

37980

**ARNEBIA DENSIFLORA (NORDM.) Ledeb.
EKSTRESİNİN KROMOZOM, LÖKOSİT, İDRAR
KOMPOZİSYONU VE BAZI SERUM
ENZİMLERİNE ETKİSİ**

Hülyam GÜN

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**Osmangazi Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.**

Danışman : Prof. Dr. Ayşe BAŞARAN

Mart 1994

KABUL VE ONAY SAYFASI

Hülyam GÜN'ün YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Arnebia densiflora (Nordm.) Ledeb. Ekstresinin Kromozom, Lökosit, İdrar Kompozisyonu ve Bazı Serum Enzimlerine Etkisi" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

25/03/1994

Prof. Dr. Ayşe BAŞARAN
Prof. Dr. Kerim ÖZDAMAR
Y. Doç. Dr. Hüseyin GÜNEŞ

Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28.03.1994 gün ve 246/615 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN
Enstitü Müdürü

Ö Z E T

Bu çalışmada *Arnebia densiflora* kök ekstresinin ve aflatoksin B₁'in kromozomlara, lökositlere, idrar kompozisyonu ve serum enzim düzeylerine olan etkileri ayrı ayrı ve birlikte verilerek araştırıldı. Çalışmada ağırlıkları 256.91±2.99 g olan *Rattus norvegicus* (Wistar albino) türü 42 adet dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 6 gruba ayrıldı. Kontrol olarak tutulan ilk üç gruptan I. Gruba 0.3 ml serum fizyolojik, II. Gruba 0.3 ml ekstreyi çözüldürdüğümüz sıvı yağ, III. Gruba 0.3 ml AfB₁'i çözüldürdüğümüz Dimethyl sulphoxide (DMSO), deney grubu olarak ayrılan IV. Gruba 2 mg/kg AfB₁, V. Gruba 4 mg/kg *A. densiflora*, VI. Gruba ise 2 mg/kg AfB₁ 4 mg/kg *A. densiflora* tek doz halinde intraperitoneal (i.p) olarak verildi.

Çalışma sonunda V. grupta, kontrol gruplarında olduğu gibi önemli düzeyde kromatid tipi kırığa rastlanmadı. IV. ve VI. grupta ise önemli düzeyde kromatid tipi kırık gözlemlendi. Böylece *A. densiflora*'nın kromatid tipi kırık yapmadığı fakat aflatoksin ile birlikte verildiğinde AfB₁'in oluşturduğu kırıkları engelleyemediği tesbit edildi. Hematokrit değerleri ve monosit yüzdeleri gruplar arasında önemli bir farklılık göstermezken lenfosit yüzdesi kontrol gruplarına göre V. grupta önemli düzeyde artarken nötrofil yüzdesinin V. ve VI. gruplarda düştüğü görüldü. Kreatinin, üre azotu, fosfor ve ürik asit seviyeleri V. ve VI. grupta, önemli düzeyde artarken, kalsiyum seviyesi ve pH'ta farklılık görülmedi. Sodyum ve potasyum seviyeleri ise sadece AfB₁ verilen IV. grupta artış gösterdi. Serum kreatinin seviyesi AfB₁ ve *A. densiflora*'nın birlikte verildiği VI. grupta artarken, kreatinin klerensinde önemli bir fark görülmedi. Enzimlerden SGOT, SGPT, ALP ve ASP seviyelerinin IV. ve VI. gruplarda kontrole göre önemli düzeyde arttığı belirlendi.

Sonuç olarak *A. densiflora*'nın kromatid tipi kırıkları önleyemediği, toksik etkisi olduğu bilinen bu bitkinin 4 mg/kg dozunun bile toksik etki gösterdiği tesbit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Arnebia densiflora*, Aflatoksin B₁, Kromozom, Enzim

S U M M A R Y

In this study, the effects of *Arnebia densiflora* root extract and aflatoxin B₁ on chromosomes, leukocytes, uric compositions and serum enzymes, researched separately and together. In this research, 42 female rats which are in the class of *Rattus norvegicus* (Wistar albino) and which have a weight between 256.91±2.99 gr, are used. Rats are classified into 6 groups. From the first three group which are under control, to former group 0.3 ml serum physiological, to II. group liquid oil which has a soluble of 0.3 ml extract, to III. group Dimethyl sulphoxide which has a soluble of 0.3 ml AfB₁, to IV. group which is an observation group, 2 mg/kg AfB₁, to V. group 4 mg/kg *A. densiflora*, to VI. group 2 mg/kg AfB₁+4 mg/kg *A. densiflora* and one dose of intraperitoneal (i.p.) has given.

