğal bağışıklık, hastalıklara karşı hızlı bir tepki oluşturur. Genellikle patojenler üzerinde bulunan ve memelilere yabancı gelen moleküllerin özelliklerini geniş bir yelpazede tespit eder. Bu yüzden bu patojenlere karşı sonradan kazanılmış bağışıklıkla daha spesifik bir cevap verilir (Janeway & Medzhitov, 2002; Medzhitov & Janeway, 1998).

Makrofajlar, lipopolisakkarit (LPS) ve fosfatidilserin gibi patojen kaynaklı ligantları tanıyan Toll benzeri reseptörler (TLR) de dahil olmak üzere birçok tanıyıcı reseptörü bünyesinde barındırırlar (Krieger, 1997). Toll benzeri reseptörlerle bu tip ligandların karşılaşması nükleer faktör-

kappa B (NF- κ B) ve mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yollarının aktive olmasına neden olur (Faure vd., 2000; Muzio, Natoli, Saccani, Levrero, & Mantovani, 1998). Toll benzeri reseptörlerin bu şekilde uyarılması da fagositozu tetikler ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunu arttırır. Ayrıca sitokinler, otakoidler ve lipid mediyatörler gibi lokal inflamatuvar cevabı sağlayan moleküllerin salınımı da sürece dahil olur (Takeda & Akira, 2005).

Kazanılmış bağışıklıkta daha yavaş, daha spesifik ve moleküler yapıları tanımaya yönelik olduğu için daha iyi odaklanmış bir immün yanıt oluşturulmaktadır (Hansson, Libby, Schonbeck, & Yan, 2002). T-hücreleri, yabancı bir antijenle karşılaştığı zaman ya sitotoksik T hücreleriyle direk saldırma yoluyla ya da B-hücrelerinin antikor üretmesini stimüle edip lokal inflamatuvar yanıtı başlatarak o antijene spesifik olan immün cevabı oluşturur. Yardımcı T hücreleri Th1 ve Th2 olmak üzere iki alt tipe ayrılır. Th1 hücreleri, içerisinde interferon-gammanın (IFN γ) da bulunduğu birçok sitokin salınmasına öncülük eder. IFN γ , makrofajları uyararak otakoidlerin, serbest oksijen radikallerinin, lipid türevlerinin ve pro-inflamatuvar sitokinlerin salınmasını hızlandırarak immün yanıtın kazanılmış ve doğal kolları arasındaki bağlantıyı kurar. Th2 hücreleri ise bulundurduğu sitokinler sayesinde B hücrelerinin antikor sunan hücrelere gelişimini uyarır. Ayrıca B hücrelerinden immünoglobülin E (IgE) antikorunun salınımının artmasını sağlayarak humoral bağışıklığı stimüle eder. Bunlardan başka birçok dokuda kronik inflamasyon oluşumuna katılan ve alerjik reaksiyonlara cevapta etkili olan mast hücrelerinin aktive olmasında etkilidirler (Frostegard vd., 1999; Robertson & Hansson, 2006).

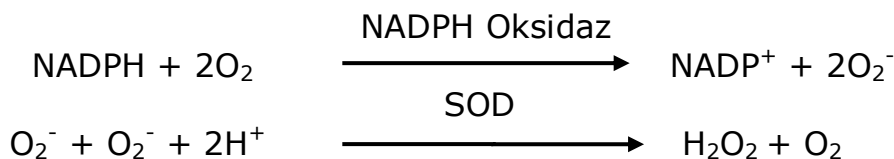
2.1.1. İnflamasyonun süreci

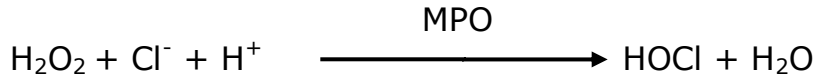
İnflamasyonun temel seyrinde kan hücrelerinin seçici, sıralı göçü ile zarar gören bölgede lokal aktivasyonları ve birbirleriyle etkileşimleri esastır (Libby, 2007). İnflamatuvar süreçte ilk olarak inflamasyon bölgesinde lokal olarak kan damarlarında genişleme ve kan akışında artış meydana gelir. Kapiller geçirgenliğin artmasıyla dokular arası sıvı artar ve bu intersistiyel sıvı kapillerden sızan fibrinojen nedeniyle pıhtılaşmaya başlar. Daha sonra birçok granülosit ve agranülositin hedef dokuya göç etmesiyle hedef dokuda şişlik meydana gelir. Tüm bu reaksiyonlar araziidonik asit yolu ürünleri prostaglandinlerle, aktif lenfosit, makrofaj ve monositlerden salgılanan sitokinler, pıhtılaşma ürünleri, lizozom enzimleri ve nitrik oksit gibi maddelerin etkisiyle meydana gelmektedir (Ganong, 2002; Neyzi & Ertuğrul, 2002).

Lökositler hedef bölgeye toplanırken infalamatuvar mediyatörlerin ve serbest oksijen radikallerinin oluşması, dokuda bir takım hasarların meydana gelmesine de neden olmaktadır. Enfeksiyon nedenli inflamasyonlarda ilk olarak inflamatuvar mediyatörler salınır. Ayrıca patojen kaynaklı moleküller sebebiyle makrofajlar aktive olarak fagositik aktiviteleri uyarılır. Genel olarak, hasarlı dokuda biriken lökositler ise

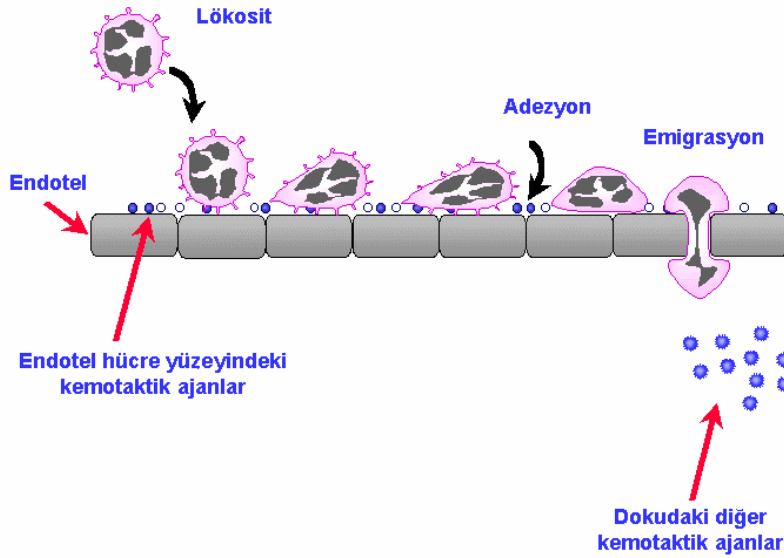
nötrofiller ve monositler olarak göze çarpmaktadır (Ganong, 2002). Normal durumlarda vasküler endotel hücreleri lökositlerle kontakt kurmaktan kaçınmaktadırlar. Fakat bu durum değişime uğramış lipoproteinlerle, mikrobiyal bileşenlerle ve endotel tabakasının vasküler hücre adezyon (yapışma) molekülleri ile selektin ailesi üyeleri (P ve E-selektin) eksprese etmesiyle değişir (Bevilacqua, Stengelin, Gimbrone, & Seed, 1989; Cybulsky & Gimbrone, 1991). Endotel iç yüzünün değişmesiyle birlikte lökositlerin kapiller duvarına doğru yaklaşması olayı marjinyasyon olarak adlandırılır. Kapiller duvarına yaklaşan lökositler adezyon molekülleri sayesinde endotel aralarından inflamasyon bölgesine geçer (Şekil 2.1). Endotel yüzeyi boyunca hareket eden lökositlerin ekstrasvasküler bölgeye hareket etmeleri lökositlerde kemotaksiyi uyaran interlökin-8 (IL-8) ve interlökin-1 (IL-1) gibi sitokinlerin etkisiyle meydana gelir (Ganong, 2002).

Nötrofillerin, makrofajların ve monositlerin en önemli özelliklerinden biri de fagositozdur. Serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olan bu süreçte lökositler, patojenlerin ve diğer zararlı maddelerin hücre içine alınıp çeşitli enzimlerce sindirilmesini sağlar (Ganong, 2002; Kumar & Cotran, 2008). Fagositoz sürecinde lökositin glukoz kullanması, laktik asit üretimi, fosfolipidlerin yıkımı ve yapımı olaylarında büyük bir artış meydana gelir. Bunlara bağlı olarak bir solunum patlaması olayı gerçekleşir. Nötrofillerde miyeloperoksidaz (MPO) enzimi, bromid ya da klorid iyonu ve H₂O₂ ile birlikte mikroorganizmaların yok edilmesinde aktivite gösterir. Fagositoz esnasında artmış olan O₂ kullanımı H₂O₂ oluşumuna öncülük eder. Artan O₂ kullanımı ya da solunum patlaması sırasında, elektron vericisi olarak NADPH kullanılır. Moleküler oksijenin (O₂) süperoksit radikaline (O₂⁻) indirgenmesi reaksiyonu fagozom zarında mevcut olan NADPH oksidaz aracılığıyla gerçekleşmektedir. (Babior, 1999; Barrette, Hannum, Wheeler, & Hurst, 1989). NADPH oksidaz enzimi hücre dinlenme halindeyken aktif olmamasına karşı kemotaksiye neden olan peptidler gibi çeşitli ligandlarla birlikte aktivesini kazanır. Reaksiyonda kullanılan NADPH, pentoz fosfat yolu aracılığıyla üretilir ve bu metabolik yolun aktivitesinin fagositoz sırasında oldukça arttığı gözlenmiştir. Süperoksit dismutaz, solunum patlaması sırasında oluşan süperoksit molekülünü H₂O₂' e dönüştürür. Fagosit içerisinde bulunan miyeloperoksidaz ise H₂O₂ ve klorid iyonu ile hipokloröz asit (HOCl[•]) oluşturmak üzere tepkimeye girer. Hipokloröz asit de mikroorganizmanın fagozom içerisinde yok edilmesini sağlar. MPO tarafından kullanılmayan H₂O₂ ise glutatyon peroksidaz ya da katalaz tarafından indirgenir (Babior, 2000; Barrette vd., 1989; Marcinkiewicz vd., 2000; Thomas, Bozeman, Jefferson, & King, 1995).





Hasara uğrayan dokuda inflamatuvar sürecin sonunda nötrofiller ve makrofajların bir kısmı ölür. Bunun yerine dokuda nekrotik kalıntılar, ölü makrofaj ve nötrofillerle birlikte doku sıvısı bulunan bir kavite oluşur. İnflamasyon tamamen bastırıldığında ise ölü lökositler ve nekroza uğramış doku zamanla otoliz olarak son ürünler çevre dokularca yok edilir (Ganong, 2002).



Şekil 2.1. İnflamasyon sürecindeki lökosit olayları (Kuralay & Çavdar, 2006)

2.1.2. İnflamatuvar mediyatörler

İnflamasyona uğramış dokudan, hücrelerden veya plazmadan köken alan inflamatuvar mediyatörlerden ilk keşfedilene histamindir. Bu mediyatörlerin hücrelerde spesifik reseptörleri vardır ve salındıklarında birçoğu kimyasal değişikliğe uğramaktadır. Ayrıca uyarılan bir mediyatör diğer bir mediyatörü uyarmak suretiyle de görev yapabilir (Bienvenu, 1995).

Kimyasal mediyatörleri 8 maddede sınıflandırmak mümkündür:

2.1.2.1. Vazoaktif aminler

Vazoaktif mediyatörler, akut inflamasyonda artmış damar geçirgenliğinden sorumlu histamin ve serotoninidir (Bienvenu, 1995). Histaminin kaynağı, kökeni kemik iliği olan mast hücreleri, kanda bulunan bazofiller ve trombositlerdir. Histaminin salınması travmatik olgular, sıcaklık artışı veya azalışı gibi fiziksel etmenler, mast hücrelerinde bulunan

kompleman sistem reseptörlerinin uyarılması, alerjik durumlar ve nötrofillerden lizozom proteinlerinin salınımı gibi olaylar sonucu gerçekleşmektedir. Yine mast hücrelerinden kaynak alan serotonin aynı zamanda aktive olmuş trombositler tarafından da salgılanmaktadır (Kuralay & Çavdar, 2006).

2.1.2.2. Plazma proteazları

İnflamatuar cevapta plazma kaynaklı maddeler olan kininler, kompleman sistem ve koagülasyon sistemi olarak ikiye ayrılmaktadır. En önemli kininler, arter genişlemesine ve damar geçirgenliğinde artışa neden olan bradikinin ve kemotaktik olarak nötrofillerin bir araya toplanmasına neden olan kallikreindir. Kompleman sistemin en önemli bileşenleri vasküler geçirgenliğin artmasında ve histamin salgılanmasında görevli olan C3a, nötrofil kemotaksisinden sorumlu olan C5a ve mikroorganizmaların fagositozundan sorumlu C3b'dir (Takabayashi vd., 1996). Fibrinojenin fibrine dönüşmesi esnasında oluşan fibrinopeptidlerle fibrin yıkım ürünleri de koagülasyon sistemini oluştururlar (Kuralay & Çavdar, 2006).

2.1.2.3. Araşidonik asit metabolitleri

İnflamasyon nedeniyle ya da çeşitli kompleman sistem ürünleriyle (C5a gibi) uyarılan fosfolipaz aktivasyonu hücre zarı fosfolipidlerinin parçalanmasına neden olmakta ve araşidonik asidi oluşturmaktadır (Cheeseman & Slater, 1993). Fosfolipaz aktivasyonu sonucu oluşan araşidonik asit daha sonra siklooksigenaz yolu ve lipoksigenaz yoluyla reaksiyona devam etmektedir. Siklooksigenaz yolu prostaglandin ve tromboksan senteziyle sonuçlanır. Birçok prostaglandin ve tromboksan tanımlanmış olup damar genişlemesi, daralması ve trombosit agregasyonu gibi işlevlerde görev almaktadırlar (Kuralay & Çavdar, 2006). Lipoksigenaz yolu ürünleri lökotrienler, hidroperoksiieikozatetraenoik asit (HPETE) ve hidroksiieikozatetraenoik asittir (HETE). Özellikle nötrofillerde bol olarak bulunan 5-lipoksigenaz enziminin etkisiyle araşidonik asitten oluşan bu metabolitler kuvvetli kemotaktik özellik gösterirler. Lökositlerin endotelle bağlantı kurmasına da yardım ederler (Haeggstrom, Nordlund, & Thunnissen, 2002).

2.1.2.4. Lökosit ürünleri

İnflamatuar yanıtta çeşitli şekillerde aktifleşen nötrofil ve makrofajlardan salınan lizozomal enzimler ve reaksiyon sonucu meydana gelen serbest oksijen radikalleri lökosit ürünlerini oluşturur (Cheeseman & Slater, 1993).

2.1.2.5. Trombosit aktifleştirici faktör (TAF)

Nötrofil, bazofil, monosit ve damar endotel hücrelerinin uyarılması sonucu trombositlerin bir araya gelmesini sağlayan ve trombosit

stümilasyonunu uyaran mediyatördür. TAF, ayrıca damar geçirgenliğinin artmasında, lökosit yapışmasında ve kemotaksisinde görev almaktadır (Aghabeigi, 1992).

2.1.2.6. Sitokinler

Polipeptid yapıda olan sitokinler bakteri ürünleri, toksinler, fiziksel olaylar ve immun sistem tarafından uyarılıp aktive olmuş makrofajlar ve yardımcı T hücreleri (CD4+) gibi hücre gruplarından sekrete olan moleküllerdir (Park & Barbul, 2004). İnflamatuar süreçte etkili olan en önemli sitokinler interlökinler (özellikle IL-1, IL-6 ve IL-8) ve tümör nekroz faktör-alfadır (TNF- α). TNF- α , proinflamatuvar etkilerinin yanında hücre büyüme ve çoğalmasını düzenlemesi açısından önemlidir. Bu sebeple de akut inflamasyonda ve tümör immünitesinde birçok rolü olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Bunlardan başka interlökinlerle birlikte lökosit adhezyonunun ve kemotaksisinin kontrolünde etkilidir. Yapılan çalışmalar IL-1'in inflamatuvar sindirim sistemi hastalıklarında ve tüberkülozda sitokin üretimini arttırdığı sonucunu vermiştir. Ayrıca antiinflamatuvar olarak, aşırı radyasyon dozlarına karşı ve tümör hücrelerinin çoğalmasının durdurulması için immün baskılayıcı olarak görev aldığı bildirilmiştir. Bunlardan başka IL-18 ile birlikte vasküler hücre adezyon molekülleri, vasküler endotelial büyüme faktörü ve hücre içi adhezyon moleküllerinin ekspresyonunda da etkili olduğu bilinmektedir. Dahası IL-1'in siklooksijenaz-2'yi (COX2) ve indüklenebilir nitrik oksit sentazı (iNOS) aktive ettiği dolayısıyla prostaglandin ile nitrik oksit (NO) sentezinde rol oynadığı gösterilmiştir (Armstrong, Jordan, & Millar, 1996; Dinarello, 2002).

2.1.2.7. Büyüme faktörleri

İnflamatuar süreçte aktive olan makrofajlar, çeşitli hücre tiplerinin çoğalmasında görev alan büyüme faktörlerinin salınmasından da sorumludur. Büyüme faktörleri, diğer mediyatörlerden farklı olarak etkisini hücre zarında bulunan reseptörlere bağlanarak gösterir (Park & Barbul, 2004). Epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblastlar ve birçok epitel hücresi üzerinde mitotik aktiviteyi artırıcı olarak rol oynar. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ise damar farklılaşmasından sorumludur. Bunlardan başka özellikle aktif trombositlerden olmak üzere endotel, düz kas ve makrofaj hücrelerinden de salınabilen trombosit kökenli büyüme faktörü (TKBF) de hücre çoğalması ve lökosit kemotaksisinde görev yapmaktadır (Sessle, 2001).

2.1.2.8. Nitrik oksit (NO), P maddesi ve kalpainler

Nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-arjininden sentezlenen NO, üzerinde taşıdığı çiftlenmemiş elektron ile uzun ömürlü olmayan bir serbest radikaldir. Endotel hücrelerinde bulunan nitrik oksit sentaz enzimi eNOS, indüklenebilir formda bulunan iNOS ve nöronlardaki ise cNOS

olarak adlandırılır (Rizk, Witte, & Barbul, 2004). Yapılan çalışmalar NO' in damarlarda vazodilatasyona neden olduğu sonucunu vermiştir. Bu etkinin yanında özellikle iNOS' un lipopolisakkaritler, interferon- γ ve TNF gibi moleküller tarafından uyarılmasıyla makrofajlarda çok miktarda NO üretimi gerçekleştiği ve patojenlere karşı bir savunma sistemi oluşturulduğu gösterilmiştir. (Cendan vd., 1996). NO' nun aşırı üretiminin mast hücrelerinin aktivasyonunu engellediği ve lökositlerin adhezyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Bunlardan başka özellikle güçlü bir oksidan olan peroksinitritin (ONOO⁻) oluşumuna neden olduğu bilinmektedir (Hibbs, 2002).

Bunların dışında ağrı iletiminde rol oynayan periferik sinirlerin terminal uçlarında yerleşmiş nöropeptid grubu bir mediyatör olan P maddesi, damar genişlemesi ve salgı üretiminde artışa neden olan analjezik etkili bir kimyasaldır (O'Connor et al., 2004).

Son olarak kalpainler, birçok nörodejeneratif hastalığın patofizyolojik gelişiminde rol oynayan, inflamasyon, apoptoz ve hücre siklusunda görevli proteazlar olarak bilinmektedir. İnflamasyon oluşumunda önemli bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B' nin aktive edilmesini sağlayarak etkinliğini gösterdiğine dair çalışmalar mevcuttur (Lancaster, Christman, Blackwell, Koay, & Blackwell, 2001).

İnflamasyonun önlenmesinin pek çok kanser tipinde hastalıktan korunma sağladığı yönünde yapılan çalışmalar mevcuttur. Özellikle akut inflamasyona nazaran hücre ve doku hasarının uzun süreli seyrettiği kronik inflamasyonun, epitelyal kanser oluşumunda bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Ayrıca viseral kanserlerin 5' te 1' inde etken olarak enfeksiyonların rol oynadığı gösterilmiştir (Arık, Güdeloğlu, & Uygur, 2011). İnflamasyon sonucu enfeksiyöz olsun ya da olmasın dokuda gelişen fagositoz aktivitesinin artması ve süperoksit anyonlarının çıkışına bağlı olarak oluşan oksidatif ürünler sebebiyle DNA' da mutasyonların gerçekleştiği bildirilmiştir. Kansere neden olan enfeksiyöz ajan varlığında (*Helicobacter pylori* gibi) serbest oksijen radikallerinin arttığı ve vücuttaki antioksidan enzimlerin büyük çoğunluğunda bir azalma meydana geldiği görülmüştür (Kawanishi & Hiraku, 2006; Zhou, Xiao, Zheng, Dong, & Zhang, 2006).

2.2. Lipopolisakkarit (LPS)

Lipopolisakkarit, Gram-negatif (-) bakterilerin önemli bir dış zar bileşenidir. Yapısında polisakkarit ve fosfolipid bulunan LPS, 10⁵-10⁸ Da moleküler ağırlığında ve ampifilik karakterde bir moleküldür. Antijenik özelliğe sahip olan LPS, bakteri lizise uğradığında, bakteri bölünürken veya protein vezikülleri ile birlikte salınır (Rietschel vd., 1996). LPS' nin endotoksitesini onun kimyasal yapısı belirler. Yapısındaki polisakkarit alan en dış yüzde O-spesifik halkadan oluşur ve endotoksinin

spesifikliğinden sorumludur. Diğer bölge olan yan zincir (R-kor oligosakkarit) ise birbirine benzer olan bakterilerde yapı olarak aynıdır. Fosfolipit alan olan lipit A bölgesi, toksisitenin oluşmasını sağlayan ve inflamatuvar yanıtı neden olan yapıdır (Caroff & Karibian, 2003; Dmitriev, Ehlers, & Rietschel, 1999).

LPS' nin inflamatuvar süreci başlatmasındaki ilk basamak karaciğer tarafından sentezlenen lipopolisakkarit bağlayıcı proteinle (LBP) etkileşmesidir. LBP ile bağlanan LPS, monosit, lenfosit ve özellikle makrofajların zarında bulunan CD14 ve TLR-4 gibi reseptörlerin uyarılmasını sağlayarak immün yanıtın başlamasına öncülük eder (Dai, Zhang, & Pruett, 2005; Iontcheva, Amar, Zawawi, Kantarci, & Van Dyke, 2004). Bu reseptörlerin uyarılması, hücre içerisinde bir dizi sinyal yolunun aktifleşmesini sağlayarak bir nükleer transkripsiyon faktörü olan NF- κ B' yi ve MAPK yolunu aktive eder. Bunun sonucunda TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-8 ve IL-6 gibi birçok proinflamatuvar sitokin ve iNOS' un ekspresyonunda bir artış meydana gelir (Heller vd., 1997). Etkenin yok edilmesine yardım eden bu inflamatuvar yanıtın sonunda ise iNOS aracılığıyla oluşan NO, siklooksijenaz-2 (COX-2) etkisiyle oluşan prostaglandinler ve serbest oksijen radikalleri gibi ürünler açığa çıkar. Ayrıca T ve B lenfositlerin uyarılmasına katkı sağlayan LPS, antikor üretilmesini sağlar. Bunlardan başka serum proteazlarının, kompleman sistem elemanlarının ve fagositlerin aktifleşmesinde rol oynamaktadır (Alexander & Rietschel, 2001).

Birçok Gram-negatif bakteri hücre duvarında LPS bulunmasına rağmen inflamasyon ve sepsis çalışmalarında genellikle *Escherichia coli* (*E. coli*)' nin değişik serotiplerinden elde edilen liyofilize toz halindeki formları kullanılmaktadır (İskit, 2005).

2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem

2.3.1. Serbest radikaller

Organizmadaki metabolik olaylar sonucu doğal olarak oluşan serbest radikaller, vücut tarafından oksidan-antioksidan dengesi adı verilen bir sınırdaki tutulmaya çalışılır. Bu dengenin bozulması birçok hastalığın da patolojisinde rol oynayan oksidatif stresin meydana gelmesine neden olur (Mercan vd., 2004).

Serbest radikallerin en önemli özelliği son yörüngelerinde, diğer birçok radikal ile paylaşabileceği ve son derece reaktif olan eşlenmemiş bir elektron bulundurmalarıdır. Normalde atomun yapısında bulunan elektronlar orbital olarak isimlendirilen yörüngelerde çiftler halinde bulunurlar. Bazen bu durum serbest radikallerde olduğu gibi değişir ve son yörüngedeki eşlenmemiş elektron, diğer moleküllerle reaksiyona girmeye

mevilli olup organizmada da temel organik moleküllerin yapılarını bozarak zararlı hale dönüşebilirler (Mccord, 1993; Uzel, 1988).

Kimyasal olarak oldukça kararsız olan serbest radikaller, ortaklanmamış elektronunu diğer bir moleküle vermek ya da ondan bir elektron koparmak için mücadele eder. Bunun sonucunda da reaksiyona girdiği molekülü bir radikal haline getirebilir (O'Neill, Stebbins, Bonigut, Halliwell, & Longhurst, 1996).

Organizmada serbest radikaller metabolik olaylar sonucu sürekli oluşmakta olup biyolojik sistemlerde meydana gelme yollarında ilk sırayı elektronların radikal oluşturmak için diğer bir moleküle transfer olmaları almaktadır (Seifried, Anderson, Fisher, & Milner, 2007).