At the end of the research, chromatid typed breakage, which is quite big amounts in control groups, haven't seen too much in the V. group. But in the IV. and VI. group, quite big amounts of chromatid typed breakage has observed. Therefore, it's seen that when *A. densiflora* is used on its own it doesn't form chromatid typed breakage but when its given with AfB₁, it cannot stop the breakage which is formed by AfB₁. It has seen that haematocrit amounts and monocyte percentages haven't got big differences between groups but lymphocyte percentage, compared with control groups, in the V. group it's increasing more, but neutrophil percentage is decreasing in the V. and VI. groups. On the other hand, in the V. and VI. group, while creatinine, urea nitrogen, phosphorus and uric acid levels increasing, on calcium level and pH no difference has seen. Sodium and potassium levels increased only in the group IV. which is given only AfB₁. Serum creatinine level increased in the group VI. which is given AfB₁ and *A. densiflora* together, but in creatinine clearance no change has seen. From enzymes SGOT, SGPT, ALP and ASP levels in the groups IV. and VI has understood that there is a noticeable increase.

Finally it's proved that *A. densiflora* could not stop chromatid typed breakage, and this plant which has toxic effects, even at 4 mg/kg showed its toxic effect.

Key words : *Arnebia densiflora*, Aflatoxin B₁, Chromosome, Enzymes

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince büyük ilgi ve destek göstererek bu çalışma konusunu öneren, gerekli her türlü imkanı sağlayan, yazım sırasında gösterdiği sabır ve değerli katkılarıyla çalışmamın basıma hazır hale gelmesini sağlayan, sayın hocam Prof.Dr. Ayşe BAŞARAN'a en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmama ilgi gösterip gerekli gereç ve yöntemin sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Prof.Dr. Nurettin BAŞARAN'a, bilgi ve tecrübeleriyle beni sürekli destekleyen yardımlarını gördüğüm sayın hocam Yrd.Doç.Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ'e, Öğr.Gör.Dr. Ecir Ali ÇAKMAK'a, Öğr.Gör.Dr. İrfan DEĞİRMENCİ'ye, Arş.Gör. Ayşe Gaye TOMATIR'a ve Sağlık teknisyeni Ayşe ÇİMEN'e, ayrıca bitki ekstresini sağlayan TBAM'ne ve Yük.Kim.Müh. Berrin BOZAN'a, İstatistik değerlendirmelerimde yardımını gördüğüm Arş.Gör. Fezan ŞAHİN'e, maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
SUMMARY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Arnebia densiflora'nın Genel Özellikleri	3
2.2. Naftakinonlar ve Biyolojik Etkileri	5
2.3. Aflatoksinler ve Etkileri	10
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1. Gereç	12
3.1.1. Deney hayvanları	12
3.1.2. Kimyasal maddeler	12
3.1.3. Aygıtlar	14
3.2. Yöntem	15
3.2.1. Uygulanan doz miktarı	15
3.2.2. Kromozom elde etme yöntemi	15
3.2.2.1. Kemik iliğinin elde edilmesi	16
3.2.2.2. Hipotonik uygulama ve fiksasyon ..	16
3.2.2.3. Lamların ve preparatların hazırlanması	17
3.2.2.4. Boyama	18
3.2.2.5. Değerlendirme	18
3.2.3. Hematokrit ve lökosit sayımı	18
3.2.3.1. Hematokrit	18

	<u>Sayfa</u>
3.2.3.2. Lökosit sayımı	19
3.2.4. İdrarda yapılan işlemler	19
3.2.4.1. İdrarın toplanması	19
3.2.4.2. İdrarın saklanması	19
3.2.4.3. Spektrofotometrik ölçümler	20
3.2.5. Serumda yapılan işlemler	30
4. BULGULAR	35
4.1. Kromozomlar	35
4.2. Hematokrit ve Lökosit Tipleri Yüzdeleri	38
4.3. İdrar Kompozisyonları Değerleri	41
4.4. Serum Enzim Değerleri	49
5. TARTIŞMA	53
5.1. Kromozomlara Etkisi	53
5.2. Hematokrit ve Lökosit Tiplerine Etkisi	54
5.3. İdrar Kompozisyonlarına Etkisi	55
5.4. Serum Enzimlerine Etkisi	58
6. SONUÇ	60
KAYNAKLAR DİZİNİ	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Arnebia densiflora	4
4.1. Kontrol grubu metafaz plağı	37
4.2. IV. grupta kromatid tipi kırık görülen metafaz plağı . . .	37
4.3. Kontrol ve deney gruplarının kromatid tipi kırık görülen metafaz plağı yüzdeleri	38
4.4. Kontrol ve deney gruplarının hematokrit ve lökosit tiplerinin yüzde değerleri	41
4.5. Kontrol ve deney gruplarının idrar hacmi ve pH değerleri	43
4.6. Kontrol ve deney gruplarının üre azotu değerleri	44
4.7. Kontrol ve deney gruplarının kalsiyum ve fosfor değerleri	45
4.8. Kontrol ve deney gruplarının ürik asit değerleri	46
4.9. Kontrol ve deney gruplarının sodyum ve potasyum değerleri	47
4.10. Kontrol ve deney gruplarının idrar kreatinin değerleri . .	48
4.11. Kontrol ve deney gruplarının kreatinin ve kreatinin kleriensi değerleri	49
4.12. Kontrol ve deney gruplarının SGOT ve SGPT değerleri .	51
4.13. Kontrol ve deney gruplarının ALP ve ASP değerleri . . .	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Ürik asit standardına göre hesaplanan transmittans değerleri	26
3.2. Serum kreatinin transmittans değerleri	29
3.3. Serum SGOT transmittans değerleri	32
3.4. Serum SGPT transmittans değerleri	32
4.1. Kontrol ve deney gruplarının kromatid tipi kırık görülen metafaz plağı oranları ve istatistiksel değerlendirmeleri ..	36
4.2. Kontrol ve deney gruplarının hematokrit ve lökosit tiplerinin yüzde değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri	39
4.3. Kontrol ve deney gruplarının idrar kompozisyonlarına ait değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri	42
4.4. Kontrol ve deney gruplarının serum enzim değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri	50

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
g	Gram
kg	Kilogram
μ g	Mikrogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
DMSO	Dimethyl sulphoxide
AfB ₁	Aflatoksin B ₁
A. densiflora	Arnebia densiflora
TBAM	Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi
ASP	Asit fosfataz
SGOT	Serum glutamic oxalacetic transaminase
SGPT	Serum glutamic pyruvic transaminase
ALP	Alkalen fosfataz
i.p.	İntraperitoneal
%	Yüzde
Sin	Sinonim

1. GİRİŞ

Naftakinonlar, bitki köklerinin kabuk kısımlarında bol olarak bulunurlar ve naftakinon türevi taşıyan bitkiler boya maddesi olarak asırlardır kullanılmaktadır. Bu naftakinon türevleri, *Alkanna tinctoria*'nın köklerinden izole edilen alkanninden dolayı alkanninler adı ile de bilinirler. Naftakinonlara bitkiler aleminde 150 türde rastlanmaktadır. Bu türler *Boraginaceae* familyasına ait *Echium*, *Onosma*, *Alkanna*, *Cynoglossum*, *Lithospermum* ve *Arnebia* cinsine ait türlerdir (3, 31, 37).

Boraginaceae köklerinden elde edilen ürünler birçok ülkede halk arasında eczema, keratoderma, dermatophytosis, corns callus, acne vulgaris, yanıklar ve tüm hemorrhoidlerde kullanılmıştır (Papageorgiou, 1980). Bundan hareket edilerek yüksek biyolojik aktiviteleri nedeniyle naftakinonlar antitümör (29, 48-51, 53), antibakterial (37-39, 50, 51), antifungal (2, 40, 54, 56) antiinflammatuar (Tanaka et al, 1986), ve yara iyileştirici (31, 37, 40) olarak değişik araştırmalarda kullanılmıştır. Fakat bu bitkinin aynı zamanda doza bağlı olarak toksik etki gösterdiği yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Wassel et al, 1987, Sankava et al, 1977). Bütün bu etkilerinden dolayı *Boraginaceae* familyası üyelerinin farmakolojik özellikleri üzerine çalışmalar halen sürdürülmektedir.

Çalışmamızda etkisini incelediğimiz ikinci madde mikotoksinlerin önemli gruplarından biri olan aflatoksinlerdir. Aflatoksinler *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* fungusları tarafından ikincil metabolit olarak üretilmektedir (6-8, 26, 27).

Aflatoksinlerle yapılan çalışmalarda bunların mutajenik etkiye sahip oldukları ve kromozomlarda kromatid tipi kırıklara sebep oldukları saptanmıştır (Başaran ve ark, 1991).

Aflatoksinler bilinen en önemli doğal kanserojenlerdir. Aflatoksinli gıdalarla beslenen kişilerde özellikle karaciğer kanserine yakalanma riskinin arttığı gösterilmiştir (1, 58, 62).

Aflatoksinlerin eritrosit ve lökosit miktarını doza bağlı olarak azalttığı bildirilmiştir (19, 45, 46).

AfB₁'in serum enzimlerinden SGOT, SGPT ve ASP seviyelerini artırdığı, ALP seviyesini ise azalttığı bildirilmiştir (Güneş ve ark, 1991).

Bu çalışmada A. densiflora'nın antitümöral, AfB₁'in ise kanserojen etkilerini göz önüne alarak, AfB₁'in kromozom, lökosit tipleri, idrar kompozisyonu ve serum enzimleri üzerine olan etkilerini A. densiflora'nın düzeltip düzeltemeyeceğini araştırmak üzere planladık.