2.3.2. Serbest oksijen radikalleri

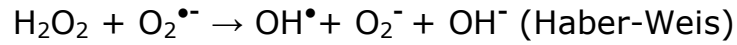
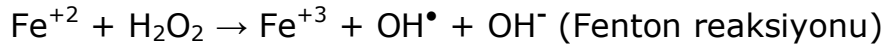
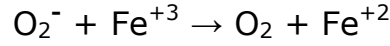
Oksijen (O_2), enerji düzeylerindeki elektronların yapısı nedeniyle oldukça kararsız olan, suda çözünmeyen, kokusuz ve renksiz bir moleküldür. Aynı orbitallerde (2P) bulunan elektronların aynı yönde dönmesi oksijenin kararlılığı açısından oldukça önemlidir. Çünkü bu elektronlardan bir tanesinin diğer orbitale sıçraması ya da farklı yönde dönmeye başlaması singlet oksijen oluşmasına neden olmaktadır. Oksijenin bu reaktif yapısı ve özellikle oksijen kullanan canlılarda metabolik faaliyetlerdeki kullanımının yüksek derecede olması oksijenin biyolojik sistemlerdeki en önemli reaktif kaynak olmasına neden olmaktadır. Reaktif oksijen türleri, kendileri radikal olmayan fakat oksijen radikallerinin meydana gelmesi sırasında açığa çıkan türevleri de kapsamaktadır (Tablo 2.1). Radikal olan ve olmayan oksijen türevleri tabloda verilmiştir (Albayrak, 2015).

Tablo 2.1. Radikal ve Radikal Olmayan Oksijen Türevleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
Hidroksil (HO^-)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Alkoksil (RO^-)	Singlet oksijen ($O_2 \uparrow\downarrow$)
Peroksil (ROO^-)	Ozon (O_3)
Süperoksit (O_2^-)	Hipoklorit ($HOCl$)
Nitrik oksit (NO^-)	Lipid hidroperoksit ($LOOH$)
Azot dioksit (NO_2^-)	Peroksinitrit ($ONOO^-$)

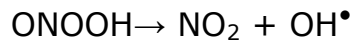
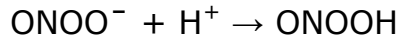
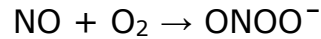
Biyolojik sistemlerde, oksidatif fosforilasyonla ATP üretilirken oksijenin indirgenmesi sırasında süperoksit (O_2^-) radikali oluşmaktadır. Zayıf bir oksidan olan O_2^- radikalinin kendi başına önemli hücre hasarlarına neden olması zor gibi görülse de oksidatif strese yol açabilen reaksiyonları başlatabilmesi açısından önemlidir. En önemli reaksiyon olan ve demir gibi

geçiş metallere (Cu, Mn, Zn, Cr, Co, Ni, Mo) katalize ettiği Haber-Weiss reaksiyonunda dikkat çeken O_2^- , H_2O_2 ve demir varlığında oldukça reaktif olan hidroksil (OH^-) radikallerini oluşturur. Hidrojen peroksit ise hücre zarı içerisine girerek daha reaktif olabilecek radikallerin oluşmasına neden olur. Bu sebeple tüm bu zararların önlenmesi için vücutta bir takım antioksidan sistemler geliştirilmiştir (Nordberg & Arner, 2001; Albayrak, 2015).



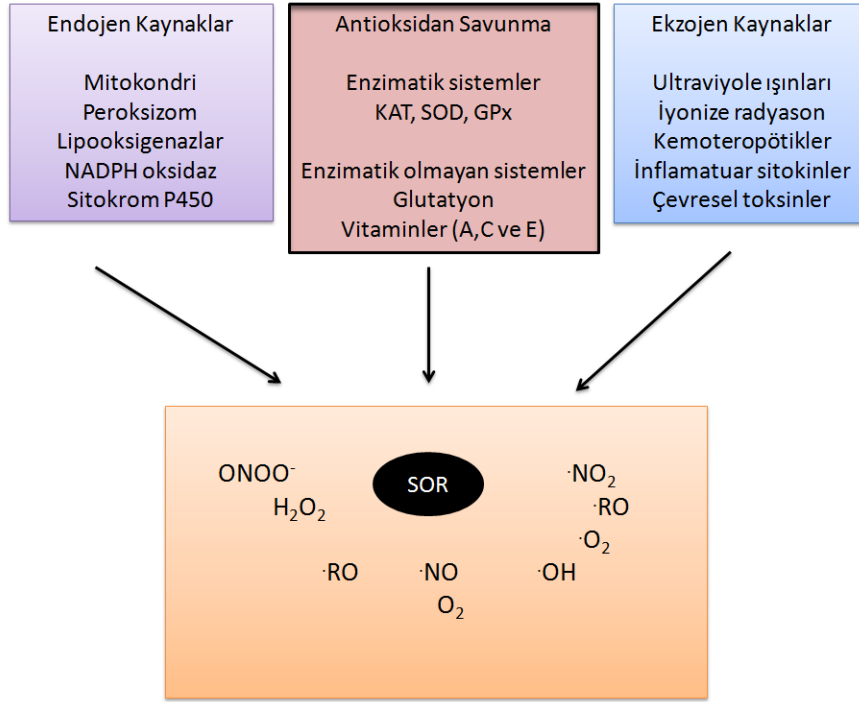
Hidroksil radikali DNA'daki deoksiriboz molekülüne etki ederek DNA ve RNA'da bulunan aromatik pürin ve pirimidin bazlarıyla girdiği reaksiyonlar sonucu mutajenik olabilmektedir. Ayrıca DNA'da zincir kırılmalarına yol açabilmektedir (Dizdaroglu, 1991). Peroksil radikali (ROO^-) hücre zarında yer alan yağ asitleriyle birleşip lipid hidroperoksitlere dönüşür ki bu olay reseptörlerin aktivitesini engellediğinden hücre zarı yapısına ciddi zararlar vermektedir (Sleep, Wilson, Simmons, & Gratzer, 1999). Bunların dışında nötrofil, makrofajlar gibi hücrelerin fagositik faaliyetleri sonucu oluşan hipokloröz asit yine zararlı bir oksidan olarak görülmektedir (Marcinkiewicz vd., 2000).

İnflamatuar cevapta rolü olan ve damar endotelinin fizyolojik faaliyetlerini düzenleyen NO ise hücre içinde oluşmuş olan diğer serbest radikallerle reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturmakta ve daha ileri reaksiyonlar sonucu hidroksil radikalinin meydana gelmesine neden olmaktadır. (Marcinkiewicz vd., 2000; Albayrak, 2015)



2.3.3. Serbest radikallerin kaynakları

Serbest radikallerin kaynakları endojen (hücre içi) kaynaklar ve ekzojen kaynaklar olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 2.2).

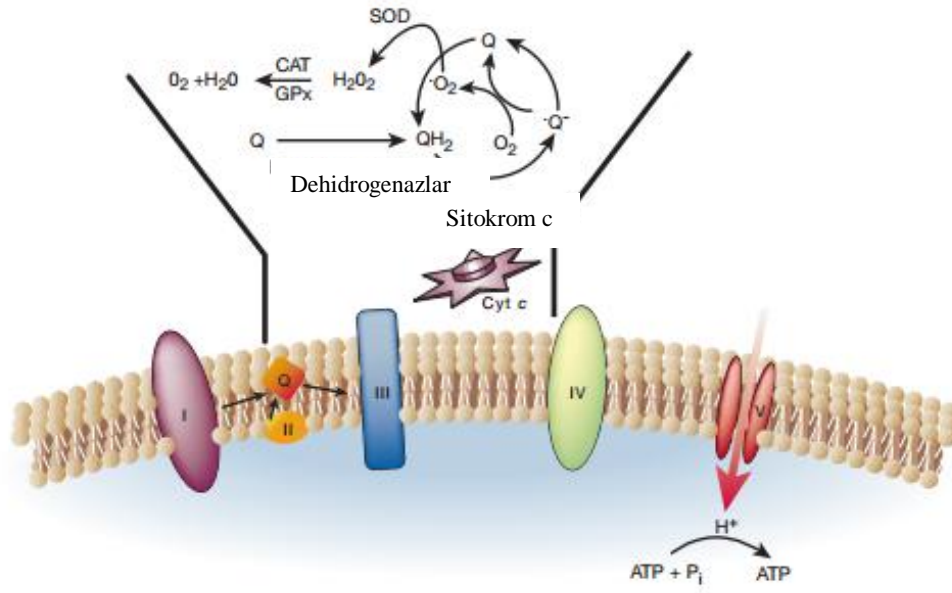


Şekil 2.2. Serbest radikallerin kaynakları (Finkel & Holbrook, 2000)

2.3.3.1. Endojen serbest radikal üretim kaynakları

2.3.3.1.1. Mitokondri

Normal fizyolojik koşullarda metabolizma faaliyetleri sonucu ortaya çıkması kaçınılmaz olan serbest radikallerin en önemli hücre içi kaynağı mitokondrilerdir. Elektron transport sisteminde (ETS) özellikle koenzim Q (ubikinon-sitokrom c redüktaz kompleksi) ve NADH dehidrogenaz gibi komplekslerden oksijene elektronlar aktarılırken serbest radikaller oluşur (Şekil 2.3). Bu sebeple kullanılan O₂' in %1-2 kadarı ETS' de reaktif oksijen türevi oluşturmaktadır (Finkel & Holbrook, 2000; Turrens, 1997).



Şekil 2.3. Mitokondride süperoksit radikali oluşumu (Finkel & Holbrook, 2000)
 (Q: Koenzim Q, **I, II, III, IV ve V**: ETS kompleksleri, **SOD**: süperoksit dismutaz
CAT: Katalaz **GPx**: Glutatyon peroksidaz)

2.3.3.1.2. Endoplazmik retikulum

Sitokrom P450 monooksijenaz enzim sistemleri eritrositler ve olgun iskelet kası hücreleri dışında tüm memelilerde ve prokaryotlarda bulunan hem proteini içeren sistemlerdir. Prostaglandinler, lökotrienlerinde de içinde bulunduğu birçok yağ asidinin, ksenobiyotiklerin ve birçok ilacın oksidasyonunda görev yapan bu enzim sistemi, endoplazmik retikulumda elektronların NADPH aracılığıyla taşınması işlemi yer alır. Moleküler oksijenin kullanıldığı bu reaksiyonlar sonucu serbest radikallerin oluştuğu görülmüştür. Reaksiyonların önemli bir özelliği ise oluşan radikalin bir nükleofil ile reaksiyona girerek DNA, RNA ve birçok enzimde bulunan tiyol (-SH) grubu oluşturmasıdır. Bunun sonucunda oluşabilecek reaktif ara ürünler bu makromoleküllere bağlanarak hasar oluşturur. Ayrıca endoplazmik retikulumda gerçekleşen protein katlanması ile reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkması arasında da yakın bir ilişki olduğu bilinmektedir (Malhotra & Kaufman, 2007; Özerol, 1996; Sies & de Groot, 1992).

2.3.3.1.3. Araşidonik asit metabolizması

Lipooksijenaz (LOX) ve siklooksijenaz (COX) enzimleri aracılığıyla yağ asitlerinden prostaglandinlerin ve lökotrienlerin oluşmasına neden olan araşidonik asit metabolik yolu, fagositozun uyarılması, çeşitli protein kinazlar ve fosfolipazın aktive olması sonucu hücre zarından araşidonik asit salınmasıyla başlar. Bu reaksiyonda görev yapan COX ve LOX enzimlerinin peroksitlere ihtiyaç duyması bu yolun bir serbest radikal kaynağı olmasına yol açmaktadır (Albayrak, 2015).

2.3.3.1.4. Fagositoz

Nötrofiller, monositler ve makrofajlar fagositoz sırasında bakterileri öldürmek ve nekrotize olmuş dokuları temizlemek için serbest oksijen radikallerini kullanırlar. Bunlar süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve hipokloroz asittir. Mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama meydana gelmesi sonucu oluşan oksidan maddeler fagozom içerisine alınmış bakterileri yok etmektedir (Dilmen, 2013).

2.3.3.1.5. Oto-oksidasyon

Hücrede yer alan moleküllerin birçoğu oksijenin ortamda bulunmasıyla stabilitesini kaybedebilir ve bunun sonucunda ootokside olabilirler. Hemoglobin, hormonlar, tiyoller, doymamış zar lipitleri gibi önemli hücre bileşenleri kendiliğinden okside olarak serbest radikal üretimine neden olurlar (Hogg, 1999; Albayrak, 2015).

2.3.3.1.6. Oksidan olarak görev yapan enzimler

Oksidatif fosforilasyon yapan organizmalarda oksijenin de içinde bulunduğu birçok reaksiyon süperoksit anyonunun oluşmasıyla sonuçlanır. Pürinlerin yıkım yolunda etkili olan ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, monoamin oksidaz, diamin oksidaz, nitrik oksit sentaz gibi birçok enzim, reaksiyonları sonucunda serbest radikal üretimine kaynak sağlarlar. Örneğin; normal durumda elektron alıcısı olarak moleküler oksijeni kullanmayan ksantin oksidaz, iskemi durumlarında oksijen seviyesi düşük olduğundan önemli hasar meydana getirmez. Fakat reperfüzyon sırasında oksijenlenme normale dönünce iskemi yerinde ksantin oksidaz etkisiyle fazla miktarda hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit radikali (O_2^-) oluşmaktadır (Chambers vd., 1985; Dilmen, 2013).

2.3.3.1.7. Kimyasal maddeler

Mikrozomlarda gerçekleşen ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu süreci dışında, birçok kimyasal madde (parakuat, dikuat, metallothionein gibi) ekstra elektron alma eğilimindedir. Örneğin özellikle karaciğerde biriken parakuat bu şekilde indirgendikten sonra tekrar ana bileşiğe dönüşürken süperoksit radikali oluşturmakta ve oluşan bu radikaller sitozolden demir gibi geçiş metallerinin sitozole salınmasını tetiklemektedir. Sitozole salınan geçiş metalleri fenton reaksiyonuyla yıkıcı bir radikal olan hidroksil iyonunun oluşmasına neden olarak hücrel hasarın oluşma sürecini başlatır (Chevion, 1988; Hauck, Aaron, Wright, Kopchick, & Bartke, 2002).

2.3.3.2. Ekzojen serbest radikal üretim kaynakları

Ekzojen olarak organizmada serbest radikal üretimine neden olan etmenler olarak; havadaki azot dioksit ve kükürt dioksit gazları, çözücüler, pestisitler, asbest gibi kimyasallar, radyasyon, ultraviyole ışınları, stres, aşırı alkol tüketimi, çoklu doymamış yağ asitleri, yüksek kalorili beslenme, DNA hasarına yol açabilecek aşırı demir ve bakır tüketilmesi verilebilir (Albayrak, 2015).

2.3.4. Serbest radikallerin etkileri

Biyolojik sistemlerdeki metabolik aktivitelerin sonucu oluşan serbest radikallerin birçok hastalığın patogeneğinde rol oynaması tartışılmaz bir gerçektir. Fakat doğal mekanizmalar tarafından meydana gelen serbest radikallerin hücre içerisinde değişik roller de üstlendiği bildirilmiştir. Son yıllarda süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksitin (H_2O_2) ikinci haberci olarak görev yaptığı düşüncesi hızla açığa kavuşturulmaktadır. Son yirmi beş yılda yapılan araştırmalar serbest radikallerin hücre fonksiyonlarını düzenlediği yönünde kanıtlar sağlamıştır. Özellikle hidrojen peroksit ile yapılan çalışmalar, onun hücre içerisinde insülin büyüme faktörü gibi görev yaptığını göstermiştir. Redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerinin keşfi sonrası NO'nun guanilat siklaz aracılığıyla vazodilatasyonda ve sinir iletiminde rol oynadığı kanıtlanmıştır. Bu gelişme serbest radikallerin ikinci haberci olarak işlev yaptığının diğer bir kanıtı olarak dikkat çekmektedir. Pek çok araştırmadan elde edilen bu gibi veriler serbest radikallerin hedefleri ve sinyal yolları hakkındaki resmin aydınlatılmasına ışık tutmaktadır (Bobrowski, 2005).

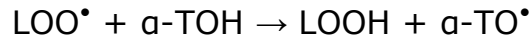
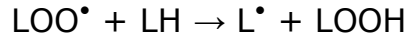
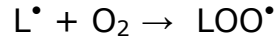
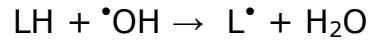
Vücudumuzdaki tüm moleküller serbest radikaller tarafından hasara uğratılma riskiyle karşı karşıyadır. Böyle hasarlı moleküller hücre fonksiyonlarını bozarlar ve hatta birçok patolojik durumda hücre ölümlerine kadar gidebilecek sonuçlar doğurabilirler (Devasagayam vd., 2004).

2.3.4.1. Lipidlere etkileri ve lipid peroksidasyonu

Hücre organellerinde veya hücre zarında bulunan lipidler serbest radikal hasarına karşı son derece duyarlıdır. Serbest radikaller ile reaksiyona giren lipidler doğrudan veya dolaylı olarak lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan zincir reaksiyonları başlatabilirler. Lipid peroksidasyonu sırasında açığa çıkan ve etkisini oluştukları alan dışında da gösterebilen çok sayıda toksik madde ikinci haberciler olarak davranabilirler. Lipid peroksidasyonundan kaynaklanan hasarlar hücre fonksiyonlarının devamlılığı açısından da oldukça önemlidir. Lizozomal zarların tahribi hidrolitik enzimlerin salınması ve intrasellüler sindirimin gerçekleşmesine neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki gösterebilirler. Bunların yanı sıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histin, stein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon

reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (Devasagayam vd., 2004; Albayrak, 2015).

Lipid peroksidasyonu bir yağ asidinin metilen (CH₂) grubundan bir hidrojen atomu kopması ve karbon atomunda (*CH) eşlenmemiş bir elektron bırakmasıyla başlar. Bu şekilde oluşan lipid radikali O₂ ile reaksiyona girerek lipid peroksilleri (LOO*) oluşturur. Lipid peroksil radikalleri, zar yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidperoksitlerine (LOOH) dönüşürler. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder. Lipid peroksidasyonun en önemli sonlanma reaksiyonu lipid peroksillerin (LOO*) ya da lipid radikalinin (L*) vitamin E veya α-tokoferol gibi antioksidan bir molekülle daha ileri reaksiyon veremeyecek stabil tokoferol fenoksil gibi radikalleri oluşturmasıdır (Bobrowski, 2005).



Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitlerinin (LOOH) yıkımı geçiş metallerinin katalizini gerektirir. Lipid peroksitleri (LOOH) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan, hücre düzeyinde metabolize edilen ve başlangıçtaki etki alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayan aldehitler oluşur. Bunlar içerisinde en önemlileri Malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (HNE) ve çeşitli 2-alkenallerdir. Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar ve lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi bir korelasyon gösterir. Lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonu ürünlerinden birisi olan **MDA** konsantrasyonu tiyobarbitürik asit (TBA) metodu kullanarak plazma ve çeşitli doku homojenatlarında belirlenebilmektedir (Bobrowski, 2005; Yangı, 2012).

2.3.4.2. Proteinlere etkileri

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinin aminoasit içeriğine göre değişmektedir. Bunun dışında oransal olarak daha fazla disülfid bağı içeren hücre dışı proteinler (IgG, albümin gibi) hidroksil ve peroksi radikali saldırısına daha hassastır. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar nedeniyle proteinlerde fragmantasyon, çapraz bağlanma, proteinin agregasyonu ve dolayısıyla bazı enzimlerin inaktive olması sonucu ortaya çıkabilir. Özellikle kükürt içeren (sistein, sistin gibi) aminoasitlerin ve doymamış bağ içeriklerinden dolayı aromatik aminoasitlerin (tirozin,

triptofan, fenilalanin) radikallerden etkilenmeleri daha kolaydır. Yapısında demir bulunan hemoglobin gibi proteinler önemli derecede zarar görürler. Oksihemoglobinin süperoksit radikali veya hidrojen peroksitle reaksiyona girmesi ferrihemoglobin ya da methemoglobin adı verilen hipoksiye neden olan bileşiğin meydana gelmesine neden olmaktadır (Devasagayam vd., 2004; Erenel vd., 1992; Reznick vd., 1992).

Serbest radikallerin protein yapısında meydana getirdikleri bu hasar, proteinlerin antijenitesinde, nörotransmitter fonksiyonlarında ayrıca zar proteinlerinin işlevlerinde bozulmalara yol açmaktadır. Proteinlerin artan oksidasyonu yaşlanmayla beraber birçok hastalığın oluşumunda rol oynamaktadır. Beyin hücrelerinin ve yaşlanan hücrelerin lizozomlarında toplanan peroksit olmuş lipid ve proteinlerin bir agregatı olan lipofuscinin, nörodejeneratif hastalıklarla ilişki içerisinde olduğu bilinmektedir (Devasagayam vd., 2004; Erenel vd., 1992; Reznick vd., 1992).

2.3.4.3. DNA'ya etkileri

Nükleik asitler de hücrede oluşan serbest radikallerin, mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açabilecek etkisine maruz kalmaktadır. Özellikle hidroksil radikalının bazlarla ve deoksiriboz şekeriyle çok kolay bir şekilde reaksiyona girmesi ve ayrıca hidrojen peroksitin de zarlardan kolayca geçerek çekirdeğe, oradan da DNA'ya ulaşarak hücre ölümüne yol açıyor olması radikallerin nükleik asitlere oldukça zarar verebileceğinin bir işareti olarak kabul edilebilir. Hidroksil radikali saldırısına en hassas bölge olarak pirimidin bazların C4-C5 çift bağı dikkat çeker. Timin glikol, urasil glikol, 5-hidroksideoksiuridin gibi pirimidin hasar ürünleri bu hidroksil saldırısı sonucu oluşur. Hücrede oluşabilecek toksisite özellikle nükleik asit baz değişimlerinden ve kromozomlarda meydana gelebilecek hasarlardan kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda malondialdehitin de çekirdekte DNA ile reaksiyona girebilmesi potansiyel zararına işaret etmektedir (Halliwell & Gutteridge, 1984; Albayrak, 2015).

Oksijenli sistemlerde karbon merkezli şeker radikaline moleküler oksijenin eklenmesi sonucu peroksil radikalleri oluşmaktadır. Şeker peroksil radikallerinin en karakteristik özelliği karbon-karbon bağı kırarak alkali bölge oluşturmalarıdır. C5 merkezli peroksil radikali, oksil radikaline dönüştürülerek DNA zincirinin kırılmasına, sağlam bazın ve değişmiş şekerin serbest kalmasına yol açmaktadır. DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları DNA zincirinden salınabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir. Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları; değişik modifiye baz ve şekerler oluşumuna, kontrolsüz baz dizilimine, zincir kırılmalarına ve DNA-protein çapraz bağlarının oluşmasına neden olabilirler (Devasagayam vd., 2004; Halliwell & Gutteridge, 1984; Albayrak, 2015).

Reaktif nitrojen ürünleri (nitrojen dioksit, peroksinitrit, dinitrojen trioksit ve nitrik asit gibi) de DNA' da nitrozasyon ve deaminasyon

tepkimleri ile mutajenik bir aktiviteye yol açarlar. DNA' da meydana gelen bu değişikliklerin yaşlanma ve kanserle doğrudan ilişkili olması son derece önemlidir (Devasagayam vd., 2004; Halliwell & Gutteridge, 1984; Albayrak, 2015).

2.3.4.4. Karbohidratlara etkileri

Normal fizyolojik koşullarda uygun pH ve sıcaklıkta glukoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu ile hidrojen peroksit ve okzaldehitler oluşabilir. Hidroksil gibi serbest radikaller rastgele olarak karbohidratın karbon atomlarından birinden hidrojen atomu kopararak karbon merkezli radikaller oluşturabilir. Oluşan serbest radikallerin hyaluronik asidi parçalayarak gözde katarakta sebep olması ve romatoid artritte olduğu gibi nötrofillerin aktivasyonu sonucu oluşan zararlı okziradikaller serbest radikallerin karbohidratlara etkilerine örnek olarak gösterilebilir (Devasagayam vd., 2004; Erenel vd., 1992).

2.3.5. Antioksidan sistem

Organizmalarda sürekli oluşan serbest radikallerin etkilerini en aza indirecek veya yok edecek sistemler gelişmiştir. Prooksidan-antioksidan dengenin bozulmaması dolayısıyla oksidatif stresin oluşmaması ve oluşacak zararlı etkilerin en aza indirilmesi, organizma açısından kritik önem taşımaktadır. Serbest radikaller ve onların eylemlerini nötralize edebilen antioksidanlar, farklı aşamalarda etkilerini gösterirler. Bu etkiler; serbest oksijen radikallerini tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemi olan **toplayıcı etki**, serbest oksijen radikallerine bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale dönüştürme işlemi olan **baskılayıcı etki**, serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleme işlemi olan **zincir kırıcı etki** ve serbest oksijen radikallerinin yapmış olduğu hasarı tamir etme işlemi olan **onarıcı etki** olarak sınıflandırılabilir (Devasagayam vd., 2004; Zerin, Karakilçik, Nazligül, Bitiren, & Özardali, 2004). Antioksidan etkinlik, aktivasyon enerjisi, reaksiyondaki hız sabiti ve yükseltgenme-indirgenme potansiyeli ile ilişkilidir. En etkili antioksidanlar serbest radikal zincir reaksiyonunu durdurmak üzere çalışırlardır. Genellikle aromatik veya fenolik halkalar içeren bu antioksidanlar oksidasyon sırasında oluşan serbest radikallere H[•] vererek kendilerini radikal haline getirirler (Brewer, 2011).

İmmün sistemdeki hücrelerin savunma görevlerini gerçekleştirebilmek için serbest radikallere ihtiyaçları olsa da serbest radikallerin aşırı üretimi veya antioksidan sistem tarafından etkisiz hale getirilememeleri hücre ölümü ve doku hasarı ile sonuçlanmaktadır (Blokhina, Virolainen, & Fagerstedt, 2003).