2. GENEL BİLGİLER

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanılması tarih öncesi devirlere kadar gitmektedir. 1960'lı yıllardan sonra tıbbi bitki kaynaklı ilaçlarda büyük bir artış görülmüştür. Özellikle tıbbi bitkilerdeki etken maddeler insan sağlığı açısından önemli bulunmuştur. Bunların sentetik yolla elde edilen ilaçlara göre çok yönlü etkilerinin olması ve birçok sentetik ilaca temel oluşturması önemlerini giderek artırmaktadır.

Etken madde izolasyonu, bunların kimyasal yapılarının aydınlatılması, biyolojik aktivitelerinin incelenmesi ve tedavi için hizmete sunulmasındaki araştırmalar da her geçen gün artmaktadır. Bu da tıbbi bitkilere verilen önemin bir kanıtıdır.

2.1. *Arnebia densiflora*'nın Genel Özellikleri

Arnebia densiflora, *Boraginaceae* familyasının *Arnebia* Forssk cinsine dahil bir türdür. Bu familyanın üyeleri otsu bitkiler ve çalılardan oluşmaktadır. 100 kadar cinsi ve 2000 kadar türü vardır. Ülkemizde 30 kadar cinsi ve 150 kadar türü bilinmektedir. Bu familya üyelerinden *Arnebia* Forssk cinsi bir yıllık ve çok yıllık bitkileri içermektedir (3, 20, 32).

Arnebia cinsinin 4 türü vardır.

- | | |
|-------------|--|
| Çok yıllık; | 1- <i>A. pulchra</i> (Roemer and Schultes.), Edmondson |
| | 2- <i>A. densiflora</i> (Nordm.) Ledeb. |
| Tek yıllık; | 3- <i>A. decumbens</i> (Vent.) Cosson and Kralik |
| | 4- <i>A. linearifolia</i> (DC.) |

Arnebia densiflora (Nordm.) Ledeb., Fl. Ross. 3: 140(1849).

Sin : **Lithospermum densiflorum** Ledeb.ex Nordm. in Bull. Acad. Imp. Sci Petersb. 2: 312 (1837).

Arnebia cephalotes DC., Prodr. 10: 96(1846).

Munbya cephalotes (DC.) Boiss., Diagn. Ser. 1(11): 116 (1849).

Munbya densiflora (Nordm.) Boiss., loc. cit (1849).

Munbya conglobata Boiss. loc. cit. (1849).

Macrotomia cephalotes (DC.) Boiss., Fl. Or. 4-212 (1875).

Arnebia macrothyrsa Stapf in Wien. III. Gartenzeit. 128 (1891).



Şekil 2.1. *Arnebia densiflora*

Arnebia densiflora çok yıllık, kalın odunsu gövdelidir. Gövde basit 25-40 cm, kadife tüylü ve dikenli, petiol tabanının kalıntısı ile taban örtülmüştür. Yapraklar yatık-kıllı ve kadife tüylü, linear-lanceolattan linear-eliptiğe değişen, 4 cm'lik petiole doğru tabanda daralan, lamina 10-15 x 0.8-1.3 cm; gövde yaprakları sapsız, dekurentdir. Çiçek açma durumu yoğun, 6-12 cm çapındadır. Kaliks çiçekte 15-20 mm, meyvada 30 mm, tabanda ikiye ayrılmış, kambur şeklinde çıkıntı yok, loblar küt. Korolla sarı, 35-45 mm, tüp dış yüzde ince tüylü, 30-40 mm, halka yok, kenar 12-16 mm çapında, noktasızdır. Stamenler halka şeklindedir. Nutletler 4-5 mm, basık ovoid, yeşilimsi-kahverengi, tüberküllü-buruşuk, ventral omurgalıdır (Davis, 1978).

Tip örneği : Nordmann (LE) tarafından Transkafkasyadan 1836'da toplanmış.

Yayıliş alanları : A₂: Bursa, B₂: Manisa, B₃: Eskişehir, B₅: Kayseri, B₆: Adana, B₇: Erzincan, C₄: Konya, C₅: Niğde, C₆: Maraş

Yetişme ortamı : Sarp kayalık, kayalık çıkıntılar, kireçli kayalıklar ve volkanik yüzeyler, 750-2600 m. (Davis, 1978).

2.2. Naftakinonlar ve Biyolojik Etkileri

Boraginaceae familyası naftakinonlarca çok zengindir. En fazla naftakinon ihtiva eden türler, bu familyanın Lithospermum, Echium, Onosma, Alkanna, Cynoglossum ve Arnebia cinslerine aittir (Baytop 1991, Papageorgiou 1980). Bunların içinde naftakinon yönünden en zengin olan Lithospermum cinsidir. Naftakinonlar Alkanna tinctoria'nın köklerinden izole edilen ilk naftakinon olan alkanninden dolayı alkanninler adı ile de bilinmektedirler (Papageorgiou, 1980).

Bu zamana kadar *Arnebia* türlerinden elde edilen naftakinonlar ise şunlardır (Papageorgiou, 1980).

Alkannan

Arnebin - 7

Anhydroalkannin

Alkannin

Shikonin

Acetylalkannin

Acetylshikonin

Isobutylshikonin

Isovalerylalkannin

Isovalerylshikonin

α - Methyl-n-butyl-alkannin

α - Methyl-n-butyl-shikonin

β,β - Dimethylacryl-alkannin

β,β - Dimethylacryl-shikonin

Teracrylshikonin

Angelicalkannin

Angelicshikonin

β - Hidroxy-isovaleryl - shikonin

β - Acetoxy-isovaleryl -alkannin

β,β - Dimethylacryl-hidroxy-alkannin (Arnebin-2)

Acetyl-hidroxy-alkannin (Arnebin-6)

Hidroxy-alkannan (Arnebin-5)

Alkanna tinctoria'dan elde edilen alkanninlerin boya olarak kullanımları eski Yunan ve Roma medeniyetlerine kadar uzanır. Alkanninler halk arasında gıda boyası olarak da günümüzde hala bazı yerlerde kullanılmaktadır. 12 Avrupa ülkesinde de gıda ve şarap

boyası olarak kullanılmasına izin verilmektedir (Papageorgiou 1980). *Arnebia hispidissima* köklerinden elde edilen pigmentin, gıda boyası olarak kullanılmasına Hindistan hükümeti izin vermiştir (Khan et al, 1983).

Boyama özelliklerine ilaveten naftakinonlar yara iyileştirici (Papageorgiou 1980), antibakteriyel (37, 39, 50), antiinflammatuar (Tanaka et al, 1986), antifungal (2, 39, 51, 53), antitümör (29, 48, 51, 53) gibi özellikleriyle yüksek biyolojik aktiviteye sahiptirler. Tüm üyelerin yara iyileştirme aktiviteleri özellikle klinikte önemlidir.

Boraginaceae köklerinden elde edilen ürünler birçok ülkede halk arasında eczema, kerotoderma, dermatophytosis, corns callus, acne vulgaris, yanıklar ve tüm hemorroidlerde kullanılmaktadır. Ancak bu etkilerini açıklayacak bilimsel çalışmalar günümüzde yeni yeni gelişmeye ve destek görmeye başlamıştır (Papageorgiou, 1980).

Dioscorides'in "Greek herbal of Dioscorides" adlı kitabında *Alkanna tinctoria* köklerinden elde edilen bileşiklerin yara iyileştirici etkileri olduğu bildirilmiştir, fakat buna rağmen bu etkileri ancak 1978 yılından sonra tıbbi olarak köklerden elde edilen aktif komponentler üzerindeki çalışmalarda gösterilebilmiştir (Papageorgiou 1980, Tanaka et al 1986).

Alkanna tinctoria'nın köklerinden elde edilen ekstreye yapılan bir dizi denemede deri ülserleri laboratuvar hayvanlarında (sıçan, kedi, köpek) deneysel olarak oluşturulmuş ve sonuçta mükemmel iyileştirici etkilerine işaret edilmiştir. Bu nedenle *Alkanna tinctoria* kökleri üzerinde kimyasal ve deney hayvanıyla yapılan çalışmaları takiben bir farmasötikal merhem formüle edilmiş ve insan derisinde yüzeysel uygulama için kullanılmıştır (Papageorgiou et al, 1980).

Alkannin esterlerinin yara iyileşmesi üzerine etkileri yakın zamanda Dermatolojik Heidberg Hospital kliniğinde (Hamburg,

GERMANY), ayrıca Andreas Syngrou Hastanesinde (Atina, YUNANİSTAN) deri hastalarında da çalışılmıştır. Heidberg kliniğinde, bacaklarında ülserleşme (ulcus cruris) görülen 72 hastada 3 yıl boyunca denenmiş ve lokal uygulamanın 5. ve 6. haftasında tümüyle veya belirgin düzeyde bir iyileşme görülmüştür. Bununla beraber terapi esnasında deride enflamasyon (iltihap) görülmemiştir. Başarı oranı %80 olarak kaydedilmiştir (Papageorgiou 1980, 1978).

Birkaç yıl önce naftakinon pigmentlerinin antibakteriyel etkisi üzerine çalışmalar başlamıştır. İn vitro shikonin ve türevlerinin içerdikleri anhidroalkannin 10-160 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'lik doz aralıklarında Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Sarcina lutea, Bacillus subtilis'in üremesine engel olmaktadır. Ancak, bu etkisi E. coli ve Pseudomonas aeruginosa'da yoktur. Bazı shikonin türevlerinin az da olsa Saccharomyces cerevisia'nın üremesine engel olabildiği gösterilmiştir (Papageorgiou, 1980).