2.3.6. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidan sistem, genel olarak endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Çeşitli enzimler, suda veya yağda çözünebilen radikal tutucuları ve metal iyonlarını bağlayan proteinler bu antioksidan sistemin bileşenlerini oluşturur. Vücudun primer savunma sistemi olarak lipolitik ve proteolitik enzimleri, sekonder savunma sistemi olarak ise DNA' da meydana gelen hasarları tamir edici mekanizmaları sayabiliriz (Yoshihara, Fujiwara, & Suzuki, 2010).

2.3.6.1. Endojen antioksidanlar

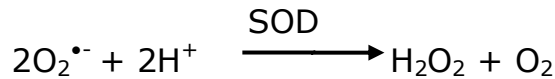
Endojen antioksidanlar da enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

2.3.6.1.1. Enzimatik antioksidanlar

Redoks döngüsünde yer alan birçok enzimden oluşan antioksidan sistemler, serbest radikal zincir tepkimesinin başlattıkları ve serbest radikal miktarını azalttıkları için primer antioksidanlar olarak adlandırılırlar. Çoğunlukla suda çözümler ve zararlı oksijen radikallerinin ortadan kaldırılmasında görev yaparlar (Çolak, 2011).

2.3.6.1.1.1. SOD

Süperoksit dismutaz (SOD) genellikle zincirleme radikal tepkimelerinde ilk basamak olarak görev yapar. Katalizlediği reaksiyon, süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştüğü ve süperoksitin çok daha reaktif olan formlara dönüşümünün engellendiği tepkimedir. Süperoksit radikalinin temizlendiği reaksiyon olan dismutaz reaksiyonu lipid peroksidasyonunun önüne geçilmesini sağlar. Dolayısıyla hücre içerisinde süperoksit seviyeleri kontrol altına alınmış olur. Aynı şekilde oksidatif solunum sonucu elektron taşıma sisteminde oluşan radikallerin temizlenmesinde sitokrom sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda devreye giren SOD, koruyucu etkisini göstermektedir (Gutteridge, 1995; Çolak, 2011).

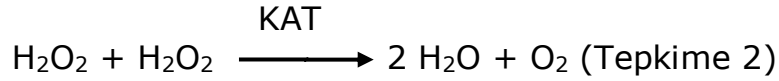
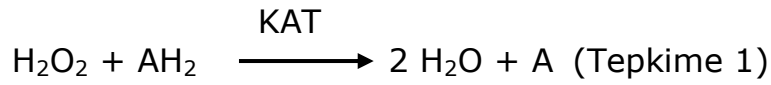


Yapı olarak aktif bölgelerindeki kofaktör metallere göre dört adet SOD tanımlanmıştır. İnsanlar da dahil olmak üzere tüm ökaryotlarda hücrelerin sitozolünde bulunan formu bakır-çinko SOD (Cu-Zn-SOD) siğir eritrositlerinden izole edilmiştir. Demir formu (Fe-SOD) birçok bakteride ve bitki kloroplastlarında bulunurken, mangan formu (Mn-SOD) ökaryot mitokondrilerinde ve *E. coli* gibi bakterilerde mevcuttur. Demir ve mangan formlarının aktif bölgelerinin alfa heliks yapısı ve aminoasit dizilimleri birbirine benzer. Nikel SOD ise prokaryotik (*Streptomyces sp.*) hücrelere

özeldir. İnsanlarda Cu-Zn-SOD (SOD1) sitoplazmada, Mn-SOD (SOD2) mitokondrilerde mevcuttur. Ekstraselüler süperoksit dismutaz (EC SOD) ise plazmada, selebrospinal sıvılarda ve lenfte bulunmaktadır (Borgstahl vd., 1992; Tainer, Getzoff, Richardson, & Richardson, 1983).

2.3.6.1.1.2. Katalaz (KAT)

Yapısında dört adet hem grubu bulunduran peroksizom enzimlerinden katalaz, karaciğer, kan, kemik iliği ve böbrekte bol olarak bulunan bir hemoproteindir. Katalaz enzimi oksidazların oluşturduğu ve hücreler için toksik olan hidrojen peroksitin suya dönüştürülmesini sağlar. Katalaz, hidrojen peroksit oluşum hızı düşükse birinci tepkimeyi, çok yüksekse ikinci tepkimeyi katalizler (Aebi, 1984).



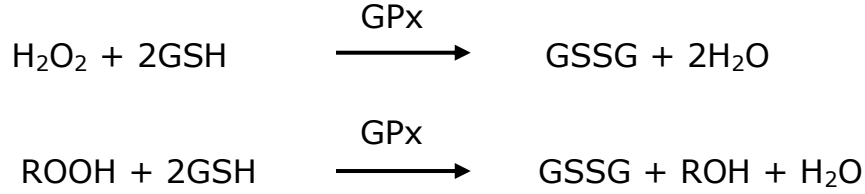
Katalaz bir yandan hidrojen peroksitin vücutta birikimini engellerken aynı zamanda hidroksil radikalinin de ikinci dereceden sentezini durdurması yönüyle önemli bir işlevi yürütür. Ayrıca immün yanıtı oluşturan granülomatöz hücrelerde, hücreleri kendi solunum patlamalarına karşı korur. Bir molekül katalaz her saniyede, beş milyon hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene çevirebilme yeteneğine sahiptir. Ayrıca katalaz hidrojen peroksiti kullanarak asetaldehit, formaldehit, formik asit ve alkol gibi çeşitli metabolit ve toksinlerin de oksidasyonunu sağlayarak hücreyi bu maddelerin verebilecekleri zararlardan korumaktadır (Boon, Downs, & Marcey, 2007; Gutteridge, 1995).

Yapılan çalışmalar katalaz eksikliğinin tip-2 diyabet oluşma riskinde bir artış meydana getirdiğini kanıtlar niteliktedir (Goth, 2008). Bunun dışında araştırmalardan elde edilen veriler, katalazın kanser, iskemi reperfüzyon hasarı, ateroskleroz gibi birçok hastalığın yanında çoğu nörodejeneratif rahatsızlıkta meydana gelen oksidatif stresin önlenmesi açısından önemli rol üstlendiği gösterilmiştir (Goh vd., 2011).

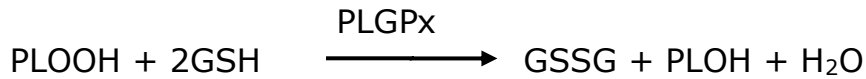
2.3.6.1.1.3. GPx

Glutasyon peroksidaz (GPx) yapısında 4 selenyum atomu içeren tetramerik bir enzimdir. Şimdiye kadar hücrede yerleştiği bölgeye ve substrat çeşidine göre ayrılan 8 adet izozimi tanımlanmış olup en yaygını memeli sitoplazmasında bulunan formu glutasyon peroksidaz 1 (GPx1)'dir. GPx 4, lipid hidroperoksidaz olarak tanımlanırken, GPx 2 intestinal ekstraselüler bir enzimdir. GPx 3 ise plazmada bol olarak bulunan formudur (Muller, Lustgarten, Jang, Richardson, & Van Remmen, 2007).

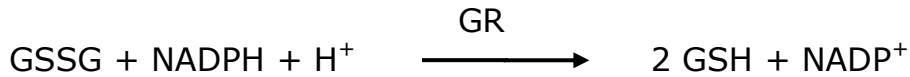
Reaksiyon selenosistein rezidüsündeki selenyumun hidrojen peroksit tarafından oksidasyona uğramasıyla başlar ve sonuçta hidrojen peroksit, monomerik glutatyon (GSH) yardımıyla indirgenerek su ve glutatyon disülfid (GSSG) oluşur (Bhabak & Mugesh, 2010).



Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGPx ya da GPx 4) ise monomerik yapıda ve yapısında aynı şekilde selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Verdiği reaksiyon hücre zarı fosfolipidlerinin alkollere indirgenmesini kapsar. Antioksidanların (E vitamini gibi) yetersiz kaldığı durumlarda sentezi artarak lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu bir görev üstlenmektedir.



Tüm bu reaksiyonlarda hidroperoksitlerin indirgenmesi sırasında meydana gelen glutatyon disülfid (GSSG), glutatyon redüktaz (GR) enzimiyle tekrar monomerik glutatyon (GSH) dönüştürülerek reaksiyona geri kazandırılmaktadır (Spallholz, 1990).



GPx-1 enzimi olmayan hayvanlarla yapılan çalışmalarda hayvanların fenotipik olarak normal oldukları ve normal yaşam faaliyetlerini sürdürdükleri gözlenmiştir. Fakat erken yaşta bazı farelerde katarakt geliştiği ve kas hücre çoğalmasında hasarlar meydana geldiği görülmüştür. Fakat GPx-4 geni susturulmuş farelerin erken embriyonik safhada öldüğü bildirilmiştir (Esworthy vd., 2001; Ran vd., 2007).

2.3.6.1.1.4. GST

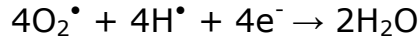
Glutatyon-s-transferazlar (GST), detoksifikasyon amacıyla ksenobiyotiklerin glutatyonun indirgenmiş formuyla verdiği reaksiyonu katalizleyen ökaryotik ve prokaryotik enzim grubudur. Sitozolik, mitokondriyal ve mikrozomal olmak üzere aminoasit sekanslarına göre 3 adet süper aileye ayrılmaktadır (Sheehan, Meade, Foley, & Dowd, 2001).

Tüm canlı türlerinde bulunmaları hayati önem taşıdıklarını göstermekle birlikte hücre içi bağlayıcı rolleriyle hidrofilik veya hidrofobik olan birçok bileşiğin (pigmentler, steroid hormonlar, aromatik hidrokarbonlar gibi) depo edilmesi ve taşınmasında rol almaktadırlar. Ana

işlevleri protein ve nükleik asitlerin karsinojenler, pestisitler, çeşitli ilaçlar ve aflatoksin gibi toksinlerden korunmasıdır. Bunlardan başka bir hücre içi haberci gibi rol üstlenip MAP-kinaz yolunun inhibe edilmesinden sorumlu olarak hücre çoğalmasının ve ölümünün düzenlenmesini sağladığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Ayrıca öncelikle araşidonik asit ve linoloat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerini hedef alan peroksidaz işlevi ile antioksidan sistemde de rolü olduğu gösterilmiştir (Eaton & Bammler, 1999; Josephy, 2010; Laborde, 2010).

2.3.6.1.1.5. Mitokondrial sitokrom oksidaz

Oksijenli solunum sonucu mitokondrilerde meydana gelen süperoksit radikallerinin suya dönüştürülmesini sağlayan mitokondrial sitokrom oksidaz, ökaryotlarda mitokondrilerde bulunurken bakterilerde mezozomda lokalize olmuş bir transmembran proteindir. Sitokrom c' den aldığı 4 elektronu oksijen molekülüne transfer ederek su molekülü oluşturulmasını sağlayan reaksiyonu katalize eder. Bu reaksiyon normal olarak cereyan ederken ortaya çıkan süperoksit miktarları, enzimin kapasitesini aşarsa diğer antioksidan enzimlerin yardımıyla süperoksit radikalinin etkileri en aza indirilmeye çalışılır. Aynı zamanda 4 protonu zar dışına yolladığı için zarlar arası alandaki proton gradientini arttırarak ATP sentaza da yardımcı olmaktadır (Kolks, Lippard, Waszczak, & Lilienthal, 1982; Yoshikawa, Shimada, & Shinzawa-Itoh, 2015).



2.3.6.1.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Hücrelerde oksidatif hasarların oluşmasını engelleyen enzimler dışında enzimatik aktiviteyi de tamamlayıcı olabilecek birçok antioksidan bulunmaktadır. Bu maddeler ayrıca enzimlerin modülasyonunu sağlayarak da etkilerini gösterebilirler (Brewer, 2011).

Askorbik asit (C vitamini), plazmada ve hücre zarında bulunabilen suda çözünebilir önemli bir antioksidandır. Peroksitlerin ve süperoksitlerin zararlı etkilerini önlerken aynı zamanda kollajen sentezi ve demir alımı için gereklidir. Ayrıca askorbik asidin aterosklerozun önlenmesinde rolü olduğu bilinmektedir (Brewer, 2011).

Vitamin A' nın öncü maddesi olan β- karoten, yağda çözünen, serbest radikalleri direk zararlı etkilerini göstermeden önce etkisiz hale getirebilen ve zincir kırıcı etkisi olan bir antioksidandır. Aynı β- karoten gibi yağda çözünebilir bir antioksidan olan E vitamini (α-Tokoferol) de hücre zarı lipidlerini radikal saldırılarına karşı korumaktadır (Brewer, 2011).

Bunlar dışında bazı polifenoller, Haber-Weiss reaksiyonlarını engelleyen transferin ve laktoferrin gibi demir bağlayıcı moleküller, albumin, seruplazmin, ürik asit, bilirubin ve peroksidazlar için substrat

görevi yapan glutasyon da önemli enzimatik olmayan endojen antioksidanlardandır (Brewer, 2011; Frei, Stocker, England, & Ames, 1990).

2.4. Salvia officinalis (Adaçayı)

Salvia cins ismi eski zamanlara dayanan iyileştirici özelliklerinden dolayı Latince "*salvare*" yani "kurtarmak, iyileştirmek" anlamındaki sözcükten köken almaktadır. Tarihi çok eski zamanlara dayanan tıbbi bir bitkidir. Öyle ki ilk çağda bitkinin kötü ruhları uzak tuttuğuna inanıldığı ve eski Mısır'da kadınların doğurganlıklarını arttırmak amacıyla tüketildiği bilinmektedir. Romalılar döneminde *Salvia* adıyla kullanılmış nane benzeri olan bu aromatik bitki, idrar söktürücü, menstriasyon düzenleyici, lokal anestezi, aseptik ve pelin otuyla birlikte tüketildiğinde dizanteriye karşı tedavi edici olarak kullanılmıştır. Eski çağlarda bitkinin bahçelere ekiminin çok yaygın olduğunu ve tüketenlerin birçok hastalıkla baş edebileceğini söyleyen birçok eser bulunmuştur. Hatta bir Anglosakson yazıtında bahçesinde adaçayı olan bir insanın ölmeyeceğine dair bir inanış olduğunu vurgular cümleler bulunmuştur. Hala günümüzde önemli kullanım alanları olan adaçayı Amerika ve Avrupa'nın çoğu yerinde alternatif tedavi yöntemleri arasında görülmektedir. Avrupa'da 1600' lü yıllarda lavanta, kekik, biberiye ve adaçayı birlikte hazırlanarak vebanın önlenmesinde kullanılmıştır. Yine aynı yıllarda Fransa'da mezarlıkların çevresine serpiştirilen adaçayları bitkinin yatıştırıcı olarak kullanıldığını ve dolayısıyla sinir sistemini koruyucu etkisinin varlığına inanıldığını göstermektedir. Bunlardan başka duyuları ve hafızayı geliştirdiği, kasları güçlendirdiği ve inmeye karşı vücudu koruduğu bildirilmiştir (Ceres & Esplan, 1984; Gerard, 1973; Schauenberg & Paris, 1974).

Salvia cinsi Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasına bağlı yaklaşık 900 türü içerisinde barındıran dünyanın her yerinde görülebilen bir taksondur. Türkiye'de de bu cins 45 tanesi endemik olan 94 taksonda 89 türle temsil edilmektedir. *Salvia* cinsinin Türkiye'de endemiklik oranı yaklaşık olarak % 50'dir. Adaçayı çeşitleri Akdeniz Havzasında ve Anadolu'da çok eskiden beri baharat olarak kullanılmaktadır. Kurak alanlar ve taşlı bölgelerde, kireçtaşı alanlarında ve çok az toprağa sahip kayalıklarda yetişebildiği görülmüştür. Bitki, güneşi iyi alan ve iyi drene olan kumlu topraklara ihtiyaç duyar. Adaçayı, genelde sıcak seven bir yapı göstermektedir (Büyükkaya, 2002).

Antibiyotiklerin keşfinden önce adaçayı, tüberküloz hastalarında terlemenin sağlanması için uygulanan bitki çayı karışımlarının önemli bir bileşenydi. Akut ve kronik bronşitin giderilmesinde sıklıkla faydalanılmakla birlikte inflamasyona karşı ve yüksek tansiyon rahatsızlıklarında kullanımının olumlu sonuçlar verdiği bilinmektedir. Çoğu *Salvia* türünün dünyada şifalı çay veya gıda aroması olarak tüketilmesinin yanında adaçayından çoğunlukla kozmetik, parfüm ve farmasötik endüstrisinde

yararlanılmaktadır (Barnes, Anderson, & Phillipson, 2003; Chalchat, Michet, & Pasquier, 1998; Tepe, Sokmen, Akpulat, & Sokmen, 2006).

Salvia officinalis Güney Avrupa ve Asya'da doğal olarak yayılım gösteren tek yıllık çalı formunda 30-70 cm. boyunda bir bitkidir. Halka dizilişli menekşe renkli çiçekleri ve karşılıklı dizilişli beyaz yaprakları vardır. Bitkinin Türkiye, İtalya, Yunanistan, Yugoslavya, İspanya ve Fransa' da kültürleri yapılmıştır. *Salvia officinalis* standart adaçayı olarak bilinmektedir ve diğer türlerle karşılaştırıldığında en iyi ve en karakteristik adaçayı aromasına sahiptir. *Salvia officinalis purpurascens* (kırmızı adaçayı) yaygınca boğaz ağrısı için antiseptik gargara olarak kullanılmaktadır. Eski bilgilerin de ışığında yıllar boyunca adaçayının uçucu yağ bileşimini incelemek amacıyla dünya çapında geniş boyutlu araştırmalar gerçekleştirilmiştir (Simon, Chadwick, & Craker, 1984; Small & Canada, 1997).

Yapılan çalışmalardan birinde Hırvatistan'dan toplanan *S. officinalis* ve *S. sclarea* gibi adaçayı türleri arasında bitki büyümesi ve gelişiminin çevresel şartlar altında nasıl değiştiği araştırılmıştır. Çevresel şartların bitki büyüme ve gelişmesini etkilediği ve aynı zamanda esansiyel yağ üretiminin düşük sıcaklıkta ve düşük ışıktaki anlamlı derecede düştüğü gözlenmiştir (Bernath, Danos, & Hethelyi, 1991).

S. officinalis var. angustifoli' nin toprak üstü kısımlarının buharla distile edilmiş esansiyel yağ oranı gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilmiş ve 42 bileşen saptanmıştır. Esansiyel yağdaki bileşenlerin % 39' u α -tujon olmak üzere diğer bileşenler; yüksek miktarda β -pinen, 1,8-sineol (ökaliptol), β -karyofilen ve α -humulen olarak bulunmuştur (Pace & Piccaglia, 1995). Bulgaristan' dan toplanan çeşitli *Salvia* türlerinin yaprak esansiyel yağ içeriklerinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada, *S. officinalis'* in diğer türlerde bulunmayan oranda β -tujon (% 17,4 ila 29,4) içerdiği saptanmış ayrıca bunun dışında % 12,5 oranında 1,8-sineol ve % 11,7 oranında kamfor bileşiminden oluştuğu analiz edilmiştir (Tsankova, Konaktchiev, & Genova, 1994). Esansiyel yağ kompozisyonlarıyla yapılan araştırmalardan elde edilen veriler *Salvia* türlerinin karakterize edilmesinde en önemli parametrenin α -tujon, β -tujon ve kamfor içerikleri olduğu sonucunu vermiştir (Langer, Mechtler, & Jurenitsch, 1996).

Bütile hidroksianizol ve bütile hidroksitoluen gibi sentetik antioksidanlarla yapılan çalışmalar bu maddelerin kanser riski taşıdığı görüşünde birleşince sentetik antioksidanlara karşı bir kaygı oluşmuştur. Uzun süren çalışmalar bu sentetiklerle desteklenmiş gıdaların hayvanlarda tümör oluşumunu tetiklediğini göstermiş ve antioksidanların doğal kaynaklardan elde edilmesinin daha uygun olacağı görüşü önem kazanmıştır. Bu doğal antioksidanlar içerisinde en bilinenleri *Rosmarinus officinalis* (biberiye) ve *Salvia officinalis'* dir. Daha sonra birçok doğal

antioksidan tanımlanmış olup gıda ve farmasötik endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Madsen & Bertelsen, 1995).

Salvia officinalis' in antioksidan bileşiminin belirlenmesi amacıyla yapılan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve kütle spektrometrisi çalışmalarında karnosol, rosmadial, rosmanol, epirosmanol, metil karnosat, rosmarinik ve karnosik asidin bu bitkide bulunan en önemli antioksidan bileşenler olduğu saptanmıştır. Bileşenlerin etkisinin karşılaştırıldığı daha ileri çalışmalarda ise karnosik asidin en etkili antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Cuvelier, Berset, & Richard, 1994b). *Salvia officinalis'* in antioksidan bileşimiyle ilgili yapılan birçok çalışma bitkilerin HPLC profillerinin önemli derecede varyasyon gösterdiği ve bitkilerin bileşen kompozisyonlarıyla antioksidan aktiviteleri arasında bir korelasyon görülmediği sonucunu vermiştir (Cuvelier, Berset, & Richard, 1994a).

Antioksidan aktiviteleri bilinen fenolik bileşiklerin özellikle üç sınıfı *Salvia officinalis'* te aydınlatılmıştır. İlk çalışmalar fenolik diterpenler üzerine yoğunlaşmıştır. Daha sonra yapılan araştırmalar özellikle antioksidan aktiviteleriyle bilinen birçok flavonoid ve fenolik asidin bitkide bulunmasının önemini vurgular niteliktedir. Bu fenolik bileşiklerden başlıcaları; kafeik asit, rosmarinik asit, salvianolik asit, kumarin, sagerinik asit, 6-hidroksiluteolin 7- glukozit ve sagekumarindir (Lu & Foo, 2001).

Salvia officinalis üzerine yapılan araştırmalar her geçen gün biyolojik etkileri hakkında daha fazla bilgi elde edebilmemizi sağlamaktadır. Örneğin hayvanlarda streptozotosin ile oluşturulan bir diyabet modelinde sıçanlara *Salvia officinalis* alkol ekstresi uygulanmış ve serum glükoz, trigliserit, kolesterol, üre ve ürik asit seviyelerinin anlamlı derecede düştüğü gözlenmiştir (Eidi & Eidi, 2009). Bundan başka *Salvia officinalis* esansiyel yağlarının antibakteriyel ve antifungal etkilerinin incelendiği bir çalışmada özellikle *E. coli*, *Shigella sonnei* ve *Salmonella typhi* gibi patojen bakterilerin bu esansiyel yağlara oldukça duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır (Bozin, Mlmica-Dukic, Samojlik, & Jovin, 2007). Antioksidan, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktivitelerinin yanında *Salvia officinalis'* in, kanser hücrelerinde hücre içi NO düzenleyicisi olarak işlev yaptığı ve apoptozu uyardığı görülmüştür (Kontogianni vd., 2013). *Salvia officinalis* kullanımının psikolojik etkilerinin incelendiği bir araştırmada insanlarda her gün düşük dozda adaçayı kullanımının kaygı bozukluğunu engellediği, yüksek dozlarda tüketiminin ise yüksek oranda sakinlik, uyanıklık ve hoşnutluk sağladığı gösterilmiştir (Kennedy vd., 2006).

Salvia officinalis' te bulunan bir diterpen olan karnosolle yapılan araştırmalar bu bileşiğin önemli derecede serbest radikal toplama özelliğinin olduğu göstermiştir. Ayrıca LPS ile uyarılmış NO üretiminde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olduğu ve bunun da NF-κB ve p38 MAPK inhibisyonuyla sonuçlandığı gösterilmiştir. Bununla birlikte karnosolün lökositlerdeki proinflamatuvar lökotrienleri azalttığı, 5-

lipooksigenaz enzimini inhibe ettiği ve protein kinaz C sinyal yolunu bloke ederek siklooksigenaz-2 enziminin çalışmasını durdurduğu gözlenmiştir. Bunlardan başka karnosoln son yıllarda sadece inflamasyonda değil tümör gelişiminde ve metastazda da etkili olduğu açığa kavuşturulan protaglandin E₂ sentaz-1' in inhibisyonunda rol oynadığı ve dolayısıyla kanser oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Bauer vd., 2012; Johnson, 2011).

Verilen bilgiler doğrultusunda alışmamızda LPS ile oluşturulan deneysel inflamasyon modelinde *Salvia officinalis* ekstresinin inflamasyon ve serbest radikal oluşumu üzerine olan etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereç

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nda 18.02.2015 tarih, 79 numaralı toplantı ve 402-2 kayıt numaralı onay alınarak yapılmış olup tüm aşamalarında hayvan hakları evrensel bildirgesi kurallarına uyulmuştur.

3.1.1. Deney hayvanları

Çalışmamızda, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Cerrahi Araştırma Merkez (TICAM)'inde yetiştirilen 4-5 aylık 250-300 g ağırlığında *Rattus norvegicus* türü Wistar albino ırkı dişi sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, deney başlangıcından kesim süresine kadar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışıklandırması olan, ortalama 22 ± 2 °C sıcaklık ve % 45-50 nem koşullarına sahip Anabilim Dalımız hayvan laboratuvarında bakılmıştır. Deney sürecinde tüm deney hayvanları kafeslerde, standart sıçan pellet yemi ile (Oğuzlar Yem Sanayi) ad libidum beslenmiş ve hayvanlara her gün taze çeşme suyu verilmiştir.

3.1.2. Kimyasal maddeler

Deney süresince kullanılan kimyasal maddeler aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

- LPS (Lipopolisakkarit) E.coli serotype 055-B5 (Sigma)
- Salvia officinalis ekstraktı (Bellasoft)
- EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit)
- Dithiothreitol (Sigma)
- Tris-HCl
- Phosphate buffered saline (PBS)
- %30 H₂O₂ (Sigma)
- ¹⁸F -floro- deoksi- D-glukoz
- Ketamin (%10)
- Tetraetoksipropene (Sigma)

- Eter
- Fosforik asit (H_2PO_4) (Merck)
- Hidrojen peroksit (H_2O_2) (%30' luk)(Sigma)
- KCl (Merck)
- KH_2PO_4 (Merck)
- Na_2HPO_4 (Merck)
- n-Bütanol (Sigma)
- Serum fizyolojik
- TBA (tiyobarbitürik asit) (Merck)
- Superoksit Dismutaz Ölçüm Kiti (Sigma)
- Katalaz Ölçüm Kiti (Cayman)
- Glutasyon Peroksidaz Ölçüm Kiti (Cayman)

3.1.3. Aygıtlar

Deney süresince kullanılan aygıtlar aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

- Buz makinesi
- Buzdolabı (+4)
- Derin dondurucu (-20)
- Derin dondurucu (-80)
- Elisa reader (BioLab)
- Enjektör (5 ml, 10 ml)
- Etüv (Nüve NT 715)
- Hassas terazi (Precisa-125A)
- Hayvan kafesi

- Homojenizatör (IKA-Ultra -Turrax T25)
- Laboratuvar saati
- Manyetik karıştırıcı (Nüve)
- Operasyon takımı
- Otomatik pipetler
- Parafilm
- pH metre
- Santrifüj tüpleri
- Soğutmalı santrifüj (Heraeus Megafuge 1.0. R)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-1601)
- Spektrofotometre tüpleri (1 ml, 2 ml)
- Su banyosu (Nüve)
- Vorteks mikser (Restch)
- Mikropipet ucu (1-200 mikrolitre, 100-1000 mikrolitre AXIGEN)
- EDTA' lı tüp (5 ml)
- Jelli Tüp (5 ml)
- Pastör pipeti (ISOLAB)
- İnsülin iğnesi
- Gavaj iğnesi
- Biograph 6 Hires PET/BT (Siemens, Knoxville, Tennessee, USA)

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney grupları ve doz miktarları

Çalışmada 4-5 aylık, 42 adet Wistar albino ırkı dişi sıçan kullanıldı. Her deney grubunda 7 hayvan olacak şekilde, 6 adet deney grubu,

rastgele seçilen sıçanlar tarafından oluşturuldu. Deney grupları ve uygulanan maddeler Tablo 3.1.' de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Deney gruplarına uygulanan maddeler ve miktarları

Grup No	GRUPLAR	n	Uygulanan maddeler
1	Kontrol Grubu	7	SF (i.p.)
2	İnflamasyon Grubu	7	LPS (E.coli serotype 055-B5) 1 mg/kg, SF içinde çözülerek (i.p.)
3	<i>Salvia officinalis</i> 10 Grubu	7	SF (i.p.) + 10 mg/kg <i>S. officinalis</i> (i.g.)
4	<i>Salvia officinalis</i> 30 Grubu	7	SF (i.p.) + 30 mg/kg <i>S. officinalis</i> (i.g.)
5	İnflamasyon + <i>S. officinalis</i> 10 (i.g.) Grubu	7	LPS (E.coli serotype 055-B5) 1 mg/kg, SF içinde çözülerek (i.p.) + 10 mg/kg <i>S. officinalis</i> (i.g.)
6	İnflamasyon + <i>S. officinalis</i> 30 (i.g.) Grubu	7	LPS (E.coli serotype 055-B5) 1 mg/kg, SF içinde çözülerek (i.p.) + 30 mg/kg <i>S. officinalis</i> (i.g.)

3.2.2. Deney planı ve uygulamalar

Deneylerde LPS' nin (E.coli serotype 055-B5, Sigma), toz halindeki ticari formu kullanıldı. Hayvanlara uygulanmak üzere serum fizyolojik içerisinde çözüldü. Ticari olarak satılan *S. officinalis* (Bellasoft) toprak üstü kısımlarının sıvı ekstresi, gavaj yoluyla sıçanlara verilmek üzere uygun dozlarda hazırlandı.

İnflamasyonun oluşturulması için; İnflamasyon (2. grup), İnflamasyon + *S. officinalis* 10 (5. grup) ve İnflamasyon + *S. officinalis* 30 (6. grup) gruplarındaki sıçanlara 1 mg/kg dozunda LPS serum fizyolojik içerisinde çözülerek verildi. İnflamasyonun indüklenmesinden 24 saat sonra *Salvia officinalis* 10 (3. grup) ve İnflamasyon + *S. officinalis* 10 (5. grup) gruplarına 10 mg/kg, *Salvia officinalis* 30 (4. grup) ve İnflamasyon + *S. officinalis* 30 (6. grup) grubuna ise 30 mg/kg dozunda 8 saatte bir toplamda 3 kez gavaj oluyla *S. officinalis* ekstresi verildi. Son ekstre uygulamasını takip eden 8. saatte hayvanlar FDG-PET taramasına alındı.

FDG-PET taramasında sıçanların karaciğer, akciğer dokularında ¹⁸F-FDG tulumunun belirlenebilmesi için sıçanlar, ketasol (1 ml/kg) uygulanarak anestezi altına alındı. Anestezi altındaki sıçanlara kardiyak olarak 0,8 ml/kg ¹⁸F-fluoro- deoxy-D-glucose (FDG) enjekte edildi. FDG

enjeksiyonundan yarım saat sonra organlardaki ¹⁸F-FDG tutulumu, FDG-PET (Biograph 6 Hires PET/BT Siemens, Knoxville, Tennessee, USA) cihazı kullanılarak görüntülendi.

Görüntülemenin ardından hayvanlar, eter anestezisi altında kalplerinden kan alınarak öldürüldü. Kan örnekleri eritrosit hemolizatlarının hazırlanması için EDTA' lı tüplere, organ doku örnekleri ise homojenatların hazırlanması için viallere alındı. Protokole uygun olarak hazırlanan eritrosit hemolizatları ile karaciğer, akciğer ve böbrek doku örneklerinden hazırlanan homojenatlarda grupların malondialdehit (MDA) düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak belirlendi.

3.2.2.1. Örneklerin hazırlanması

Eritrosit hemolizatlarının hazırlanması

Eritrosit hemolizatı hazırlanması için Sun ve arkadaşlarının 1988'de yayınladığı yöntem kullanıldı (Yangı, 2012).

- 1) 2 ml lik EDTA' lı CBC tüpüne 2 ml kan alındı.
- 2) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 3) Plazması ayrıldı. Tüpte eritrosit peleti bırakıldı.
- 4) Eritrosit peleti kadar serum fizyolojik eklendi.
- 5) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 6) Supernatant atıldı.
- 7) Geride kalan pelet hacmi kadar serum fizyolojik eklendi.
- 8) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 9) Supernatant atıldı.
- 10) Geride kalan pelet hacmi kadar serum fizyolojik eklendi.
- 11) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 12) Supernatant atıldı.
- 13) Geride kalan pelet hacmi kadar distile su eklendi.
- 14) +4°C de 5000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi.

15) Supernatant alındı ve SOD, MDA, katalaz ölçümü yapılana kadar -80°C ' de muhafaza edildi.

SOD ve MDA homojenatlarının hazırlanması

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alınarak numaralandı.
- 2) Ölçüm işlemine kadar -80°C ' lik derin dondurucuda saklanan karaciğer, böbrek ve akciğer doku örneklerinden 0,5 g tartıldı.
- 3) Alınan örnekler SF ile yıkandı.
- 4) Buz dolu bir kap içinde tüplere geçirildi.
- 5) Tüp içindeki örnekler daha sonra %1 KCl çözeltisi kullanılarak buz içerisinde ultrasonik homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
- 6) Daha sonra soğutmalı santrifüjde $+4^{\circ}\text{C}$ ' de 4000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi.
- 7) Süpernatant kısmı ayrı bir vial e alınarak SOD ve MDA ölçümlerinde kullanılmak üzere -80°C ' de saklandı.

KAT homojenatının hazırlanması

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alınarak numaralandı.
- 2) Ölçüm işlemine kadar -80°C ' lik derin dondurucuda saklanan karaciğer, böbrek ve akciğer doku örneklerinden 0,5 g tartıldı.
- 3) Dokular parçalanmadan önce herhangi bir pıhtı veya kırmızı kan hücresi kalmaması için PBS (pH 7.4) ile yıkandı.
- 4) Buz dolu bir kap içinde tüplere geçirildi.
- 5) Tüp içerisindeki örnekler, içerisinde 50 mM potasyum fosfat (pH 7.0) ve 1 mM EDTA bulunan 5 ml.'lik tampon içerisinde ultrasonik homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
- 6) Daha sonra soğutmalı santrifüjde $+4^{\circ}\text{C}$ ' de 10000 g' de 15 dakika santrifüj edildi.
- 7) Süpernatant kısmı ayrı bir vial e alınarak KAT ölçümlerinde kullanılmak üzere -80°C ' de saklandı.

GPx homojenatının hazırlanması

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alınarak numaralandı.
- 2) Ölçüm işlemine kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' lik derin dondurucuda saklanan karaciğer, böbrek ve akciğer doku örneklerinden 0,1 g tartıldı.
- 3) Dokular parçalanmadan önce herhangi bir pıhtı veya kırmızı kan hücresi kalmaması için PBS (pH 7.4) ile yıkandı.
- 4) Buz dolu bir kap içinde tüplere geçirildi.
- 5) Tüp içerisindeki örnekler, içerisinde 50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA ve 1 mM DTT (pH 7.5) bulunan 1 ml.'lik tampon içerisinde ultrasonik homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
- 6) Daha sonra soğutmalı santrifüjde $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 10000 g' de 15 dakika santrifüj edildi.
- 7) Üstte toplanan süpernatant kısmı ayrı bir vialle alınarak GPx ölçümlerinde kullanılmak üzere $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de saklandı.

3.2.2.2. Enzim aktivitelerinin ölçümü

SOD aktivitesi ölçümü

SOD aktivitesi WST (water-soluble tetrazolium salt) reaksiyonuna dayanan "Sigma SOD Determination Kit (Cat. No:19160)" ile belirlendi.

Ölçüm yöntemi:

- 1) 20 μl örnek, blank 2 kuyucukları da dahil olmak üzere bütün örnek kuyucuklarına eklendi.
- 2) 20 μl ddH₂O blank 1 ve blank 3 kuyucuklarına eklendi.
- 3) 200 μl WST solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve karıştırıldı.
- 4) 20 μl Dilüsyon Tamponu tüm blank 2 ve blank 3' lere eklendi.
- 5) 20 μl Enzim Çalışma Solüsyonu tüm blank 1' lere eklendi ve karıştırıldı.
- 6) 37°C ' de 20 dk. inkübe edildi.
- 7) 450 nm'de ELISA okuyucu ile absorbans değerleri okundu.

8) SOD aktivitesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

SOD aktivitesi (% inhibisyon oranı) =

$$\{[(A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}}) - (A_{\text{örnek}} - A_{\text{blank 2}})] / (A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}})\} \times 100$$

Katalaz (KAT) aktivitesi ölçümü

Küçük molekül ağırlıklı alkoller, KAT'ın peroksidatif aktivitesi için elektron vericisi olarak görev yapar. KAT aktivitesi, uygun H₂O₂ konsantrasyonunda söz konusu enzimin metanol ile verdiği reaksiyona dayanan "CAYMAN Catalase Assay Kit (707002)" ile belirlendi.



Çözeltilerin hazırlanması:

- 1) Analiz Tamponu çözeltisi: Final Analiz Tampon çözeltisi 100 mM potasyum fosfat olacak şekilde 2 ml Analiz Tamponu 18 ml distile suyla dilüe edildi.
- 2) Örnek Tamponu çözeltisi: Final Örnek Tampon çözeltisi 25 mM potasyum fosfat, 1 mM EDTA ve % 0,1 BSA (Bovin Serum Albumin) olacak şekilde 5 ml Örnek Tamponu, 45 ml distile suyla dilüe edildi.
- 3) Katalaz Formaldehit Standart: Her vial 4,25 M formaldehit içermektedir.
- 4) Potasyum Periyodat: 0,5 M potasyum hidroksit içerisinde 1,5 ml potasyum periyodat içermektedir.

Standart hazırlanması:

- 1) Stok solüsyonu için 10 µl Katalaz Formaldehit Standart, 9,99 ml Örnek Tamponu ile sulandırıldı.
- 2) Standart stok solüsyonu kullanılarak final formaldehit konsantrasyonları sırasıyla 0, 5, 15, 30, 45, 60, 75 µM formaldehit olacak şekilde 7 ayrı konsantrasyonda solüsyon hazırlandı.

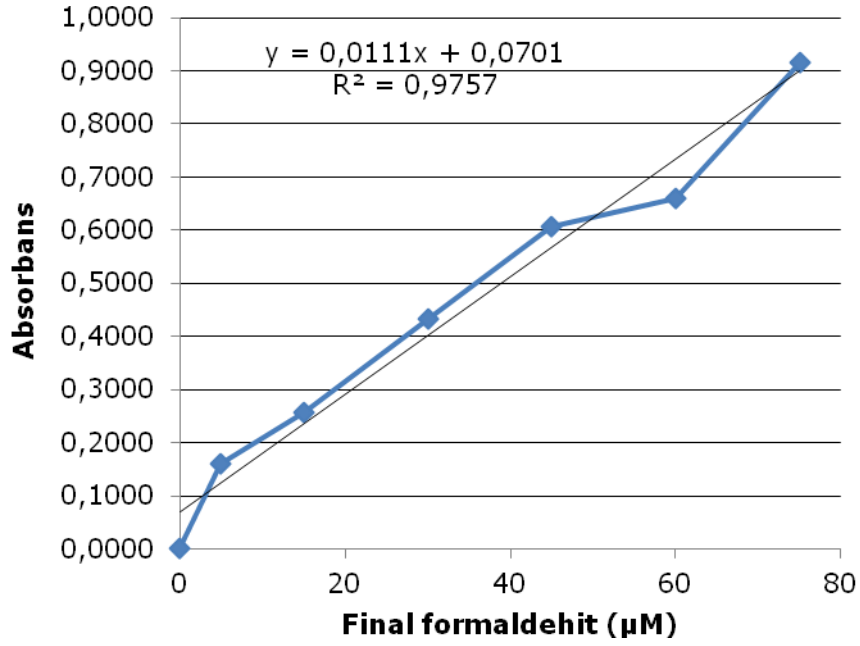
Ölçüm yöntemi:

- 1) Plate üzerinde standart olarak belirlenmiş kuyucuklara; 100 µl Analiz Tamponu, 30 µl metanol ve daha önceden hazırlanmış standart viallerinden 20 µl standart, eklendi.
- 2) Katalaz kontrol kuyucuklarına; 100 µl Analiz Tamponu, 30 µl metanol ve 20 µl katalaz koyuldu.
- 3) Örnek kuyucuklarına; 100 µl Analiz Tamponu, 30 µl metanol ve 20 µl örnek eklendi.
- 4) Reaksiyonu başlatmak için tüm kuyucuklara 20 µl Hidrojen Peroksit (8,82 M) koyuldu.
- 5) Plate 20 dk. oda sıcaklığında karıştırıcı üzerinde inkübe edildi.
- 6) Reaksiyonun sonlanması için her kuyucuğa 30 µl Potasyum Hidroksit (10 M) eklendi.
- 7) Her kuyucuğa reaksiyonda kromojen olarak işlev görmesi amacıyla 30 µl Katalaz Purpald eklendi.
- 8) Plate tekrar oda sıcaklığında 10 dk. boyunca karıştırıcı üzerinde inkübe edildi.
- 9) Her kuyucuğa 10 µl Katalaz Potasyum Periyodat eklendi ve plate 5dk. oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 10) Absorbans değerleri ELISA okuyucu ile 540 nm' de ölçüldü.

Sonucun hesaplanması:

Standart kuyucuklarından okunan absorbans değerlerine karşılık gelen formaldehit (µM) konsantrasyonları ile standart grafik çizildi (Şekil 3.1). Grafikten okunan değerlerle KAT aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{KAT aktivitesi (nmol / dk / ml)} = \frac{\mu\text{M örnek}}{20 \text{ dk.}} \times \text{Örnek Sulandırması}$$

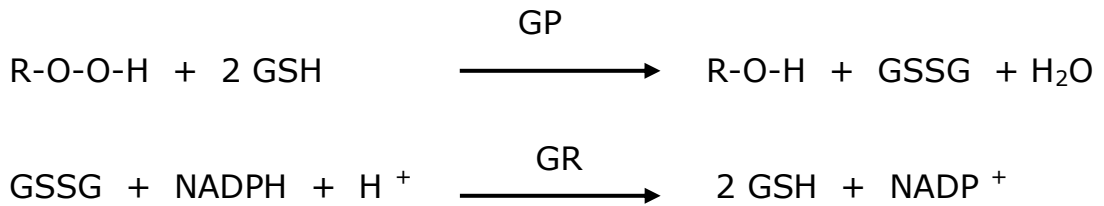


Şekil 3.1. Katalaz standart grafiği

Glutasyon peroksidaz (Gpx) aktivitesi ölçümü

Glutasyon peroksidaz, aktivitesini gösterirken, glutasyonu (GSH) elektron vericisi olarak kullanarak hidroperoksitleri indirger. Okside olmuş glutasyon (GSSG) ise glutasyon redüktaz (GR) enziminin katalizlediği reaksiyon sonucu tekrar glutatyona (GSH) dönüştürülerek geri kazanılır. Okside glutasyonun indirgenmesi sırasında NADPH da NADP⁺ya yükseltgenir.

GPx aktivitesinin tayini, NADPH'ın NADP⁺ya yükseltgenmesi ile GPx aktivitesi arasındaki ilişkiyi baz alan "CAYMAN Glutathione Peroxidase Assay Kit (703102)" kullanılarak yapılmıştır.



Çözeltilerin hazırlanması:

- 1) Analiz Tamponu çözeltisi: Final Analiz Tamponu çözeltisi 50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA olacak şekilde 3 ml Analiz Tamponu, 27 ml distile suyla dilüe edildi.

- 2) Örnek Tamponu çözeltisi: Final Örnek Tamponu çözeltisi 50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA ve 1 mg/ml BSA olacak şekilde 2 ml Örnek Tamponu, 18 ml distile suyla dilüe edildi.
- 3) Glutasyon Peroksidaz (GPx): 10 µl sığır eritrosit GPx enzimi, 490 µl distile suyla sulandırıldı.

Ölçüm Yöntemi:

- 1) Enzim içermeyen (Arka plan) kuyucuklara; 120 µl Analiz Tamponu ve 50 µl Substrat Karışımı eklendi.
- 2) Pozitif kontrol kuyucuklarına; 100 µl Analiz Tamponu, 50 µl Substrat Karışımı ve 20 µl sulandırılmış GPx eklendi.
- 3) Örnek kuyucuklarına; 100 µl Analiz Tamponu, 50 µl Substrat Karışımı (NADPH, glutasyon ve glutasyon redüktaz) ve 20 µl örnek eklendi.
- 4) Tüm kuyucuklara 20 µl Kümen Hidroperoksit eklenerek reaksiyon başlatıldı.
- 5) Plate birkaç saniye dikkatlice karıştırıldı.
- 6) Absorbans değerleri her dakika 5 kez ELISA okuyucu ile 340 nm' de ölçüldü.
- 7) Her ölçüm sonunda 5 dk' da meydana gelen absorbans değerleri değişimi kaydedildi.

Sonucun Hesaplanması:

Ölçümler sonucu okunan absorbans değerleri değişiminin tayini aşağıdaki formül kullanılarak yapıldı. Hesaplamalarda absorbans değişimi olarak 5. dakika ile 1. dakikada okunan değerler esas alındı.

$$\Delta A_{340} / dk. = \frac{| A_{340} (\text{Zaman 2}) - A_{340} (\text{Zaman 1}) |}{\text{Zaman 2} - \text{Zaman 1}}$$

Daha sonra her doku örneği ve her grup için bulunan $\Delta A_{340} / dk.$ değerlerinden enzim içermeyen (Arka plan) kuyucuklarda hesaplanan $\Delta A_{340} / dk.$ değerleri çıkarıldı. 340 nm' deki reaksiyon hızı, NADPH' ın tamamının reaksiyonda kullanılma sabiti olan $0,00373 \mu\text{M}^{-1}$ ile birlikte aşağıdaki formülle hesaplandı. Formül 25 °C' de 1 dakikada 1 nmol

NADPH' in oksidasyonu sonucu NADP⁺ oluşmasını sağlayan enzim miktarını vermektedir.

$$\text{GPx aktivitesi (nmol / dk / ml)} = \frac{\Delta A_{340} / \text{dk.}}{0,00373 \mu\text{M}^{-1}} \times \frac{0,19 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}}$$

Malondialdehit (MDA) düzeyi ölçümü

Yöntemin amacı; lipit peroksidasyonu son ürünlerinden bir tanesi olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır (Yangı, 2012).

a. Çözeltiler

- 1) % 1 Fosforik asit çözeltisi: 1 ml fosforik asit, distile su ile 100 ml ye tamamlandı.
- 2) % 0,6 TBA (Tiyobarbitürik Asit) çözeltisi: 6 g TBA 1000 ml suda çözündürüldü.

b. Spektrofotometrede okuma

- 1) Her ölçümde bir kör ve örnek tüpleri hazırlandı.
- 2) Kör tüpüne; 0,5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi, örnek tüpüne; 0,5 ml hemolizat, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi.
- 3) Kör ve örnek tüpleri bir beherde su içinde 45 dakika kaynatıldı.
- 4) Tüpler soğuduktan sonra içlerine 4 ml butanol ilave edildi.
- 5) 3500 rpm'de 10 dak santrifüj edildi.
- 6) Ölçüm için süpernatant alındı
- 7) Spektrofotometre 532 nm'de distile su ile sıfırlandıktan sonra kör ve örnek tüplerinin absorbansları okundu.

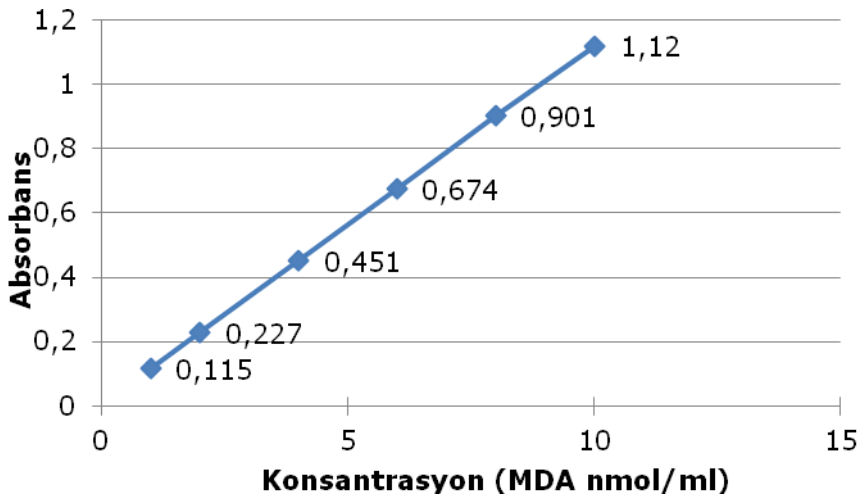
c. Sonucun hesaplanması

Konsantrasyonların belirlenebilmesi için; lipit peroksit standard (1.1.3.3. tetraetoksipropan) 1, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/ml de hazırlandı.

Standart eğrisinin hazırlanması:

- Kör tüpüne; 0,5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi konuldu.

- Standart tüplerine; 0,5 ml farklı konsantrasyonlarda standart, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi ve absorbanslar okundu. Okunan absorbanslarla, konsantrasyon değerleri milimetrik kağıt üzerinde karşılaştırılarak standart eğrisi çizildi (Şekil 3.2). Standart eğrisinde, spektrofotometreden alınan absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyon değerleri okundu.



Şekil 3.2. MDA standart eğrisi

3.2.2.3. ¹⁸F-FDG-PET analizi

Pozitron emisyon tomografi (PET) vücuda uygulanan bir radyofarmasötik aracılığıyla metabolik ve fonksiyonel olarak gerçekleşen değişimlerin görüntülenmesini sağlar. Daha çok kanser tanısı, nüksü, tedavi sonrası takip ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesi aşamalarında faydalanan PET, bunların yanında, önüne geçilememiş yüksek ateş olgularında odağın yerinin belirlenmesinde, inflamasyona bağlı vaskülit durumlarında, aterosklerozda damar plaklarının yerinin tespit edilmesinde, Alzheimer hastalığı tanısının doğrulanması ve diğer demanslardan ayırıcı tanısında, epilepsi hastalarında odağın yerinin belirlenmesinde ve paraneoplastik sendromların taranmasında da kullanılmaktadır (Brady vd., 2008; Krause vd., 2007)

PET çekimlerinde genellikle radyoaktif bir glukoz analogu olan 18-florodeoksiglikoz (¹⁸F-FDG) kullanılır. FDG de aynı glukoz gibi hücre zarındaki taşıyıcı proteinlerle (özellikle GLUT-1) hücre içine alınarak heksokinaz ile glukoz-6-fosfata dönüştürülür. Normal glukoz metabolizmasının aksine bu glukoz-6-fosfat glikolizin diğer basamaklarına

geçemez ve tümör hücrelerinde az miktarda bulunan glukoz-6-fosfat nedeniyle yıkıma da uğrayamaz. Yüksek metabolizma hızına sahip kanser hücrelerinde glukozun hızlı metabolize olması, ¹⁸F-FDG' nin bu hücrelerde daha fazla tutulmasına neden olur. Böylece tümör dokusunun yeri belirlendiği gibi enfeksiyon alanları ve inflamasyon meydana gelmiş bölgelerde de yüksek ¹⁸F-FDG tutulumu gözlenmektedir (Brady vd., 2008).