Alkanna tinctoria köklerinden hazırlanan ekstredeki aktif maddeden bir Yunanlı araştırmacı Histoplastin Red® adlı bir ilaç hazırlamış ve bu ilaç ulcus cruris vakalarında etkili bir tedavinin yanında ayrıca olağanüstü bir antibiyotik etki sergilemiştir. Köklerin n-hekzanlı ekstresinin Staphylococcus aureus ve Staphylococcus epidermidis'e karşı antimicrobial aktivite sergiledikleri de ispatlanmıştır (Papageorgiou et al, 1980).

Shikonin ve enantiyomeri alkanninin ratlarda ateşli ödem ve kapiller permeabilitenin artması üzerine olan etkilerinin farmakolojik yönden karşılaştırılması için pozitif kontrolde phenylbutazone'nin kullanıldığı bir çalışmada, shikoninin 50 μg 'nın histaminle birlikte günlük topikal tatbiki, damar permeabilite büyümesini %40 önlemiştir (Tanaka et al, 1986). Shikonin, shikalkin ve alkanninin ağrıyan bir bölgeye lapa halinde (50 veya 100 μg) uygulanması,

ağrıyı azaltmasının yanında ateşli ödemi de aynı derecede engellemiştir. En iyi cevap 50 μg 'lık dozda gözlenmiştir. Böylece shikonin ve alkanninin antienflammatuar aktivite yönünden, aralarında önemli bir farklılık olmadığı bulunmuştur (2, 37, 51).

Boraginaceae familyasının tüm üyelerinde tipik olarak bulunan pyrrolizidine alkaloidlerin memelilerde hepatotoksik (hepatotoxicity) etkisi olduğu özellikle bilinmektedir (Wassel et al, 1987). Ham alkaloid ekstralarının sitotoksik aktivitelerinin belirlenmesi çalışmaları sürmektedir. *Lithospermum officinalis* var. *erythrorhizon* MAX. ve *Macrotomia euchroma* (ROYLE) PAULS köklerinin içerdiği bir naftakinon olan shikoninin 5-10 mg/kg/gün dozu toksisite göstermezken 15 mg/kg/gün'den yüksek dozu toksik etki yapmış, 1 mg/kg/gün dozu ise inaktif bir sonuç vermiştir (Sankawa et al, 1977). *Arnebia hispidissima* ekstresinin Ehrlich ascites carcinoma hücrelerine karşı in vitro kullanımının sitotoksik aktivitesi test edilmiştir. Buna göre 1000 μg 'da %95-100, 100 μg 'da %65-94, 10 μg 'da %25-49 tümör hücrelerinin in vitro yaşama kabiliyetini engellemiştir (Wassel et al, 1987).

Naftakinonların biyolojik aktivitelerinde kayıplar özellikle ışık, hava ve ısının etkisiyle oluşan polimerizasyonlarda görülmüştür. Bu nedenle izolasyon esnasında farmakolojik aktiviteleri göz önünde bulundurularak polimerizasyonu en az düzeye indiren izolasyon yöntemi seçilmelidir (Papageorgiou 1980, Papageorgiou et al, 1980).

Boraginaceae familyası üyelerinin sahip olduğu bu özellikler nedeniyle üyelerinin farmakolojik özellikleri araştırılarak tedavi alanına sunulması çalışmaları halen sürmektedir.

2.3. Aflatoksinler ve Etkileri

Gıda maddelerinin insan sağlığı açısından mikroorganizmalarla bulaşmamış ve kalite yönünden yüksek standartlara uygun olması gerekmektedir. Gıda maddelerinin üretimi ve saklanması uygun sıcaklık ve nemde birtakım küfler üreyebilir. Küflerin metabolizması sonucu oluşan metabolitlerin bazıları insan sağlığını olumlu yönde etkilerken (antibiyotikler gibi), bazıları da olumsuz yönde etkilemektedirler. Bunlar mikotoksinlerdir (1,4, 14, 16, 21, 22).

Mikotoksinlerin en önemlilerinden aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* funguslarının ikincil metabolit ürünleridir. Aflatoksinlerin hepsi toksik olup toksisite şiddeti ise $B_1 > B_2 > G_1 > G_2$ şeklindedir (6-8, 22, 23, 34).

Aflatoksinler insan ve hayvan sağlığını tehdit ettiğinden bazı ülkeler ithal ettikleri gıda maddeleri ve yemler için aflatoksin yönünden belirli sınır değerler koymuşlar ve bu sınırları aşan gıda maddeleri veya yemleri iade yoluna gitmişlerdir (Detroy, 1971).