Sonucun değerlendirilmesi:

Florodeoksiglikozun damardan enjeksiyonundan sonra 60 dk. beklendi ve ardından PET çekimi yapıldı. PET değerlendirmelerinde dokudaki aktivite konsantrasyonu ($\mu\text{Ci/g}$), enjekte edilen doz (mCi) ve vücut ağırlıkları da gram cinsinden hesaplandı. PET sonuçları değerlendirilirken öncelikle çevre dokulara ve geri plana göre artmış olan bölgeler belirlenerek görsel (kalitatif) değerlendirme yapıldı. Daha sonraki aşamada ise semikantitatif değerlendirmeye geçildi. Semikantitatif değerlendirmede artan odaklara yoğunlaşıldı ve "Standart Tutulum Değeri" (SUD) ölçüldü. Böylelikle artan odaklardan alınan veriler ile sayısal değerler elde edildi.

$$\text{SUD maks} = \frac{\text{Seçilen alanın ortalama aktivitesi (mCi/ml)}}{\text{Enjekte edilen doz (mCi) / vücut ağırlığı (kg)}}$$

3.2.3. İstatistiksel analiz

Her bir değişkenin tanımlayıcı istatistikleri yapılarak "Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma" şeklinde verildi. Her bir değişken için önemlilik testlerine geçilmeden önce parametrik test varsayımlarından normallik yönünden Shapiro Wilk, varyansların homojenliği yönünden ise Levene testi ile kontrol edildi. Her bir organdan elde edilen her bir değişken için gruplar arası farklılığın önem kontrolü tek yönlü varyans (ANOVA) ile yapıldı. Farklılığın anlamlı bulunduğu değişkenler için ileri aşama testi (post-hoc) olarak Tukey testinden yararlanıldı. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelendi. İstatistiksel analizler için IBM SPSS 21.0 paket programından yararlanıldı.

4. BULGULAR

Lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan deneysel inflamasyonu modeli kullanılan bu çalışmada üç gruba intraperitoneal olarak 1 mg/kg LPS (*E. coli*, serotip 055-B5) uygulandı. LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra tedavi gruplarına 10 ve 30 mg/kg *S. officinalis* ekstraktları 8 saatte bir olmak üzere toplam 3 kez gavaj yolu ile verildi. FDG-PET taraması ile inflamasyon durumunu belirlenmek için PET taramasından 1 saat önce ketamin anestezisi altında ¹⁸F -floro- deoksi- D-glukoz (0,8 ml/kg) intrakardiyak olarak uygulandı. FDG-PET analizinden sonra kan ve doku örnekleri toplandı. Akciğer, böbrek ve karaciğer ¹⁸F-FDG tutulumu hesaplandı. Toplanan kan ve doku örneklerinden MDA düzeyleri, SOD, KAT ve GPx enzim aktiviteleri belirlendi.

4.1. Karaciğer Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

4.1.1. Karaciğer homojenatında malondialdehit (MDA) seviyeleri

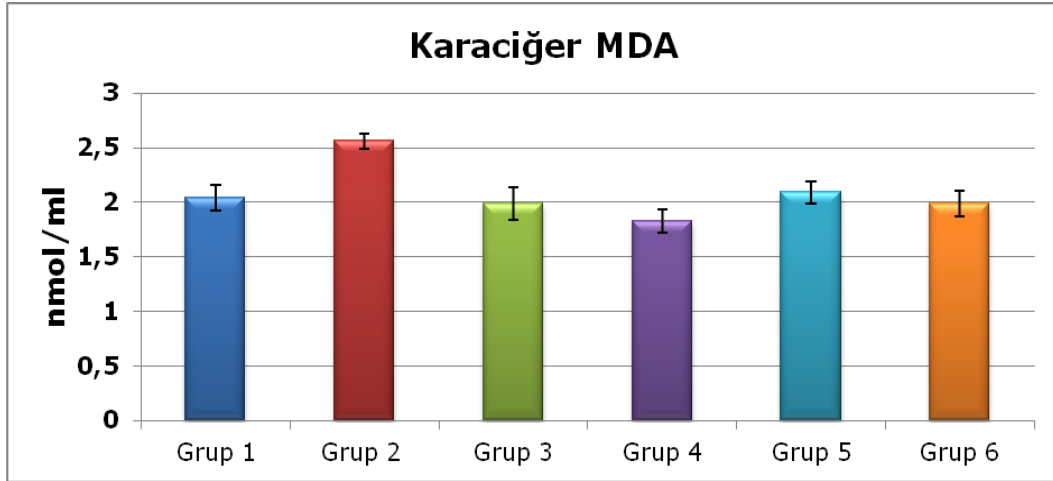
Karaciğer homojenatında MDA seviyeleri nmol/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $2,04 \pm 0,12$, 2. grupta $2,56 \pm 0,07$, 3. grupta $1,99 \pm 0,15$, 4. grupta $1,83 \pm 0,11$, 5. grupta $2,09 \pm 0,1$ ve 6. grupta $1,99 \pm 0,12$ olarak bulunmuştur.

Karaciğer homojenatında MDA seviyelerine bakıldığında, 2. grup, diğer tüm gruplardan ($p < 0,001$) anlamlı derecede yüksek bulundu. Ayrıca 4. grubun' ün MDA düzeyleri, 5. gruba ($p < 0,05$) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Karaciğer homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (nmol/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	2,04±0,12	24,197	0,000		***	ns	ns	ns	ns
2	İnflamasyon	7	2,56±0,07			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	1,99±0,15			ns	***		ns	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	1,83±0,11			ns	***	ns		*	ns
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	2,09±0,1			ns	***	ns	*		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	1,99±0,12			ns	***	ns	ns	ns	

ns p>0,05 * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.1. Deney gruplarının karaciğer homojenatında MDA değerleri

4.1.2. Karaciğer homojenatında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

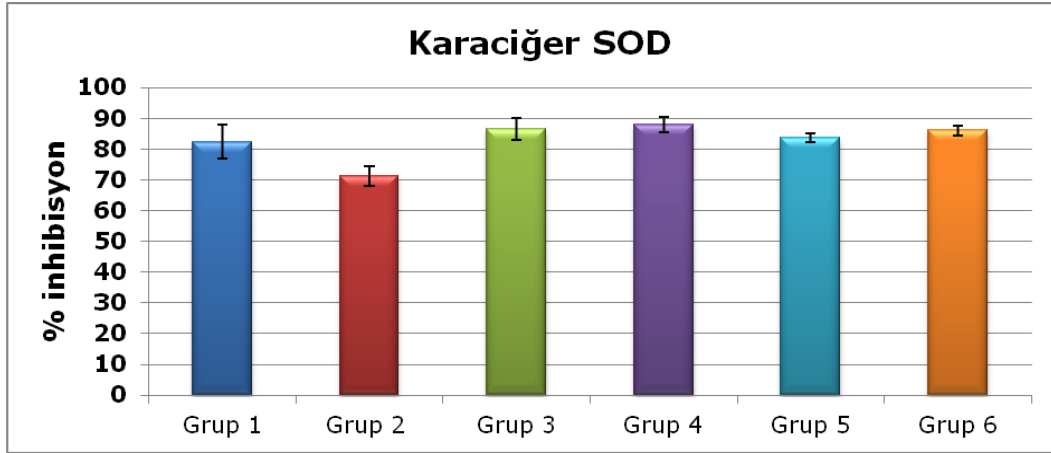
Karaciğer homojenatında SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda 82,34±5,54, 2. grupta 71,20±3,09, 3. grupta 86,70±3,57, 4. grupta 88,00±2,49, 5. grupta 83,62±1,40 ve 6. grupta 86,06±1,55 olarak bulunmuştur.

2. grup, diğer tüm gruplardan (p<0,001) SOD % inhibisyonu bakımından anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.2, Şekil 4.2).

Tablo 4.2. Karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	82,34±5,54	17,712	0,000		***	ns	ns	ns	ns
2	İnflamasyon	7	71,20±3,09			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	86,70±3,57			ns	***		ns	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	88,00±2,49			ns	***	ns		ns	ns
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	83,62±1,40			ns	***	ns	ns		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	86,06±1,55			ns	***	ns	ns	ns	

ns p>0,05 * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.2. Deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri

4.1.3. Karaciğer homojenatında katalaz (KAT) aktivitesi

Karaciğer homojenatında KAT aktivitesi nmol/dk/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda 13,21±0,71, 2. grupta 12,11±0,59, 3. grupta 13,85±0,46, 4. grupta 14,39±0,27, 5. grupta 13,19±1,01 ve 6. grupta 13,83±0,94 bulunmuştur.

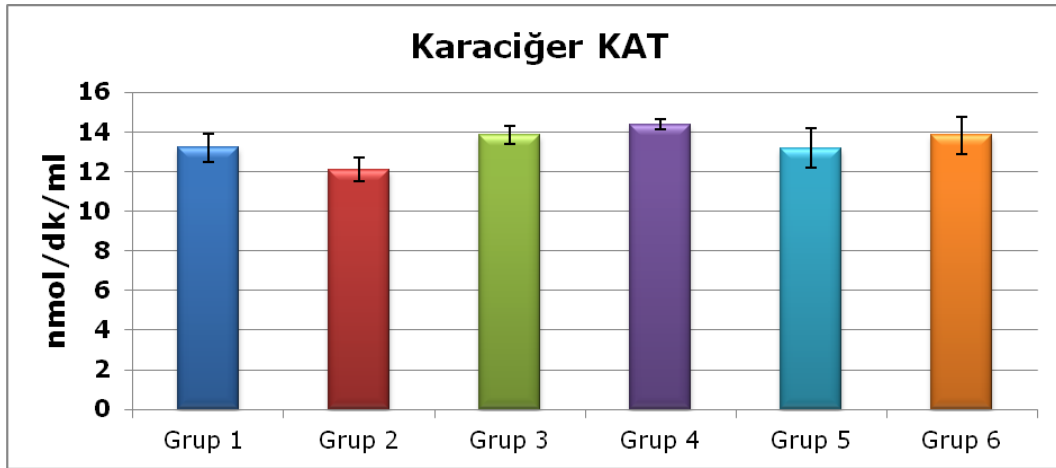
Karaciğer homojenatında KAT enzim aktivitelerine bakıldığında, kontrol grubuna ile diğer gruplar karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı (p>0.05). 2. gruba göre 3. (p<0,01), 4. (p<0,001) ve 6.

($p < 0,01$) grupların KAT enzim aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

Tablo 4.3. Karaciğer homojenatında KAT aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (nmol/dk/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	13,21±0,71	6,145	0,001		ns	ns	ns	ns	ns
2	İnflamasyon	7	12,11±0,59			ns		**	***	ns	**
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	13,85±0,46			ns	**		ns	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	14,39±0,27			ns	***	ns		ns	ns
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	13,19±1,01			ns	ns	ns	ns		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	13,83±0,94			ns	**	ns	ns	ns	

ns $p > 0,05$ * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.3. Deneş gruplarının karaciğer homojenatında KAT aktivite değeri

4.1.4. Karaciğer homojenatında glutasyon peroksidaz (GPx) Aktivitesi

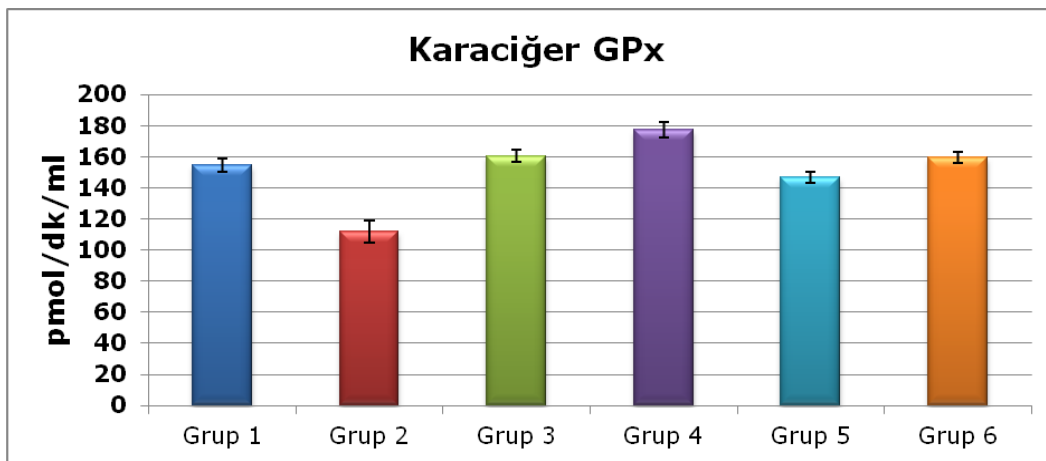
Karaciğer homojenatında GPx aktivitesi pmol/dk/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $154,57 \pm 4,33$, 2. grupta $111,77 \pm 7,04$, 3. grupta $160,65 \pm 4,21$, 4. grupta $177,65 \pm 5,03$, 5. grupta $146,58 \pm 3,49$ ve 6. grupta $159,75 \pm 3,65$ bulunmuştur.

2. grup, diğer tüm gruplara ($p < 0,001$) göre karaciğer homojenatı GPx aktivitesi bakımından anlamlı derecede düşük bulundu. 4. grup GPx aktivitesi ise diğer tüm gruplara ($p < 0,001$) göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Ayrıca 3. grubun enzim aktivitesi, 5. gruba ($p < 0,01$) göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı. Son olarak 6. gruba göre 5. grupta ($p < 0,01$) enzim aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4.4, Şekil 4.4).

Tablo 4.4. Karaciğer homojenatında GPx aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup no	Gruplar	n	GPx (pmol/dk/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	154,57±4,33	107,329	0,000		***	ns	***	ns	ns
2	İnflamasyon	7	111,77±7,04			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	160,65±4,21			ns	***		***	**	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	177,65±5,03			***	***	***		***	***
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	146,58±3,49			ns	***	**	***		**
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	159,75±3,65			ns	***	ns	***	**	

ns $p > 0,05$ * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.4. Deney gruplarının karaciğer homojenatında GPx aktivite değerleri

4.2. Böbrek Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

4.2.1. Böbrek homojenatında malondialdehit (MDA) seviyeleri

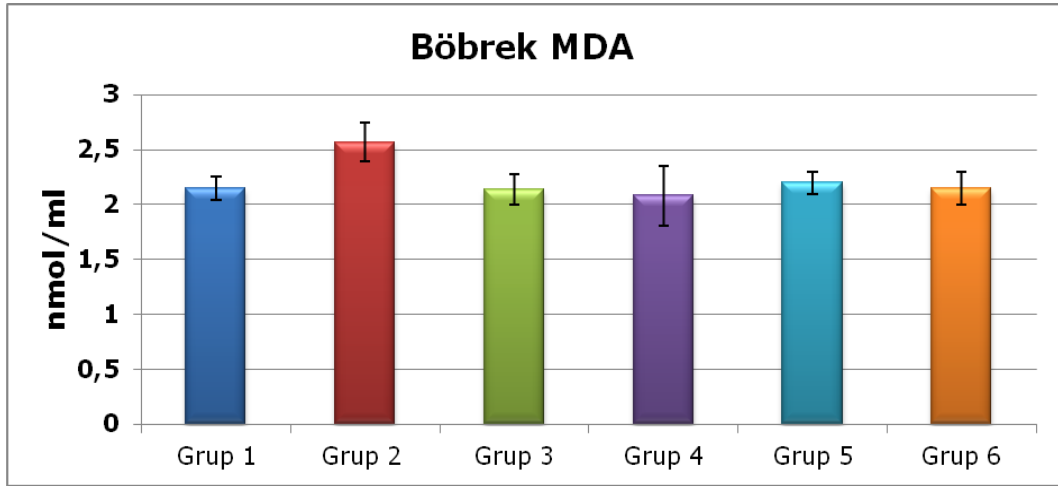
Böbrek homojenatında MDA seviyeleri nmol/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $2,15 \pm 0,11$, 2. grupta $2,57 \pm 0,18$, 3. grupta $2,14 \pm 0,14$, 4. grupta $2,08 \pm 0,27$, 5. grupta $2,2 \pm 0,1$ ve 6. grupta $2,15 \pm 0,15$ bulunmuştur.

Böbrek homojenatında MDA seviyelerine bakıldığında, 2. grupta MDA düzeyleri, kontrol grubu ($p < 0,01$), 3. grup ($p < 0,01$), 4. grup ($p < 0,01$), 5. grup ($p < 0,05$) ve 6. grubun ($p < 0,01$) MDA seviyelerinden anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4.5, Şekil 4.5).

Tablo 4.5. Böbrek homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (nmol/ml) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	$2,15 \pm 0,11$	5,605	0,001		**	ns	ns	ns	ns
2	İnflamasyon	7	$2,57 \pm 0,18$			**		**	**	*	**
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	$2,14 \pm 0,14$			ns	**		ns	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	$2,08 \pm 0,27$			ns	**	ns		ns	ns
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	$2,20 \pm 0,10$			ns	*	ns	ns		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	$2,15 \pm 0,15$			ns	**	ns	ns	ns	

ns $p > 0,05$ * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.5. Deney gruplarının böbrek homojenatında MDA değerleri

4.2.2. Böbrek homojenatında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

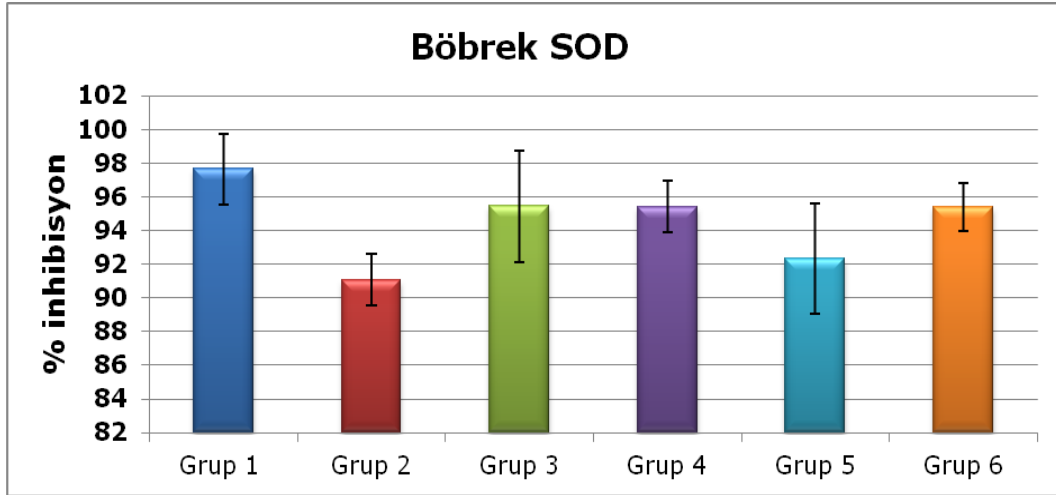
Böbrek homojenatında SOD aktivitesi, % inhibisyon olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $97,64 \pm 2,12$, 2. grupta $91,08 \pm 1,52$, 3. grupta $95,46 \pm 3,31$, 4. grupta $95,42 \pm 1,51$, 5. grupta $92,32 \pm 3,26$ ve 6. grupta $95,40 \pm 1,40$ olarak bulunmuştur.

Böbrek homojenatında SOD % inhibisyonu bakımından; kontrol grubuna göre, 2. grup ($p < 0,01$) ve 5. grupta ($p < 0,05$) anlamlı derecede bir düşüş bulundu (Tablo 4.6, Şekil 4.6).

Tablo 4.6. Böbrek homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	97,64±2,12	5,291	0,002		**	ns	ns	*	ns
2	İnflamasyon	7	91,08±1,52			**		ns	ns	ns	ns
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	95,46±3,31			ns	ns		ns	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	95,42±1,51			ns	ns	ns		ns	ns
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	92,32±3,26			*	ns	ns	ns		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	95,40±1,40			ns	ns	ns	ns	ns	

ns p>0,05 * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.6. Deney gruplarının böbrek homojenatında SOD % inhibisyon değerleri

4.2.3. Böbrek homojenatında katalaz (KAT) aktivitesi

Böbrek homojenatında KAT aktivitesi nmol/dk/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda 9,53±0,45, 2. grupta 7,44±0,28, 3. grupta 9,89±0,67, 4. grupta 11,44±1,33, 5. grupta 9,57±0,57 ve 6. grupta 9,64±0,84 bulunmuştur.

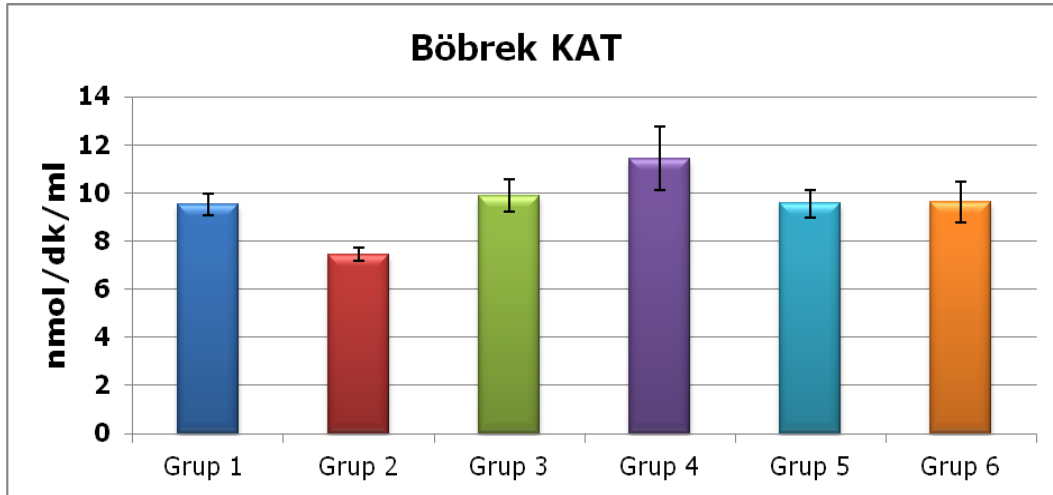
Böbrek homojenatında KAT enzim aktivitelerine bakıldığında, 2. grubun KAT aktivitesi, kontrol grubundan (p<0,01), 3. gruptan (p<0,001), 4. gruptan (p<0,001), 5. gruptan (p<0,01) ve 6. gruptan (p<0,01)

anlamli derecede dusuk bulundu. 4. grubun enzim aktivitesi ise, kontrol grubundan ($p < 0,01$), 3. gruptan ($p < 0,05$), 5. gruptan ($p < 0,01$) ve 6. gruptan ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yuksek bulundu (Tablo 4.7, Şekil 4.7).

Tablo 4.7. Böbrek homojenatında KAT aktiviteleri ve bunların istatistiksel değeriendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (nmol/dk/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	9,53±0,45	13,830	0,000		**	ns	**	ns	ns
2	İnflamasyon	7	7,44±0,28			**		***	***	**	**
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	9,89±0,67			ns	***		*	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	11,44±1,33			**	***	*		**	*
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	9,57±0,57			ns	**	ns	**		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	9,64±0,84			ns	**	ns	*	ns	

ns $p > 0,05$ * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.7. Deney gruplarının böbrek homojenatında KAT aktivite değeri

4.2.4. Böbrek homojenatında glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi

Böbrek homojenatında GPx aktivitesi pmol/dk/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $144,42 \pm 4,08$, 2. grupta $102,91 \pm 5,78$, 3. grupta

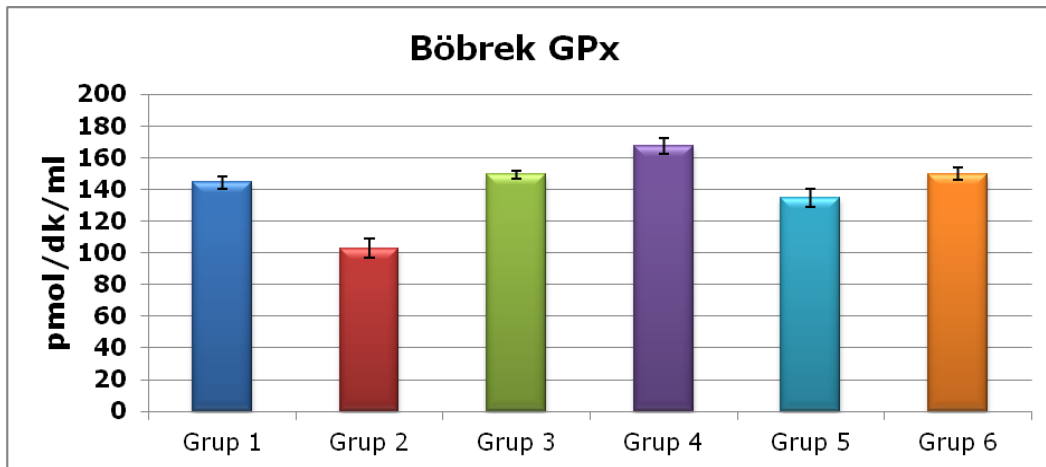
149,34±2,61, 4. grupta 167,41±4,97, 5. grupta 134,69±5,63 ve 6. grupta 149,69±3,89 bulunmuştur.

Böbrek homojenatı GPx aktivitesi bakımından, 2. grup, diğer tüm gruplara ($p<0,001$) göre anlamlı derecede düşük bulundu. 4. grup GPx aktivitesi ise diğer tüm gruplara ($p<0,001$) göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı. 5. grupta enzim aktivitesi, kontrol grubuna ($p<0,05$) ve 3. gruba ($p<0,01$) göre anlamlı düzeyde düşük bulundu. Ayrıca 6. grupta tespit edilen enzim faaliyeti, 5. gruptan ($p<0,001$) anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 4.8, Şekil 4.8).

Tablo 4.8. Böbrek homojenatında GPx aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	GPx (pmol/dk/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	144,42±4,08	109,597	0,000		***	ns	***	*	ns
2	İnflamasyon	7	102,91±5,78			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	149,34±2,61			ns	***		***	**	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	167,41±4,97			***	***	***		***	***
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	134,69±5,63			*	***	**	***		***
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	149,69±3,89			ns	***	ns	***	***	

ns $p>0,05$ * $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.8. Deney gruplarının böbrek homojenatında GPx aktivite değerleri

4.3. Akciğer Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

4.3.1. Akciğer homojenatında malondialdehit (MDA) seviyeleri

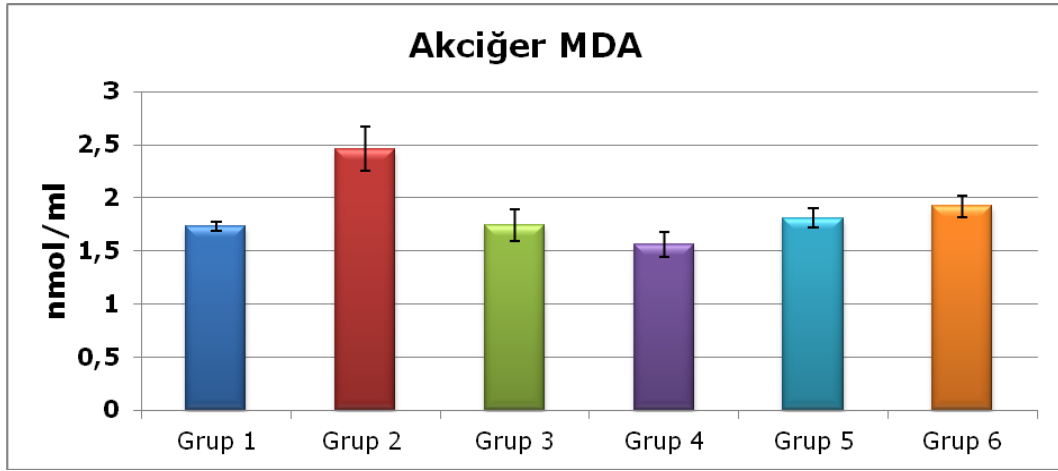
Akciğer homojenatında MDA seviyeleri nmol/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $1,73 \pm 0,04$, 2. grupta $2,46 \pm 0,21$, 3. grupta $1,74 \pm 0,15$, 4. grupta $1,56 \pm 0,12$, 5. grupta $1,81 \pm 0,09$ ve 6. grupta $1,92 \pm 0,1$ olarak bulunmuştur.

Akciğer homojenatında MDA seviyelerine bakıldığında, 2. grup diğer tüm gruplardan ($p < 0,001$) anlamlı derecede yüksek bulundu. Ayrıca 4. grup MDA düzeyi, 5. grup ($p < 0,05$) ve 6. gruptan ($p < 0,01$) anlamlı derecede düşük bulundu (Tablo 4.9, Şekil 4.9).

Tablo 4.9. Akciğer homojenatında MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (nmol/ml) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	$1,73 \pm 0,04$	29,294	0,000		***	ns	ns	ns	ns
2	İnflamasyon	7	$2,46 \pm 0,21$			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	$1,74 \pm 0,15$			ns	***		ns	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	$1,56 \pm 0,12$			ns	***	ns		*	**
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	$1,81 \pm 0,09$			ns	***	ns	*		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	$1,92 \pm 0,1$			ns	***	ns	**	ns	

ns $p > 0,05$ * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.9. Deney gruplarının akciğer homojenatında MDA değerleri

4.3.2. Akciğer homojenatında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

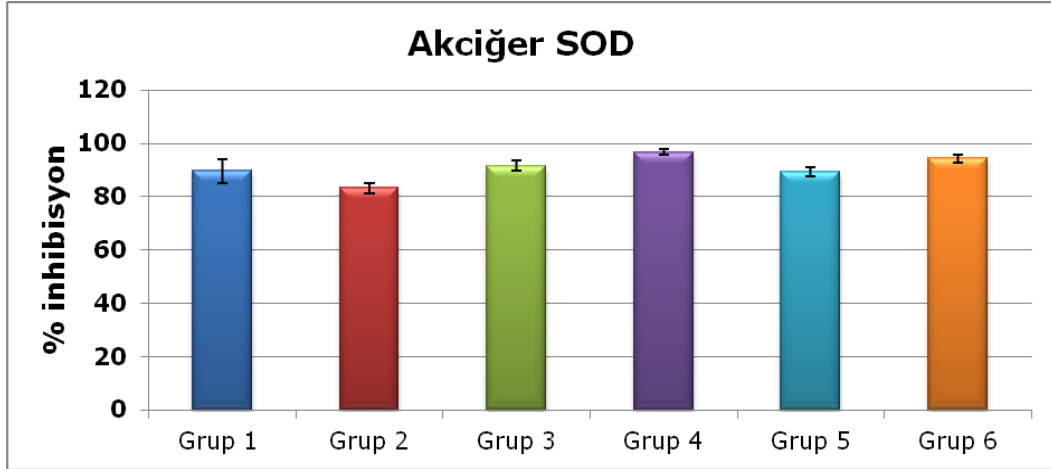
Akciğer homojenatında SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda $89,60 \pm 4,33$, 2. grupta $83,18 \pm 2,07$, 3. grupta $91,58 \pm 2,00$, 4. grupta $96,64 \pm 1,08$, 5. grupta $89,38 \pm 1,73$ ve 6. grupta $94,34 \pm 1,53$ olarak bulunmuştur.

Akciğer homojenatında SOD % inhibisyonu bakımından, 2. grup, kontrol grubundan ($p < 0,01$), 3. gruptan, 4. gruptan, 6. gruptan ($p < 0,001$) ve 5. gruptan ($p < 0,01$) anlamlı derecede düşük bulundu. 4. grup enzim aktivitesi ise kontrol ($p < 0,01$), 3. grup ($p < 0,05$) ve 5. gruptan ($p < 0,01$) anlamlı düzeyde yüksek olarak saptandı. 6. grup grubu ile 5. grup karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin 6. grupta ($p < 0,05$) anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (Tablo 4.10, Şekil 4.10).

Tablo 4.10. Akciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	89,60±4,33	19,375	0,000		**	ns	**	ns	*
2	İnflamasyon	7	83,18±2,07			**		***	***	**	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	91,58±2,00			ns	***		*	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	96,64±1,08			**	***	*		**	ns
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	89,38±1,73			ns	**	ns	**		*
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	94,34± 1,53			*	***	ns	ns	*	

ns p>0,05 * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.10. Deney gruplarının akciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri

4.3.3. Akciğer homojenatında katalaz (KAT) aktivitesi

Akciğer homojenatında KAT aktivitesi nmol/dk/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda 10,09±1,02, 2. grupta 8,43±0,24, 3. grupta 10,43±0,6, 4. grupta 12,52±0,75, 5. grupta grubunda 9,68±0,3 ve 6. grupta 11,32±0,5 bulunmuştur.

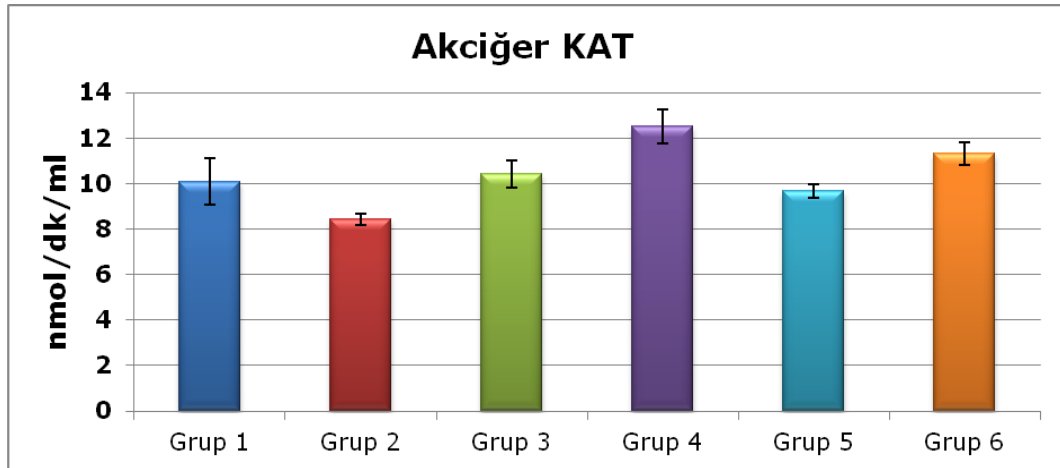
Akciğer homojenatında KAT enzim aktivitelerine bakıldığında, 2. grup enzim aktivitesinin, kontrol (p<0,01), 3. grup (p<0,001), 4. grup (p<0,001), 5. grup (p<0,05) ve 6. gruptan (p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu saptandı. Ayrıca 4. grubun enzim

aktivitesinin, kontrol ($p<0,001$), 3. grup ($p<0,001$) ve 5. gruba ($p<0,001$) göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu. Bunlardan başka 6. grupta enzim aktivitesinin 5. gruba ($p<0,01$) göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı (Tablo 4.11, Şekil 4.11).

Tablo 4.11. Akciğer homojenatında KAT aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (nmol/dk/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	10,09±1,02	25,027	0,000		**	ns	***	ns	*
2	İnflamasyon	7	8,43±0,24			**		***	***	*	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	10,43±0,6			ns	***		***	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	12,52±0,75			***	***	***		***	ns
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	9,68±0,3			ns	*	ns	***		**
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	11,32±0,5			*	***	ns	ns	**	

ns $p>0,05$ * $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.11. Deney gruplarının akciğer homojenatında KAT aktivite değerleri

4.3.4. Akciğer homojenatında glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi

Akciğer homojenatında GPx aktivitesi pmol/dk/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $101,34±4,06$, 2. grupta $72,63±3,32$, 3. grupta

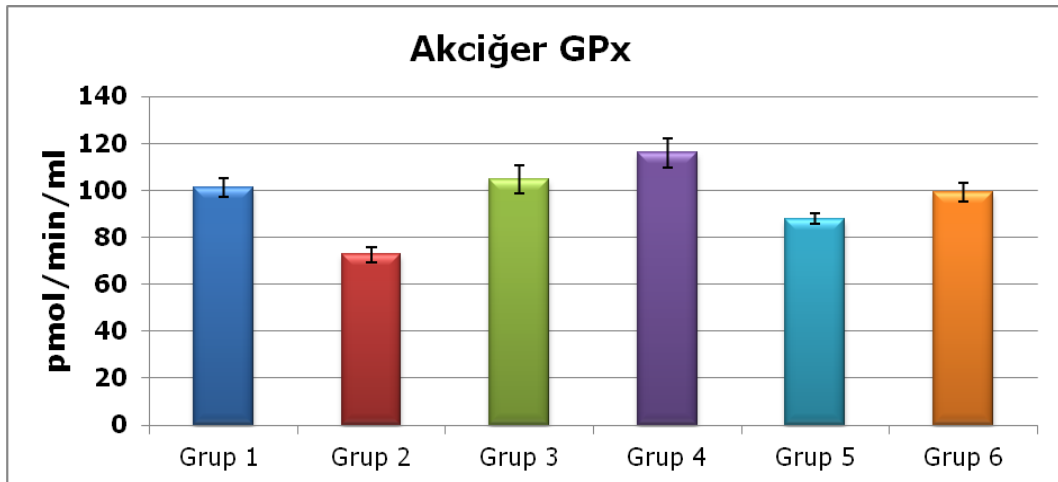
104,72±5,81, 4. grupta grubunda 115,97±6,37, 5. grupta 87,93±2,2 ve 6. grupta grubunda 99,05±3,99 bulunmuştur.

Akciğer homojenatı GPx aktivitesi bakımından; 2. grup, diğer tüm gruplara ($p<0,001$) göre anlamlı derecede düşük bulundu. 4. grupta GPx aktivitesi ise 3. grup ($p<0,01$) ve diğer tüm gruplara ($p<0,001$) göre anlamlı derecede yüksek bulundu. 5. grupta enzim aktivitesi kontrol grubuna ($p<0,01$), 3. gruba ($p<0,001$) ve 6. gruba ($p<0,001$) göre anlamlı derecede düşük olarak saptandı (Tablo 4.12, Şekil 4.12).

Tablo 4.12. Akciğer homojenatında GPx aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	GPx (pmol/dk/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	101,34±4,06	54,795	0,000		***	ns	***	**	ns
2	İnflamasyon	7	72,63±3,32			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	104,72±5,81			ns	***		**	***	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	115,97±6,37			***	***	**		***	***
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	87,93±2,2			**	***	***	***		**
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	99,05±3,99			ns	***	ns	***	**	

ns $p>0,05$ * $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$



Şekil 4.12. Deney gruplarının akciğer homojenatında GPx aktivite değerleri

4.4. Hemolizata Ait Bulgular Ve İstatistiksel Değerlendirmeler

4.4.1. Hemolizatta malondialdehit (MDA) seviyeleri

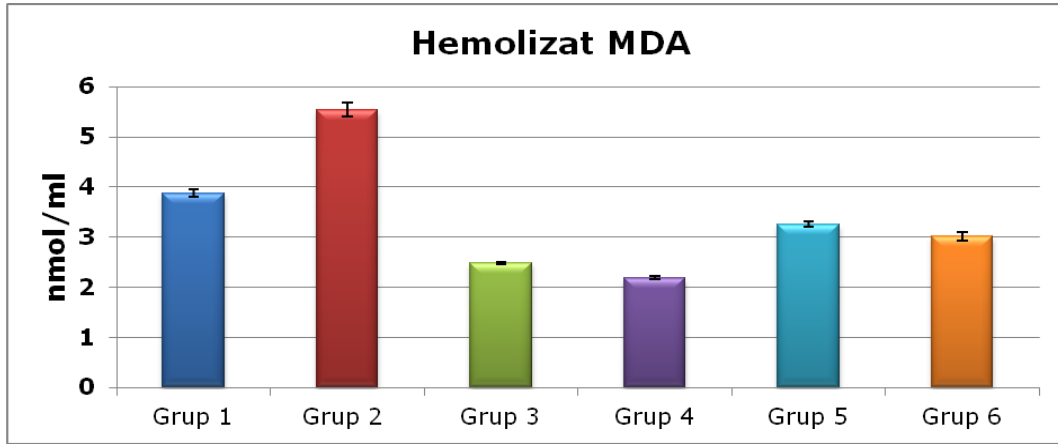
Hemolizatta MDA seviyeleri nmol/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $3,88 \pm 0,08$, 2. grupta $5,54 \pm 0,14$, 3. grupta $2,48 \pm 0,02$, 4. grupta $2,19 \pm 0,03$, 5. grupta $3,26 \pm 0,05$ ve 6. grupta grubunda $3,01 \pm 0,09$ bulunmuştur.

Eritrosit hemolizatında MDA seviyelerine bakıldığında, kontrol grubu 2. gruba ($p < 0,001$) göre anlamlı derecede düşükken, diğer gruplara ($p < 0,001$) göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı. 2. grubun MDA düzeyleri tüm gruplara ($p < 0,001$) göre anlamlı derecede yüksek olarak bulundu. 4. grubun MDA seviyeleri tüm gruplara ($p < 0,001$) nazaran istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. Ayrıca 3. Grubun MDA düzeyleri ise 4. grup dışındaki tüm gruplardan ($p < 0,001$) anlamlı derecede düşük olarak saptandı. Bunlardan başka 6. grupta MDA seviyeleri 5. gruba ($p < 0,01$) oranla anlamlı derecede düşük bulundu (Tablo 4.13, Şekil 4.13).

Tablo 4.13. Hemolizatta MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (nmol/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	$3,88 \pm 0,08$	1182,549	0,000		***	***	***	***	***
2	İnflamasyon	7	$5,54 \pm 0,14$			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	$2,48 \pm 0,02$			***	***		***	***	***
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	$2,19 \pm 0,03$			***	***	***		***	***
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	$3,26 \pm 0,05$			***	***	***	***		**
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	$3,01 \pm 0,09$			***	***	***	***	**	

ns $p > 0,05$ * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.13. Deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri

4.4.2. Hemolizatta süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

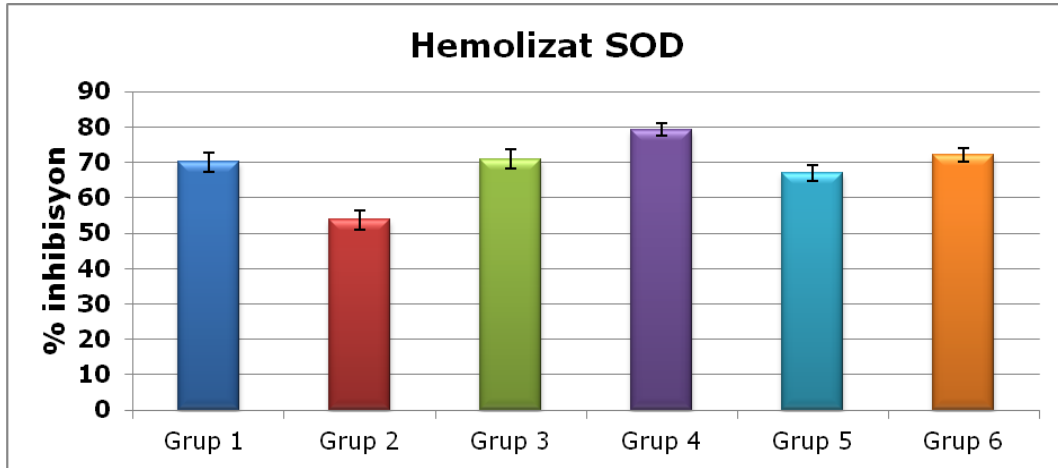
Hemolizatta SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda $70,14 \pm 2,68$, 2. grupta $53,74 \pm 2,75$, 3. grupta $70,94 \pm 2,79$, 4. grupta $79,28 \pm 1,68$, 5. grupta $66,98 \pm 2,25$ ve 6. grupta $72,10 \pm 1,93$ olarak bulunmuştur.

Hemolizatta SOD % inhibisyon değerlerine bakıldığında, 2. grubun diğer tüm gruplardan ($p < 0,001$) SOD aktivitesi bakımından anlamlı derecede düşük olduğu bulundu. 4. grubun ise 6. grup ($p < 0,01$) dahil tüm gruplardan ($p < 0,001$) enzim aktivitesi bakımından yüksek olduğu saptandı. Ayrıca 6. grubun enzim aktivitesinin, 5. gruptan ($p < 0,05$) istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu (Tablo 4.14, Şekil 4.14).

Tablo 4.14. Hemolizatta SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	$70,14 \pm 2,68$	62,558	0,000		***	ns	***	ns	ns
2	İnflamasyon	7	$53,74 \pm 2,75$			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	$70,94 \pm 2,79$			ns	***		***	ns	ns
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	$79,28 \pm 1,68$			***	***	***		***	**
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	$66,98 \pm 2,25$			ns	***	ns	***		*
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	$72,10 \pm 1,93$			ns	***	ns	**	*	

ns $p > 0,05$ * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.14. Deney gruplarının hemolizatta SOD % inhibisyon değerleri

4.4.3. Hemolizatta katalaz (KAT) aktivitesi

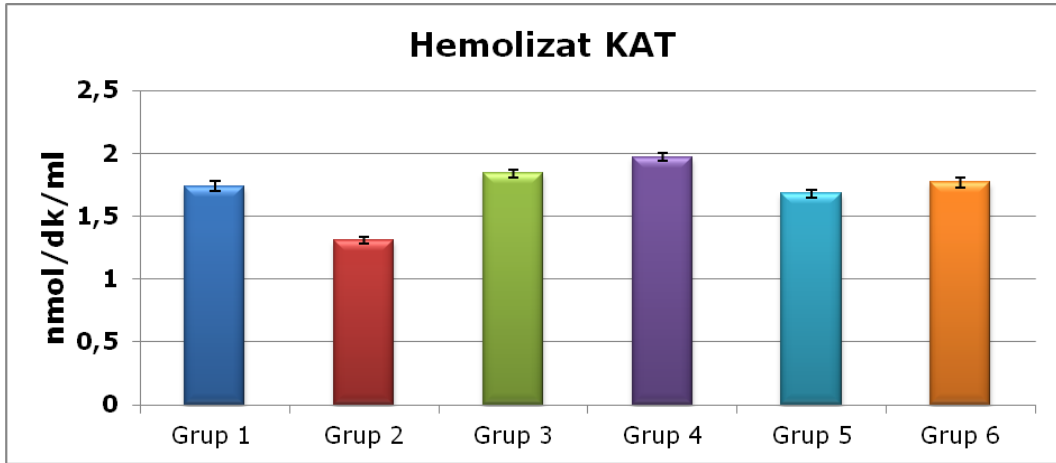
Hemolizatta KAT aktivitesi nmol/dk/ml olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $1,74 \pm 0,04$, 2. grupta $1,31 \pm 0,03$, 3. grupta $1,84 \pm 0,03$, 4. grupta $1,97 \pm 0,03$, 5. grupta $1,68 \pm 0,03$ ve 6. grupta $1,77 \pm 0,04$ bulunmuştur.

Hemolizatta KAT aktivitelerine bakıldığında, 2. grubun diğer tüm gruplardan ($p < 0,001$) KAT aktivitesi bakımından anlamlı derecede düşük olduğu bulundu. 4. grubun ise tüm gruplardan ($p < 0,001$) enzim aktivitesi bakımından yüksek olduğu saptandı. Ayrıca 3. grubun KAT enzim aktivitesinin, kontrol grubundan ($p < 0,001$) anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu. Son olarak 6. grubun enzim aktivitesinin, 5. grubunkinden ($p < 0,01$) anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı (Tablo 4.15, Şekil 4.15).

Tablo 4.15. Hemolizatta KAT aktiviteleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (nmol/dk/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	1,74±0,04	233,405	0,000		***	***	***	ns	ns
2	İnflamasyon	7	1,31±0,03			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	1,84±0,03			***	***		***	ns	*
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	1,97±0,03			***	***	***		***	***
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	1,68±0,03			ns	***	***	***		**
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	1,77±0,04			ns	***	*	***	**	

ns p>0,05 * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.15. Deney gruplarının hemolizatta KAT değerleri

4.5. Akciğer ¹⁸F-FDG Tutulumu

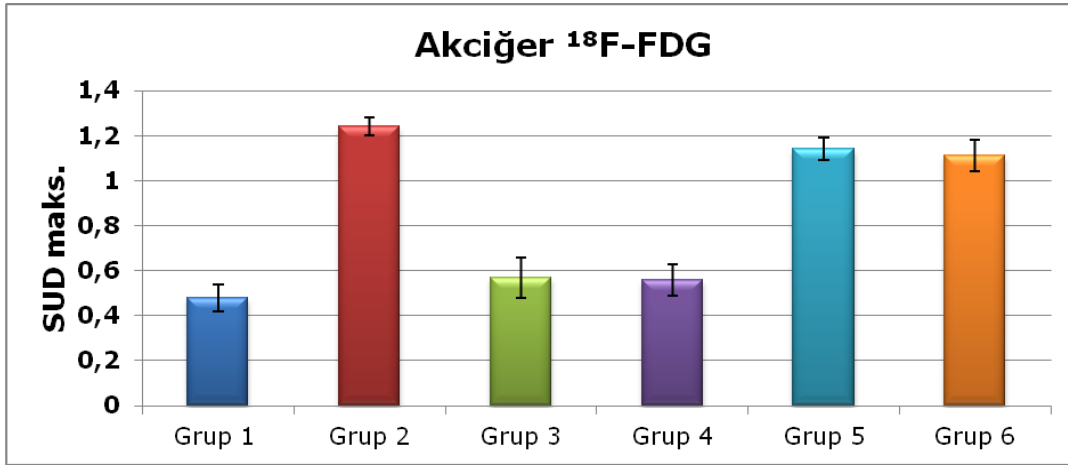
Akciğer ¹⁸F-FDG tutulumu SUD maks. olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda 0,48±0,06, 2. grupta 1,24±0,04, 3. grupta 0,57±0,09, 4. grupta 0,56±0,07, 5. grupta 1,14±0,05 ve 6. grupta 1,11±0,07 bulunmuştur.

Akciğer ¹⁸F-FDG tutulumuna bakıldığında, kontrol grubuna göre, 2. grup (p<0,001), 5. grup (p<0,001) ve 6. grubun (p<0,001) ¹⁸F-FDG tutulumunun anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu. 2. gruba göre, 3. grup, 4. grup (p<0,001) ve 6. grup (p<0,05) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (Şekil 4.16, Tablo 4.16, Şekil 4.17).