Aflatoksinler bilinen en önemli doğal kanserojenlerdir. En büyük tehlikesi karaciğer kanseri ağısındanandır. Uzun süre düşük dozda gıda veya solunum yoluyla alındıklarında özellikle insanlarda karaciğer kanseri riskini artırmaktadırlar (1, 58, 62). Hayvan deneylerinde, uzun süre, toksik dozun altında verilen aflatoksinlerin karaciğerde hepatosit hücreleri tarafından diğer aflatoksinlere dönüştürüldüğu, bir kısmının idrarla atıldığı, bir kısmının da karaciğer hücre infiltrasyonu, hepatik nekroz, safra kanalı proliferasyonu, parankimal dejenerasyon, böbrek adenomları meydana getirdikleri saptanmıştır (6, 15, 22, 27, 34).

Yine aflatoksinlerle yapılan çalışmalarda, bunların mutajenik etkiye sahip olduğu ve kromozomlarda kromatid tipi kırıklara sebep olduğu (Başaran ve ark, 1991), sister chromatid exchange frekansında artış yaptığı ve bu artışın aflatoksin verilmesinden 6 ile

24 saat arasında en yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır (12, 14, 26, 42, 43, 52, 56). Altı ile 12 hafta aflatoksin verilen farelerde % 14 kromatid tipi kırık görüldüğü, aflatoksinle birlikte C vitamini verildiğinde bu oranın düştüğü bildirilmiştir (Bose et al, 1991). Yine tek doz aflatoksinin oluşturduğu kromatid tipi kırıkları yeşil çay (Ito et al, 1989) ve Ecballium elaterium'un (Başaran ve ark, 1991) azalttığı bildirilmektedir. Ayrıca 15 mg/kg A. densiflora kök ekstresinin kısmen kırıkları önlediği bildirilmiştir (Çakmak ve ark, 1993). Sarımsaktan elde edilen ve bağışıklık sisteminde rol oynayan allixin'in aflatoksinin sebep olduğu mutajenezisi azalttığı ve kanserin önlenmesinde faydalı olabileceği bildirilmektedir (Yamasaki et al, 1991).

Aflatoksinlerin eritrositlerin ve lökositlerin miktarını doza bağlı olarak azalttığı, lökositlerden nötrofil, bazofil ve eozinofil yüzdelerini artırdığı, lenfosit ve monosit yüzdelerini ise azalttığı saptanmıştır (14, 19, 44-46). Başka bir çalışmada aflatoksinli yemle beslenen domuzlarda eritrosit ve lökosit yüzdelerinde bir artış gözlenmiştir (Harvey et al, 1988).

Aflatoksin verilen deney hayvanlarında solunum enzimlerinin azaldığı, oksidasyon olaylarının yavaşladığı, glomerular filtrasyon hızının azaldığı buna karşılık elektrolitlerin idrarla atılımının arttığı saptanmıştır (Chattopadhyay et al, 1985).

Aflatoksinle yapılan çalışmalarda serumda albumin, globulin ve total protein seviyesinde azalma, serum enzimlerinden ASP, SGOT, SGPT seviyelerinde artma, ALP seviyesinde ise azalma, yine piliçlerin iskelet kası ve karaciğer lizozomal enzimlerinin spesifik aktivitelerinde aşırı bir artma olduğu bildirilmiştir (14, 16, 17, 25, 26, 41).

Aflatoksinlerin organizmada meydana getirdiği bozuklukların mekanizmasında, önce DNA'ya bağlanarak DNA'nın replikasyonunu ve transkripsiyonunu engellediği, dolayısıyla protein sentezini azalttığı bildirilmektedir (Tjalve et al, 1992, Yamasaki et al, 1991).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney hayvanları

Bu çalışmada Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı hayvan laboratuvarımızda üretilen 42 adet 6 aylık 256.91 ± 2.99 g dişi *Rattus norvegicus* türü albino sıçan kullanıldı. Havalandırma ve diğer temizlik kurallarına dikkat edilerek üretilen sıçanlara deney süresince yeterince standart kapsül fare yemi ve musluk suyu verildi.

3.1.2. Kimyasal maddeler

- Arnebia densiflora katı ekstre (TBAM'dan temin edildi)
- Sıvı yağ (Zeytinyağı) (OLİN)
- Aflatoksin B₁ (Sigma)
- Dimethyl sulphoxide (Merck)
- Colcemid (Sigma)
- Eter (Yerli)
- Giemsa Solusyon (Merck)
- Distile su
- Bouin Calf Serum (Gibco)
- Ksilol (Merck)
- Entellan (Merck)
- Timol (Merck)