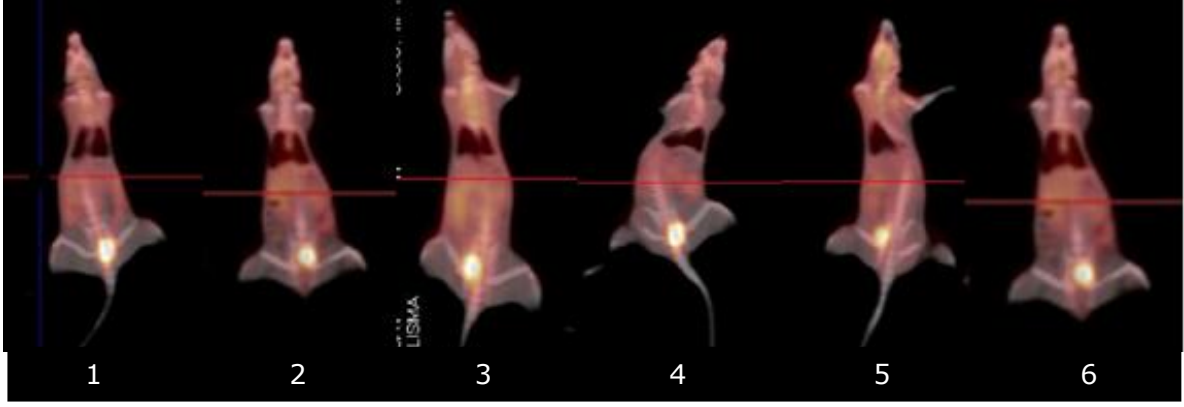
Tablo 4.16. Deney gruplarının akciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SUD Maks. Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	0,48±0,06	147,512	0,000		***	ns	ns	***	***
2	İnflamasyon	7	1,24±0,04			***		***	***	ns	*
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	0,57±0,09			ns	***		ns	***	***
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	0,56±0,07			ns	***		ns	***	***
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	1,14±0,05			***	ns	***	***		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	1,11±0,07			***	*	***	***	ns	

ns p>0,05 * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.16. Deney gruplarının akciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri



Şekil 4.17. Deney gruplarının akciğer ve karaciğer ^{18}F -FDG-PET görüntüleri. **1.** Kontrol, **2.** İnflamasyon, **3.** *S. officinalis* 10, **4.** *S. officinalis* 30, **5.** inflamasyon + *S. officinalis* 10, **6.** inflamasyon + *S. officinalis* 30

4.6. Karaciğer ^{18}F -FDG Tutulumu

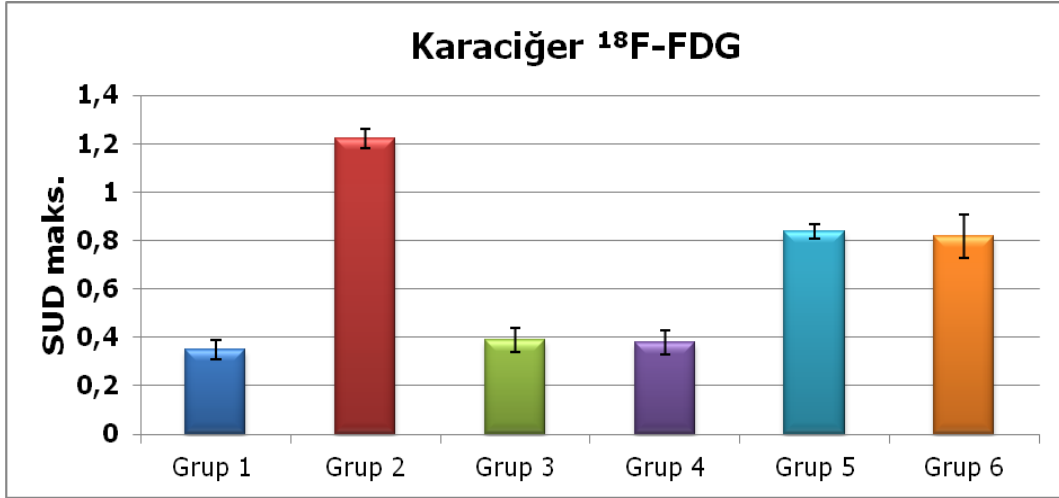
Karaciğer ^{18}F -FDG tutulumu SUD maks. olarak belirlenmiş olup, kontrol grubunda $0,35 \pm 0,04$, 2. grupta $1,22 \pm 0,04$, 3. grupta $0,39 \pm 0,05$, 4. grupta $0,38 \pm 0,05$, 5. grupta $0,84 \pm 0,03$ ve 6. grupta $0,82 \pm 0,09$ bulunmuştur.

Karaciğer ^{18}F -FDG tutulumuna bakıldığında, kontrol grubuna göre 2. grup ($p < 0,001$), 5. grup ($p < 0,001$) ve 6. grup ($p < 0,001$) anlamlı derecede yüksek bulundu. 2. gruba göre ise diğer tüm gruplar ($p < 0,001$) istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük bulundu (Şekil 4.18, Tablo 4.17, Şekil 4.17).

Tablo 4.17. Deney gruplarının karaciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SUD Maks. Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol	7	0,35±0,04	236,265	0,000		***	ns	ns	***	***
2	İnflamasyon	7	1,22±0,04			***		***	***	***	***
3	<i>S. officinalis</i> 10	7	0,39±0,05			ns	***		ns	***	***
4	<i>S. officinalis</i> 30	7	0,38±0,05			ns	***		ns	***	***
5	İ + <i>S. officinalis</i> 10	7	0,84±0,03			***	***	***	***		ns
6	İ + <i>S. officinalis</i> 30	7	0,82±0,09			***	***	***	***	ns	

ns p>0,05 * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001



Şekil 4.18. Deney gruplarının karaciğer 18F-FDG tutulum (SUD maks.) değerleri

5. TARTIŞMA

Escherichia coli (E. coli) gibi Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan ve "endotoksin" olarak da adlandırılan lipopolisakkarit (LPS), sıçan ve farelere uygulandığında inflamasyona neden olmaktadır. Çeşitli akut ve kronik deneysel inflamasyon modellerinde, endotoksin ile oluşumları tetiklenen TNF- α , IL-8 ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler ile çeşitli hücrelerde bir nükleer transkripsiyon faktörü olan NF κ -B' nin uyarılmasının ardından etkinlikleri artan NO, serbest oksijen radikalleri, iNOS ve COX-2 aracılığı ile oluşan NO, prostanooidler ve serbest oksijen radikalleri gibi moleküllerin inflamasyonun çeşitli aşamalarında rol oynadıkları bilinmektedir (Yangı, 2012).

Radikallerin aşırı reaktif yapılarına bağlı olarak, hücresel bileşenlerdeki karbonhidrat, protein ve lipidlerin oksidasyonu ile sonuçlanacak zararın önlenmesi antioksidanların görevidir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi redoks döngüsünde yer alan enzimler doğal olarak vücutta oluşan enzimatik antioksidanları oluştururlar. Hücre içindeki primer korunma sistemini meydana getirirler. Enzimatik antioksidanlar serbest radikal zincir tepkimesinin başlaması için gerekli olan serbest radikal miktarının azaltılmasını sağladıkları için primer antioksidanlar olarak da tanımlanırlar. Genel olarak enzimatik savunma sistemleri, zararlı oksijen türevlerini ortadan kaldırırlar (Yangı, 2012).

Son yıllarda tıbbi olarak faydalı olduğu düşünülen bitkilerin üzerine yoğunlaşılması onların birçok biyokimyasal özelliğinin ortaya çıkarılmasını sağlamıştır. Yapılan çalışmalarda özellikle flavonoidler, polifenoller ve fenolik asitler yönünden zengin olan bitkilerin hidrojen atomu verici ve metal bağlayıcı etkilerinin, onların kuvvetli birer antioksidan olarak görev yaptığını göstermiştir. Bu bileşiklerce zengin olan bir bitki olan *S. officinalis* 'in de serbest radikal temizleyici özelliklerinin olabileceği düşüncesi, onun önemli bir antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antimutajenik, hipoglisemik ve antikanserojen olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Alkan vd., 2012).

S. officinalis ile yapılan *in vitro* çalışmalarda, hayvan modellerinde ve insan çalışmalarında SOD, KAT, GPx, ksantin oksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinin önemli düzeyde arttığı, lipid peroksidasyon ürünlerinin temizlendiği gösterilmiştir. Ayrıca içeriğindeki karnosol ve karnosik asit ile birlikte prostaglandin E₂ sentaz enzimini etkileyerek prostaglandin sentezinin inhibe edilmesini sağladığı ve bu sayede antiinflamatuvar ve antikarsinojenik olarak etki gösterdiği belirtilmiştir (Bauer vd., 2012; Farhoudi, Ghodrati-zadeh, & Ghodrati-zadeh, 2011).

5.1. *S. officinalis*' in MDA Düzeyleri Üzerine Olan Etkisi

Bozin ve arkadaşlarının *S. officinalis*' in antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini incelediği çalışmada, *in vitro* koşullarda MDA düzeylerinden lipid peroksidasyonu derecesi belirlenmiştir. TBA yöntemiyle belirlenen lipid peroksidasyonu belirteci MDA' nın yapılan çalışmada *S. officinalis* tarafından önemli derecede inhibe edildiği gösterilmiştir (Bozin, Mimica-Dukic, Samojlik, & Jovin, 2007).

Alkan ve arkadaşları, Wistar albino ırkı sıçanlarda siklofosamid ile indüklenmiş oksidatif stres ve genotoksositeye karşı *S. officinalis*' in etkilerini incelemişler ve karaciğer, böbrek ve kalp organlarındaki MDA seviyelerini belirlemişlerdir. Çalışma sonunda, 7 gün boyunca *S. officinalis* ile beslenmiş hayvanlarda siklofosamid etkisiyle kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olan MDA düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır (Alkan vd., 2012).

Lima ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Wistar albino soyu sıçanlara 14 gün boyunca *S. officinalis* verilmiş ve sıçan hepatositlerinin kültürü yapılmıştır. Lipid peroksidasyonu, hepatositler üzerinde *in vitro* olarak oluşturulmuş ve TBA metoduyla MDA seviyeleri belirlenmiştir. Sonuçta sıçan hepatositleri MDA düzeylerinin, içme suyu yerine *S. officinalis* uygulanmış hayvanlarda azaldığı tespit edilmiştir (Lima, Andrade, Seabra, Fernandes-Ferreira, & Pereira-Wilson, 2005).

Çelik ve Işık yaptıkları çalışmada trikloroasetik asit ile indüklenmiş lipid peroksidasyonunu, belirli dozlarda *Foeniculum vulgare* ve *S. officinalis* uygulanmış dişi Sprague-Dawley ırkı sıçanlarda belirlemişlerdir. Sonuç olarak MDA düzeylerinin *S. officinalis* uygulanmış hayvanların beyin, karaciğer ve böbrek dokusunda trikloroasetik asit uygulanmış hayvanlara göre anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir (Çelik & Isik, 2008).

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre; hemolizatta, karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında, inflamasyon grubundaki (2. grup) MDA düzeyinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması LPS'nin oksidatif stresi tetiklediğini göstermektedir.

Eritrosit hemolizatında, karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında inflamasyon + *S. officinalis* 10 (5. grup) ve inflamasyon + *S. officinalis* 30 (6. grup) gruplarındaki MDA seviyelerinin inflamasyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalması, tedavi edici olarak verilen 10 mg/kg ve 30 mg/kg *S. officinalis* ekstraktlarının lipid peroksidasyon düzeyini azalttığını göstermektedir. Bu azalmanın reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesi sonucu olduğu ve tedavinin lipid peroksidasyonunu azaltıcı yönde etki ettiğini göstermektedir.

Ayrıca eritrosit hemolizati hariç diğer dokularda 6. gruptaki MDA seviyelerinin, 5. gruptan daha düşük çıkması yüksek dozun daha etkili olduğunu kanıtlar niteliktedir. Ayrıca akciğer dokusunda *S. officinalis* 30 (4. grup) grubu MDA düzeyinin 5. grup ve 6. gruptan daha düşük çıkması *S. officinalis'* in tedavi edici yönünü vurgular niteliktedir.

Bunlardan başka eritrosit hemolizatında 4. grup MDA seviyelerinin, diğer gruplardan anlamlı derecede düşük çıkması verilen dozun tedavi edici olarak etkili olduğunu göstermektedir. Yapılan diğer çalışmalar da bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir.

5.2. *S. officinalis'* in SOD ve KAT Aktivitesi Üzerine Olan Etkisi

Hsiao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SOD enziminin karaciğer hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (süperoksit, hidrojen peroksit) moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen önemli bir enzim olduğu bildirilmiştir. Ayrıca SOD enziminin lipid peroksitler veya reaktif oksijen türleri tarafından kolayca inaktive olduğu belirtilmiştir (Hsiao vd., 2001).

Fahmy ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, yüksek dönüşüm hızlarından birine sahip olan katalazın, hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağladığını; hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki ettiğini ve bunun sonucunda da ikinci derecede sentezlenen toksik hidroksil radikallerinin temizlenmesini sağlayarak, H₂O₂'nin vücutta birikimini engellediğini belirtmiştir (Fahmy, Hamdi, & Abdel-Salam, 2009).

Amin ve Hamza' nın yaptığı çalışmada, Wistar soyu sıçanlarda azathioprine ile indüklenmiş karaciğer hasarı, *S. officinalis* de dahil üç ayrı bitki ekstresi ile tedavi edilmiş ve oksidatif stres belirteçleri ile lipid peroksidasyonu ürünleri belirlenmiştir. Sonuç olarak azathioprine uygulanmış sıçanlarda KAT aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı ve *S. officinalis* ile tedavi edilen grupta bu düşüşün engellendiği ve enzim aktivitesinde anlamlı derecede artış meydana geldiği belirtilmiştir (Amin & Hamza, 2005).

Alkan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sıçanlarda siklofosamid ile indüklenen oksidatif hasara karşı *S. officinalis* tedavisi uygulanmış ve antioksidan enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Sonuçta kontrol grubuna göre tedavi grubunda karaciğer, böbrek, kalp dokuları SOD aktivitesinde ve böbrek ile karaciğer dokuları KAT aktivitesinde anlamlı derecede bir artış olduğu bildirilmiştir (Alkan vd., 2012).

Farhodi ve arkadaşlarının Wistar soyu erkek sıçanlarda karbon tetraklorürle indüklenmiş karaciğer toksisitesi üzerine yaptıkları çalışmada, karaciğer hasarının belirteci olarak SOD, KAT ve GPx enzim aktiviteleri

belirlenmiştir. Karbon tetraklorür uygulanmış grupta kontrol grubuna göre SOD, KAT ve GPx aktivitelerinde anlamlı derecede bir düşüş ve *S. officinalis* ile tedavi edilen grupların SOD, KAT ve GPx enzim aktivitelerinde anlamlı düzeyde bir artış saptanmıştır (Farhoudi vd., 2011).

Carla ve arkadaşlarının *S. officinalis*' in antidiyabetik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, 40-50 yaş aralığındaki 60 adet kadın hastanın kan şekeri, lipid profilleri ile eritrositlerindeki SOD ve KAT antioksidan enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Eritrosit SOD ve KAT aktivitelerinin iki hafta boyunca *S. officinalis* tedavisi uygulanmış hastalarda anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilmiştir (Carla vd., 2009).

Önceki çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada SOD aktivitelerinin, kontrol grubuna göre 2. grupta; karaciğer, akciğer, böbrek dokularında ve hemolizatta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı, bu azalmanın LPS ile oluşturduğumuz inflamasyon modelinde deney hayvanlarının savunma sisteminde, başta uyarılmış nötrofillerle olmak üzere diğer savunma sistemlerince serbest radikal üretiminin tetiklenmesi nedeniyle olduğu ortaya konmuştur. Meydana gelen oksidatif strese cevap olarak SOD sentezinin arttığı ve dolayısıyla serbest radikal ürünlerinin SOD tüketimini artırıp SOD düzeyini azalttığı belirlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada; karaciğer, akciğer dokularında ve hemolizatta 2. gruba göre 5. ve 6. gruplarda SOD % inhibisyonunun istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması, tedavi edici olarak kullanılan *S. officinalis* dozlarının antioksidan etki gösterip, ortamdaki serbest oksijen radikallerini uzaklaştırarak, metabolize ederek ya da SOD enziminin bu radikallerden etkilenmesini engelleyerek enzimin tüketimini azalttığı ve endojen antioksidan sistemi güçlendirdiğini göstermektedir.

Bu çalışmadaki KAT aktivitesi incelendiğinde; akciğer, böbrek dokularında ve hemolizatta 2. grubun KAT aktivitesinin, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür. LPS, serbest oksijen radikal oluşumunu tetikleyerek antioksidan sistemi olumsuz yönde etkilemiş ve endojen antioksidan olan KAT düzeyini azaltmıştır.

Karaciğer dokusunda 6. grubun KAT aktivitesinin; böbrek, akciğer dokusu ve hemolizatta ise 5. ve 6. grupların KAT aktivitelerinin 2. gruptan anlamlı derecede yüksek bulunması, *S. officinalis* tedavisinin inflamasyon oluşumunda tedavi edici bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Hemolizatta 3. ve 4. gruplar ile akciğer ve böbrek dokularında 4. grubun KAT aktivitesinin, kontrol grubu KAT aktivitesinden anlamlı derecede yüksek olması *S. officinalis* 'in endojen antioksidan olan KAT'ın aktivitesini arttırdığını göstermektedir.

Hemolizatta, karaciğer ve böbrek dokularında 5. ve 6. gruplarda belirlenen KAT aktiviteleri ile kontrol grubu KAT aktiviteleri arasında

istatistiksel anlamda bir fark olmaması tedavi edici olarak kullanılan *S. officinalis* ekstraktının antioksidan etki göstererek ortamdaki serbest oksijen radikallerini uzaklaştırarak ya da metabolize ederek katalaz enziminin bu radikallerden etkilenmesini azalttığı ve endojen antioksidan sistemi güçlendirdiğini göstermektedir. Yapılan diğer çalışmalar bizim bulgularımızla uygunluk göstermektedir.

5.3. *S. officinalis*' in GPx Aktivitesi Üzerine Olan Etkisi

Mayer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Wistar ırkı dişi sıçanlarda etanol ile indüklenen mide hasarının giderilmesi için *S. officinalis* tedavisi uygulanmış ve GPx antioksidan enzim seviyeleri belirlenmiştir. Sonuçta etanol uygulanmış grupta Gpx aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ve *S. officinalis* ile tedavi edilen grupta enzim aktivitesinin anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır (Mayer vd., 2009).

Kozics ve arkadaşları HepG2 hücre dizisinde hidrojen peroksit ve 2,3-dimetoksi-1,4-naftokinon ile oluşturdukları hasarın tedavi edilmesi için kültüre *S. officinalis* uygulamış ve sonuç olarak GPx enzim aktivitesinin tedavi grubunda, oksidan uygulanan gruba göre anlamlı düzeyde arttığını bildirmişlerdir (Kozics vd., 2013).

Lima ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada, farelerde karbon tetraklorid ile oluşturulmuş karaciğer hasarından sonra 14 gün süreyle uygulanan *S. officinalis* tedavisi sonucu antioksidan düzeylerinin değişimi incelenmiştir. Yapılan deney sonucunda GPx aktivitelerinin karbon tetraklorür verilen hayvanlara oranla *S. officinalis* tedavi grubunda anlamlı derecede yükseldiği tespit edilmiştir (Lima, Fernandes-Ferreira, & Pereira-Wilson, 2007).

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre; karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında, inflamasyon grubundaki GPx aktiviteleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalmıştır. LPS etkisiyle oluşan serbest radikaller yine endojen bir antioksidan olan GPx düzeylerinin azalmasına yol açmıştır.

Tüm dokularda 4. grubun GPx düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı düzeyde fazla olması, ekstrenin normal koşullarda da endojen bir antioksidan olan GPx düzeylerinin yükselmesini sağladığını göstermektedir. Ayrıca 4. grubun tüm doku örneklerinde Gpx aktivitelerinin 3. gruptan anlamlı derecede yüksek olarak belirlenmesi, antioksidan kapasitenin 30 mg/kg olan dozda, 10 mg/kg olan doza oranla Gpx aktivitesi bakımından daha etkili biçimde desteklendiğini belirtmektedir.

GPx aktivitesi bakımından, tüm doku örneklerinde 5. ve 6. grupların enzim aktivitesinin, 2. gruba göre anlamlı düzeyde yükselmesi *S.*

officinalis tedavisinin inflamasyon oluşumunda tedavi edici bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

5.4. *S. officinalis*' in ¹⁸F-FDG Tutulumu Üzerine Olan Etkisi

¹⁸Fluorodeoksiglukoz, kanser spesifik bir ajan olmayıp; sarkoidoz, tüberküloz, fungal enfeksiyon ve serebral abse gibi pek çok infeksiyöz ve inflamatuvar hastalıkta da artmış tutulum göstermektedir. Bu da inflamatuvar hücrelerdeki artmış glikoliz hızıyla ilişkili bulunmuştur (Yangı, 2012).

İnfeksiyonlarda ¹⁸F-FDG tutulum mekanizması tam olarak açıklanabilmiş değildir. Abseler, sinüzit, pankreatit gibi durumlarda FDG alımı artar. İyileşmekte olan kemik dokusu ve osteoartritte de FDG alımı artmıştır. Sarkoidoz ve tüberküloz gibi granülomatöz hastalıklarda da FDG alımının arttığı bildirilmiştir (Yangı, 2012).

Bizim bulgularımıza göre, akciğer ve karaciğer dokularında kontrol grubuna göre 2. grupta ¹⁸F-FDG tutulumunun anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Ayrıca akciğer ve karaciğerde, LPS' nin kullanıldığı 5. ve 6. grupta ¹⁸F-FDG tutulumu yine kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde fazladır. ¹⁸F-FDG tutulumunun istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması LPS' nin inflamasyona neden olduğu ve oluşan inflamatuvar yanıtı bağı olarak da hücrelerde artmış glikoz kullanımını göstermektedir.

Ayrıca karaciğerde 2. gruba göre, 5. ve 6. gruplardaki ¹⁸F-FDG tutulumunun istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunması, kullanılan *S. officinalis* ekstresinin inflamatuvar cevabı azalttığını göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Şifalı bitkiler, özellikle kanserin ve patogenezinde inflamasyonun olduğu diğer birçok hastalığın alternatif olarak tedavisinde, toksisitelerinin oldukça az olması ve düşük maliyetleri sebebiyle dikkatleri uzun yıllardır üzerlerine çekmektedirler. Çalışmamızda, sıçanlarda LPS ile oluşturulmuş akut inflamasyon modelinde ilk çağlardan beri birçok hastalığın tedavisinde faydalanılan bir şifalı bitki olan *Salvia officinalis*' in etkinliği araştırılmıştır. Günümüzde de antioksidan, antifungal, antibakteriyel, antidiyabetik, antitümör ve antiinflamatuvar olarak kullanılan bitkinin, inflamasyon kaynaklı oluşan oksidatif strese karşı kullanımının meydana getirdiği sonuçlar incelenmiştir. Bunun için vücudumuzda doğal olarak bulunan endojen antioksidanların aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA seviyeleri tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen veriler, LPS' nin inflamasyon ve dolayısıyla oksidatif strese neden olduğu, *S. officinalis*' in karaciğer, böbrek, akciğer dokularında ve hemolizatta gösterilen tedavi edici etkisinin muhtemel mekanizmasının, reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesi sonucu lipid peroksidasyonunun ve/veya antioksidan tüketiminin engellenmesi ile olabileceğini düşündürmektedir. Endojen antioksidan enzim seviyelerinin arttırılmasında oldukça etkili olduğu görülen *S. officinalis*' in, inflamasyon sonucu oluşan oksidatif strese karşı koruyucu etkilerinin incelenmesi de çalışma sonucu alınan veriler doğrultusunda önerilebilir. *S. officinalis*' in etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, doz ve tolerabilite konularının tamamen açıklığa kavuşturulması için prelinik ve klinik çalışmalara gereksinim vardır. Çalışmanın gelecekte yapılacak iyi tasarlanmış araştırmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aebi, H. (1984). Catalase Invitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Aghabeigi, B. (1992). The pathophysiology of pain. *Br Dent J*, 173(3), 91-97. doi: 10.1038/sj.bdj.4807944
- Albayrak, L. (2015). Nontravmatik akut karın ağrılı olgularda serum oksidatif stres ve prolidaz enzim düzeylerinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa
- Alexander, C., & Rietschel, E. T. (2001). Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J Endotoxin Res*, 7(3), 167-202.
- Alkan, F. Ü., Gürsel, F. E., Ateş, A., Özyürek, M., Güçlü, K., & Altun, M. (2012). Protective effects of *Salvia officinalis* extract against cyclophosphamide-induced genotoxicity and oxidative stress in rats. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 36(6), 646-654.
- Amin, A., & Hamza, A. (2005). Hepatoprotective effects of *Hibiscus*, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sciences*, 77(3), 266-278.
- Arık, A. İ., Güdeloğlu, A., & Uygur, C. (2011). İnflamasyonun önlenmesi, prostat kanserinden korunmada yarar sağlar mı? *Üroonkoloji Derneği Yönetim Kurulu*, 22.
- Armstrong, L., Jordan, N., & Millar, A. (1996). Interleukin 10 (IL-10) regulation of tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) from human alveolar macrophages and peripheral blood monocytes. *Thorax*, 51(2), 143-149.
- Babior, B. M. (1999). NADPH oxidase: an update. *Blood*, 93(5), 1464-1476.
- Babior, B. M. (2000). Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*, 109(1), 33-44.
- Barnes, J., Anderson, L. A., & Phillipson, J. D. (2003). *Herbal medicines: a guide for healthcare professionals*: Pharmaceutical Press.
- Barnes, P. J., Chung, K. F., & Page, C. P. (1998). Inflammatory mediators of asthma: An update. *Pharmacological Reviews*, 50(4), 515-596.
- Barrette, W. C., Jr., Hannum, D. M., Wheeler, W. D., & Hurst, J. K. (1989). General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: abolition of ATP production. *Biochemistry*, 28(23), 9172-9178.
- Bauer, J., Kuehnl, S., Rollinger, J. M., Scherer, O., Northoff, H., Stuppner, H., Koeberle, A. (2012). Carnosol and Carnosic Acids from *Salvia officinalis* Inhibit Microsomal Prostaglandin E-2 Synthase-1. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 342(1), 169-176. doi: 10.1124/jpet.112.193847
- Bernath, J., Danos, B., & Hethelyi, E. (1991). Variation in essential oil spectrum on *Salvia* species affected by environment. *Herba Hungarica*, 30(1-2), 35-48.
- Bevilacqua, M. P., Stengelin, S., Gimbrone, M. A., Jr., & Seed, B. (1989). Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. *Science*, 243(4895), 1160-1165.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Bhabak, K. P., & Mugesh, G. (2010). Functional mimics of glutathione peroxidase: bioinspired synthetic antioxidants. *Acc Chem Res*, 43(11), 1408-1419. doi: 10.1021/ar100059g
- Bienvenu, J. (1995). [Exploration of cytokines in inflammation in biological fluids]. *C R Seances Soc Biol Fil*, 189(4), 545-555.
- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*, 91 Spec No, 179-194.
- Bobrowski, K. (2005). Free radicals in chemistry, biology and medicine: contribution of radiation chemistry. *Nukleonika*, 50, S67-S76.
- Boon, E. M., Downs, A., & Marcey, D. (2007). Catalase: H₂O₂: H₂O₂ Oxidoreductase. *Catalase structural tutorial text*, 2007-2002.
- Borgstahl, G. E., Parge, H. E., Hickey, M. J., Beyer, W. F., Jr., Hallewell, R. A., & Tainer, J. A. (1992). The structure of human mitochondrial manganese superoxide dismutase reveals a novel tetrameric interface of two 4-helix bundles. *Cell*, 71(1), 107-118.
- Bozin, B., Mlmica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7879-7885. doi: 10.1021/jf0715323
- Brady, Z., Taylor, M. L., Haynes, M., Whitaker, M., Mullen, A., Clews, L., Trapp, J. V. (2008). The clinical application of PET/CT: a contemporary review. *Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine*, 31(2), 90-109.
- Brewer, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221-247. doi: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x
- Büyükkaya, F. (2002). Sideritis trojana (tüylü çay, sarıkız çayı, adaçayı, dağ çayı) bitkisinin kimyasal analizi ve bileşenlerinin yapılarının aydınlatılması, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale
- Carla, M., Alice, S., Ramos, A., Azevedo, M., Lima, C., Fernandes-Ferreira, M., & Cristina, P.-W. (2009). Sage Tea Drinking Improves Lipid Profile and Antioxidant Defences in Humans *Int. J. Mol. Sci*, 10, 3937-3950.
- Caroff, M., & Karibian, D. (2003). Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr Res*, 338(23), 2431-2447.
- Carrero, J. J., & Stenvinkel, P. (2009). Persistent inflammation as a catalyst for other risk factors in chronic kidney disease: a hypothesis proposal. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 4(Supplement 1), S49-S55.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Cendan, J. C., Topping, D. L., Pruitt, J., Snowdy, S., Copeland, E. M., 3rd, & Lind, D. S. (1996). Inflammatory mediators stimulate arginine transport and arginine-derived nitric oxide production in a murine breast cancer cell line. *J Surg Res*, 60(2), 284-288.
- Ceres, & Esplan, C. (1984). *The healing power of herbal teas*: Thorsons.
- Chalchat, J. C., Michet, A., & Pasquier, B. (1998). Study of clones of *Salvia officinalis* L. yields and chemical composition of essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(1), 68-70. doi: Doi 10.1002/(Sici)1099-1026(199801/02)13:1<68::Aid-Ffj698>3.0.Co;2-8
- Chambers, D. E., Parks, D. A., Patterson, G., Roy, R., Mccord, J. M., Yoshida, S., Downey, J. M. (1985). Xanthine-Oxidase as a Source of Free-Radical Damage in Myocardial Ischemia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 17(2), 145-152. doi: Doi 10.1016/S0022-2828(85)80017-1
- Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*, 49(3), 481-493.
- Chevion, M. (1988). A Site-Specific Mechanism for Free-Radical Induced Biological Damage - the Essential Role of Redox-Active Transition-Metals. *Free Radical Biology and Medicine*, 5(1), 27-37. doi: Doi 10.1016/0891-5849(88)90059-7
- Cuvelier, M. E., Berset, C., & Richard, H. (1994a). Antioxidant Constituents in Sage (*Salvia-Officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3), 665-669. doi: Doi 10.1021/Jf00039a012
- Cuvelier, M. E., Berset, C., & Richard, H. (1994b). Separation of Major Antioxidants in Sage by High-Performance Liquid-Chromatography. *Sciences Des Aliments*, 14(6), 811-815.
- Cybulsky, M. I., & Gimbrone, M. (1991). Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science*, 251(4995), 788-791.
- Celik, I., & Isik, I. (2008). Determination of chemopreventive role of *Foeniculum vulgare* and *Salvia officinalis* infusion on trichloroacetic acid-induced increased serum marker enzymes lipid peroxidation and antioxidative defense systems in rats. *Natural product research*, 22(1), 66-75.
- Çolak, E. (2011). Karbon tetrakloridin (ccl4) indüklediği karaciğer hasarı ve oksidatif stres üzerine *Cynara scolymus* L. yaprağı ekstraktının etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir
- Dai, Q., Zhang, J., & Pruett, S. B. (2005). Ethanol alters cellular activation and CD14 partitioning in lipid rafts. *Biochem Biophys Res Commun*, 332(1), 37-42. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.04.088

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Devasagayam, T. P., Tilak, J. C., Boloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*, 52, 794-804.
- Dilmen, B. (2013). Servikal disk herni tanısı konmuş hastalarda total oksidatif stres ve antioksidan statü ile eritrosit ve trombosit indekslerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa
- Dinarello, C. A. (2002). The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol*, 20(5 Suppl 27), S1-13.
- Dizdaroglu, M. (1991). Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, 10(3-4), 225-242. doi: Doi 10.1016/0891-5849(91)90080-M
- Dmitriev, B. A., Ehlers, S., & Rietschel, E. T. (1999). Layered murein revisited: a fundamentally new concept of bacterial cell wall structure, biogenesis and function. *Med Microbiol Immunol*, 187(3), 173-181.
- Eaton, D. L., & Bammler, T. K. (1999). Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol Sci*, 49(2), 156-164.
- Eidi, A., & Eidi, M. (2009). Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 3(1), 40-44.
- Entok, E., Ustuner, M. C., Ozbayer, C., Tekin, N., Akyuz, F., Yangi, B., Gunes, H. V. (2014). Anti-inflammatuar and anti-oxidative effects of *Nigella sativa* L.: (18)FDG-PET imaging of inflammation. *Molecular Biology Reports*, 41(5), 2827-2834. doi: 10.1007/s11033-014-3137-2
- Erenel, G., Erbaş, D., & Arıcioğlu, A. (1992). Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi medical journal*, 3(4).
- Esworthy, R. S., Aranda, R., Martin, M. G., Doroshov, J. H., Binder, S. W., & Chu, F. F. (2001). Mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 281(3), G848-855.
- Fahmy, S. R., Hamdi, S. A., & Abdel-Salam, H. A. (2009). Curative effect of dietary freshwater and marine crustacean extracts on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity. *Aust J Basic Appl Sci*, 3, 2118-2129.
- Farhoudi, M., Ghodrati-zadeh, S., & Ghodrati-zadeh, S. (2011). Effects of *salvia officinalis* extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. *Glob Vet*, 7(4), 353-357.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Faure, E., Equils, O., Sieling, P. A., Thomas, L., Zhang, F. X., Kirschning, C. J., . . . Arditì, M. (2000). Bacterial lipopolysaccharide activates NF-kappaB through toll-like receptor 4 (TLR-4) in cultured human dermal endothelial cells. Differential expression of TLR-4 and TLR-2 in endothelial cells. *J Biol Chem*, 275(15), 11058-11063.
- Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239-247. doi: Doi 10.1038/35041687
- Frei, B., Stocker, R., England, L., & Ames, B. N. (1990). Ascorbate - the Most Effective Antioxidant in Human Blood-Plasma. *Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine*, 264, 155-163.
- Frostegard, J., Ulfgren, A. K., Nyberg, P., Hedin, U., Swedenborg, J., Andersson, U., & Hansson, G. K. (1999). Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. *Atherosclerosis*, 145(1), 33-43.
- Ganong, W. F. (2002). *Tıbbi Fizyoloji. 20. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.*
- Gerard, J. (1973). *The herball or generall historie of plantes*: Norton, John.
- Goh, J., Enns, L., Fatemie, S., Hopkins, H., Morton, J., Pettan-Brewer, C., & Ladiges, W. (2011). Mitochondrial targeted catalase suppresses invasive breast cancer in mice. *BMC Cancer*, 11, 191. doi: 10.1186/1471-2407-11-191
- Goth, L. (2008). Catalase deficiency and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 31(12), e93. doi: 10.2337/dc08-1607
- Gutteridge, J. M. C. (1995). Lipid-Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue-Damage. *Clinical Chemistry*, 41(12B), 1819-1828.
- Haeggstrom, J. Z., Nordlund, P., & Thunnissen, M. M. (2002). Functional properties and molecular architecture of leukotriene A4 hydrolase, a pivotal catalyst of chemotactic leukotriene formation. *ScientificWorldJournal*, 2, 1734-1749. doi: 10.1100/tsw.2002.810
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219(1), 1-14.
- Hansson, G. K., Libby, P., Schonbeck, U., & Yan, Z. Q. (2002). Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res*, 91(4), 281-291.
- Hauck, S. J., Aaron, J. M., Wright, C., Kopchick, J. J., & Bartke, A. (2002). Antioxidant enzymes, free-radical damage, and response to paraquat in liver and kidney of long-living growth hormone receptor/binding protein gene-disrupted mice. *Horm Metab Res*, 34(9), 481-486. doi: 10.1055/s-2002-34787

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Heller, R. A., Schena, M., Chai, A., Shalon, D., Bedilion, T., Gilmore, J., Davis, R. W. (1997). Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(6), 2150-2155.
- Hibbs, J. B., Jr. (2002). Infection and nitric oxide. *J Infect Dis*, 185 Suppl 1, S9-17. doi: 10.1086/338005
- Hofseth, L. J., & Wargovich, M. J. (2007). Inflammation, cancer, and targets of ginseng. *Journal of Nutrition*, 137(1), 183s-185s.
- Hogg, N. (1999). The effect of cyst(e)ine on the auto-oxidation of homocysteine. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(1-2), 28-33. doi: Doi 10.1016/S0891-5849(99)00029-5
- Hsiao, G., Lin, Y.-H., Lin, C.-H., CHOU, D.-S., LIN, W.-C., & SHEU, J.-R. (2001). The protective effects of PMC against chronic carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in vivo. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(11), 1271-1276.
- Iontcheva, I., Amar, S., Zawawi, K. H., Kantarci, A., & Van Dyke, T. E. (2004). Role for moesin in lipopolysaccharide-stimulated signal transduction. *Infect Immun*, 72(4), 2312-2320.
- İskit, A. B. (2005). Sepsiste deneysel modeller. *Yoğun Bakım Dergisi*, 5, 133-136.
- Janeway, C. A., Jr., & Medzhitov, R. (2002). Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*, 20, 197-216. doi: 10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359
- Johnson, J. J. (2011). Carnosol: a promising anti-cancer and anti-inflammatory agent. *Cancer Lett*, 305(1), 1-7. doi: 10.1016/j.canlet.2011.02.005
- Joseph, P. D. (2010). Genetic variations in human glutathione transferase enzymes: significance for pharmacology and toxicology. *Hum Genomics Proteomics*, 2010, 876940. doi: 10.4061/2010/876940
- Kawanishi, S., & Hiraku, Y. (2006). Oxidative and nitrative DNA damage as biomarker for carcinogenesis with special reference to inflammation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(5-6), 1047-1058. doi: DOI 10.1089/ars.2006.8.1047
- Kennedy, D. O., Pace, S., Haskell, C., Okello, E. J., Milne, A., & Scholey, A. B. (2006). Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery. *Neuropsychopharmacology*, 31(4), 845-852. doi: 10.1038/sj.npp.1300907
- Kolks, G., Lippard, S. J., Waszczak, J. V., & Lilienthal, H. R. (1982). Magnetic Exchange in Imidazolate-Bridged Copper(II) Complexes. *Journal of the American Chemical Society*, 104(3), 717-725. doi: Doi 10.1021/Ja00367a014

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Kontogianni, V. G., Tomic, G., Nikolic, I., Nerantzaki, A. A., Sayyad, N., Stosic-Grujicic, S., Tzakos, A. G. (2013). Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chemistry*, 136(1), 120-129. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.091
- Kozics, K., Klusová, V., Srančíková, A., Mučaji, P., Slameňová, D., Hunáková, L., . . . Horváthová, E. (2013). Effects of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* on oxidant-induced DNA damage and antioxidant status in HepG2 cells. *Food Chemistry*, 141(3), 2198-2206.
- Krause, B. J., Beyer, T., Bockisch, A., Delbeke, D., Kotzerke, J., Minkov, V., Willich, N. (2007). [FDG-PET/CT in oncology. German Guideline]. *Nuklearmedizin*, 46(6), 291-301.
- Krieger, M. (1997). The other side of scavenger receptors: pattern recognition for host defense. *Current opinion in lipidology*, 8(5), 275-280.
- Kumar, V., & Cotran, R. (2008). Robbins Temel Patoloji. *Çeviri Editörü: Çevikbaş U*, 7, 596-599.
- Kuralay, F., & Çavdar, Z. (2006). İnflamatuvar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg*, 16(3), 143-152.
- Laborde, E. (2010). Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death. *Cell Death and Differentiation*, 17(9), 1373-1380. doi: 10.1038/cdd.2010.80
- Lancaster, L. H., Christman, J. W., Blackwell, T. R., Koay, M. A., & Blackwell, T. S. (2001). Suppression of lung inflammation in rats by prevention of NF-kappaB activation in the liver. *Inflammation*, 25(1), 25-31.
- Langer, R., Mechtler, C., & Jurenitsch, J. (1996). Composition of the essential oils of commercial samples of *Salvia officinalis* L and *S-fruticosa* Miller: A comparison of oils obtained by extraction and steam distillation. *Phytochemical Analysis*, 7(6), 289-293.
- Libby, P. (2007). Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev*, 65(12 Pt 2), 140-146.
- Lima, C. F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Fernandes-Ferreira, M., & Pereira-Wilson, C. (2005). The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *Journal of ethnopharmacology*, 97(2), 383-389.
- Lima, C. F., Fernandes-Ferreira, M., & Pereira-Wilson, C. (2007). Drinking of *Salvia officinalis* tea increases CCl 4-induced hepatotoxicity in mice. *Food and chemical toxicology*, 45(3), 456-464.
- Lowe, V. J., & Naunheim, K. S. (1998). Current role of positron emission tomography in thoracic oncology. *Thorax*, 53(8), 703-712.
- Lu, Y. R., & Foo, L. Y. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75(2), 197-202. doi: Doi 10.1016/S0308-8146(01)00198-4

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Madsen, H. L., & Bertelsen, G. (1995). Spices as Antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 6(8), 271-277.
- Malhotra, J. D., & Kaufman, R. J. (2007). Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: A vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxidants & Redox Signaling*, 9(12), 2277-2293. doi: 10.1089/ars.2007.1782
- Marcinkiewicz, J., Chain, B., Nowak, B., Grabowska, A., Bryniarski, K., & Baran, J. (2000). Antimicrobial and cytotoxic activity of hypochlorous acid: interactions with taurine and nitrite. *Inflamm Res*, 49(6), 280-289.
- Mayer, B., Baggio, C. H., Freitas, C. S., dos Santos, A. C., Twardowsky, A., Horst, H., dos Santos, É. P. (2009). Gastroprotective constituents of *Salvia officinalis* L. *Fitoterapia*, 80(7), 421-426.
- Mccord, J. M. (1993). Human-Disease, Free-Radicals, and the Oxidant/Antioxidant Balance. *Clinical Biochemistry*, 26(5), 351-357. doi: Doi 10.1016/0009-9120(93)90111-I
- Medzhitov, R., & Janeway, C. A., Jr. (1998). Innate immune recognition and control of adaptive immune responses. *Semin Immunol*, 10(5), 351-353.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.
- Muller, F. L., Lustgarten, M. S., Jang, Y., Richardson, A., & Van Remmen, H. (2007). Trends in oxidative aging theories. *Free Radic Biol Med*, 43(4), 477-503. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.034
- Muzio, M., Natoli, G., Sacconi, S., Levrero, M., & Mantovani, A. (1998). The human toll signaling pathway: divergence of nuclear factor kappaB and JNK/SAPK activation upstream of tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6). *J Exp Med*, 187(12), 2097-2101.
- Neyzi, O., & Ertuğrul, T. (2002). *Pediatric Cilt 1. 3. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri*, 37-43.
- Nordberg, J., & Arner, E. S. J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1312. doi: Doi 10.1016/S0891-5849(01)00724-9
- O'Connor, T. M., O'Connell, J., O'Brien, D. I., Goode, T., Bredin, C. P., & Shanahan, F. (2004). The role of substance P in inflammatory disease. *J Cell Physiol*, 201(2), 167-180. doi: 10.1002/jcp.20061
- O'Neill, C. A., Stebbins, C. L., Bonigut, S., Halliwell, B., & Longhurst, J. C. (1996). Production of hydroxyl radicals in contracting skeletal muscle of cats. *J Appl Physiol* (1985), 81(3), 1197-1206.
- Özerol, E. (1996). Sitokrom P450 Monooksijenaz Enzim Sistemleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 3(3).

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Pace, L., & Piccaglia, R. (1995). Characterization of the essential oil of a wild Italian endemic sage: *Salvia officinalis* L. var. *angustifolia* Ten.(Labiatae). *Journal of Essential Oil Research*, 7(4), 443-446.
- Park, J. E., & Barbul, A. (2004). Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg*, 187(5A), 11S-16S. doi: 10.1016/S0002-9610(03)00296-4
- Ran, Q., Liang, H., Ikeno, Y., Qi, W., Prolla, T. A., Roberts, L. J., 2nd, . . . Richardson, A. (2007). Reduction in glutathione peroxidase 4 increases life span through increased sensitivity to apoptosis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 62(9), 932-942.
- Reznick, A. Z., Cross, C. E., Hu, M. L., Suzuki, Y. J., Khwaja, S., Safadi, A., . . . Halliwell, B. (1992). Modification of Plasma-Proteins by Cigarette-Smoke as Measured by Protein Carbonyl Formation. *Biochemical Journal*, 286, 607-611.
- Rietschel, E. T., Brade, H., Holst, O., Brade, L., MullerLoennies, S., Mamat, U., . . . Schumann, R. R. (1996). Bacterial endotoxin: Chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. *Pathology of Septic Shock*, 216, 39-81.
- Rizk, M., Witte, M. B., & Barbul, A. (2004). Nitric oxide and wound healing. *World J Surg*, 28(3), 301-306. doi: 10.1007/s00268-003-7396-7
- Robertson, A. K., & Hansson, G. K. (2006). T cells in atherogenesis: for better or for worse? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26(11), 2421-2432. doi: 10.1161/01.ATV.0000245830.29764.84
- Schauenberg, P., & Paris, F. (1974). Guide to medicinal plants. *Guildford, Lutterworth Press*. 349p.. Originally published in French at Neuchatel by Delachaux & Niestle in.
- Seifried, H. E., Anderson, D. E., Fisher, E. I., & Milner, J. A. (2007). A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(9), 567-579. doi: 10.1016/j.jnutbio.2006.10.007
- Sessle, B. J. (2001). New insights into peripheral chemical mediators of temporomandibular pain and inflammation. *Journal of Orofacial Pain*, 15(1), 5-5.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., & Dowd, C. A. (2001). Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemical Journal*, 360(Pt 1), 1-16.
- Sies, H., & de Groot, H. (1992). Role of reactive oxygen species in cell toxicity. *Toxicol Lett*, 64-65 Spec No, 547-551.
- Simon, J. E., Chadwick, A. F., & Craker, L. E. (1984). *Herbs, an indexed bibliography, 1971-1980*: Elsevier.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Sleep, J., Wilson, D., Simmons, R., & Gratzer, W. (1999). Elasticity of the red cell membrane and its relation to hemolytic disorders: an optical tweezers study. *Biophys J*, 77(6), 3085-3095. doi: 10.1016/S0006-3495(99)77139-0
- Small, E., & Canada, N. R. C. o. (1997). *Culinary herbs*: NRC Research Press.
- Spallholz, J. E. (1990). Selenium and glutathione peroxidase: essential nutrient and antioxidant component of the immune system. *Adv Exp Med Biol*, 262, 145-158.
- Tainer, J. A., Getzoff, E. D., Richardson, J. S., & Richardson, D. C. (1983). Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature*, 306(5940), 284-287.
- Takabayashi, T., Vannier, E., Clark, B. D., Margolis, N. H., Dinarello, C. A., Burke, J. F., & Gelfand, J. A. (1996). A new biologic role for C3a and C3a desArg: regulation of TNF-alpha and IL-1 beta synthesis. *J Immunol*, 156(9), 3455-3460.
- Takeda, K., & Akira, S. (2005). Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol*, 17(1), 1-14. doi: 10.1093/intimm/dxh186
- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., & Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, 95(2), 200-204. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.12.031
- Thomas, E. L., Bozeman, P. M., Jefferson, M. M., & King, C. C. (1995). Oxidation of bromide by the human leukocyte enzymes myeloperoxidase and eosinophil peroxidase. Formation of bromamines. *J Biol Chem*, 270(7), 2906-2913.,
- Tosun, A., Khan, S., Kim, Y. S., Calin-Sanchez, A., Hysenaj, X., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2014). Essential Oil Composition and Anti-Inflammatory Activity of *Salvia officinalis* L (Lamiaceae) in Murin Macrophages. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(6), 937-942. doi: 10.4314/tjpr.v13i6.16
- Tsankova, E. T., Konaktchiev, A. N., & Genova, E. M. (1994). Constituents of essential oils from three *Salvia* species. *Journal of Essential Oil Research*, 6(4), 375-378.
- Turrens, J. F. (1997). Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Bioscience Reports*, 17(1), 3-8. doi: Doi 10.1023/A:1027374931887
- Uzel, N. (1988). Karbon tetraklorür uygulanan sıçanlarda lipid peroksitlerinin plazma lesitin-kolesterol açıl transferaz enzim aktivitesi üzerine etkisinin incelenmesi. *İÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.*
- Yangı, B. (2012). Propolis ekstresinin deneysel inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Yoshihara, D., Fujiwara, N., & Suzuki, K. (2010). Antioxidants: benefits and risks for long-term health. *Maturitas*, 67(2), 103-107. doi: 10.1016/j.maturitas.2010.05.001
- Yoshikawa, S., Shimada, A., & Shinzawa-Itoh, K. (2015). Respiratory conservation of energy with dioxygen: cytochrome C oxidase. *Met Ions Life Sci*, 15, 89-130. doi: 10.1007/978-3-319-12415-5_4
- Zerin, M., Karakilçik, A. Z., Nazligül, Y., Bİtiren, M., & Özardali, H. İ. (2004). Protective Role of Nigella Sativa Oil on Experimental Liver Injury in Rats. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 24(6), 598.
- Zhou, J. F., Xiao, W. Q., Zheng, Y. C., Dong, J., & Zhang, S. M. (2006). Increased oxidative stress and oxidative damage associated with chronic bacterial prostatitis. *Asian J Androl*, 8(3), 317-323. doi: 10.1111/j.1745-7262.2006.00144.x

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler:

Adı- Soyadı: Umut Kerem KOLAÇ

Doğum tarihi ve yeri: 16.12.1986 Ankara

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresleri: ESOGÜ Tıp Fakültesi – Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Eğitim Durumu:

1993-2001 İltekin İlköğretim Okulu

2001-2005 Ankara Anadolu Lisesi

2005-2010 Hacettepe Üniversitesi – Biyoloji Bölümü

Diller: Türkçe (Anadil), İngilizce (ileri derecede), Fransızca (başlangıç)

Mesleki Deneyim:

2013 - halen Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

Yayınlar:

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler:

Soyocak A, Kurt H, Özdemir Z, Saydam F, Çalış İU, **Kolaç U**, Turgut Coşan D, Değirmenci İ, Şahin Mutlu F, Güneş HV. "The Relationship Between Tannic Acid and Myeloperoxidase Enzyme Activity in the Inflamed Paw Tissue Formed by Formalin Injection in Rats" 5. Uluslararası Hücre Zarları ve Oksidatif Stres Kongresi, Isparta, 9 12 Eylül 2014

Çalış İU, Turgut Coşan D, Saydam F, **Kolaç U**, Soyocak A, Özdemir Z, Kurt H, Güneş HV, Şahin Mutlu F, Değirmenci İ. "The Effect of Tannic Acid in the Monosodium Glutamate Induced Oxidative Stress in Rats" 5. Uluslararası Hücre Zarları ve Oksidatif Stres Kongresi, Isparta, 9 12 Eylül 2014

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

Soyocak A, Kurt H, Özdemir Z, Saydam F, Çalış İU, **Kolaç U**, Turgut Coşan D, Değirmenci İ, Mutlu ŞF, Güneş HV. "Kongre özet kitabı" bildiri kitapçığındaki "Formalin indüklü pence ödeminde tannik asidin miyeloperoksidaz enzim aktivitesi üzerine etkisi", 293 pp. (XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2013, Kuşadası)

Çalış İU, Turgut Coşan D, Saydam F, **Kolaç U**, Soyocak A, Özdemir Z, Kurt H, Güneş HV, Mutlu ŞF, Değirmenci İ. "Kongre özet kitabı" bildiri kitapçığındaki "Monosodyum glutamat kan glukozu ve tannik asit", 344 pp. (XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2013, Kuşadası)

Çalış İU, Turgut Coşan D, Saydam F, **Kolaç KU**, Soyocak A, Özdemir Z, Kurt H, Güneş HV, Mutlu ŞF, Değirmenci İ. "Kongre özet kitabı" bildiri kitapçığındaki "Oksidatif Hasara Çin Tuzu ve Tannik Asitin Etkileri", 742 pp. (22. Ulusal Biyoloji Kongresi 23-27 Haziran 2014, Eskişehir)

Soyocak A, Kurt H, Özdemir Z, Saydam F, Çalış İU, **Kolaç U**, Turgut Coşan D, Değirmenci İ, Mutlu ŞF, Güneş HV. "Kongre özet kitabı" bildiri kitapçığındaki "Ödem İnhibisyonunda Tannik Asidin Önemi" 692 pp. (22. Ulusal Biyoloji Kongresi 23-27 Haziran 2014, Eskişehir)

Bilimsel Etkinlikler:

Kurslar ve Eğitim Programları: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu "Deney Hayvanları Kullanımı İle İlgili B Sınıfı Eğitim Programı" 24 Mart-04 Nisan

Projeler: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu 2014-537 no' lu "*Salvia officinalis* Ekstresinin Deneysel İnflamasyon Ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi" projesi