- Pikrik asit (Merck)
- Sodyum hidroksit (Merck)
- Hidroklorik asit (Merck)
- Kreatinin (Merck)
- Baryum hidroksit (Merck)
- Çinko sülfat (Merck)
- Üreaz (Merck)
- Gliserin (Merck)
- İyot (Yerli)
- Potasyum iyodür (Merck)
- Üre (Panreac)
- Civa (Yerli)
- Sülfürik asit (Merck)
- Sodyum tungstat (Merck)
- Sodyum karbonat (Merck)
- Fosforik asit (Merck)
- Lityum sülfat (Merck)
- Okzalik asit (Merck)
- Amonyum okzalat (Merck)
- Glacial asetik asit (Merck)
- Kalsiyum klorür (Merck)
- Trikloroasetik asit (Merck)
- Amonyum molibdat (Riedel de Haein)
- Potasyum di hidrojen fosfat (Merck)
- Askorbik asit (Merck)
- Metanol (Merck)
- Alkol (Yerli)
- Serum fizyolojik
- Transaminazlar (SGOT-SGPT) (Chroma test)
- Alkalen Fosfataz (ALP) (Chroma test kit)
- Asit Fosfataz (ASP) (Chroma test kit)
- Tampon buffer

3.1.3. Aygıtlar

- Spektrofotometre (Spectronic 20, Digital)
- Etüv (Nüve EN 400)
- Çeker ocak
- Hematokrit cihazı (Nüve NT 715)
- Buzdolabı
- Su bonyosu (Electro-Mag)
- Santrifüj (Nüve)
- Elektrolit analizör (Beckman E 2A)
- Hassas terazi (Mettler PE 3600)
- Mikroskop (Karl Zeis)
- Tüp karıştırıcı (Whirlimixer) (Restch)
- Manyetik karıştırıcı (Nüve)
- pH metre (Schott-Mainz CG 710)
- Distile su cihazı (Nüve NS 212)
- Otomatik pipet (Gilson, Brand)
- Laboratuvar saati
- Hayvan operasyon takımı (makas, pens, bistüri vs.)
- Hayvan üretme kafesi
- İdrar toplama kafesi
- 10 ml'lik santrifüj tüpü
- Spektrofotometre tüpü
- Çeşitli boy tüpler
- Çeşitli boy kapaklı renkli şişe
- Çeşitli boy beher
- Cam fanus
- Şale
- Lam, lamel
- Otomatik pipet (Gilson Brand)

- Pastör pipeti
- Kılcal pipet
- Pipet (10 ml)
- Enjektör (1 ml, 5 ml, 10 ml)
- Bageet
- Tüplük
- Maske, eldiven
- Parafilm

3.2. Yöntem

3.2.1. Uygulanan doz miktarı

Deneye alınan sıçanların vücut ağırlıkları tespit edilerek verilecek doz miktarları saptandı ve tek doz halinde intraperitoneal olarak;

- I. Gruba (Kontrol) 0.3 ml serum fizyolojik,
- II. Gruba (Kontrol) 0.3 ml sıvı yağ,
- III. Gruba (Kontrol) 0.3 ml dimethyl sulphoxide,
- IV. Gruba 2 mg/kg AfB₁ (dimethyl sulphoxide/serum fizyolojik (1/3 : V/V) içinde çözündürülerek),
- V. Gruba 4 mg/kg Arnebia densiflora katı ekstresi (sıvı yağ içinde çözündürülerek),
- VI. Gruba 2 mg/kg aflatoksin B₁ ile 4mg/kg A. densiflora ekstresi aynı anda verildi.

3.2.2. Kromozom elde etme yöntemi

İnsan ve diğer canlıların kromozomlarını inceleyebilmek için aranan ilk koşul hücrelerin bölünme döneminde olmasıdır. Bu

özelliğindeki hücreler;

a) İn vivo

b) İn vitro

olmak üzere başlıca iki yoldan elde edilebilir in vivo yöntemde dış uyarana gerek kalmaksızın sürekli bölünen hücreler (örneğin, kemik iliği hücreleri) kullanılır. İn vitro yöntemde ise vücuttan alınan hücreler (örneğin, lenfositler) önce yapay uyarıcılarla mitoz bölünmeye sokulur ve ondan sonra kullanılır.

Bu çalışmada da bu amaçla en çok kullanılan materyallerden biri olan kemik iliği hücrelerinden kromozom elde etmek için aşağıdaki işlemler yapıldı (Başaran, 1984).

3.2.2.1. Kemik iliğinin elde edilmesi

a- Sıçanlarda enjeksiyonu takip eden 16. saatte 4 mg/kg colcemid i.p. olarak verildi.

b- 2 saat sonra eter anestezisi altında bayıltılan sıçanların tibia ve pelvisi kesilerek femur kemikleri çıkarıldı. Femurun proksimal ucu, ilik kanalı görülebilecek şekilde kesildi.

c- Daha önce 37°C su banyosunda ısıtılmış Bouin Calf Serum örnek sayısı kadar enjektöre 3 ml çekildi.

d- 3 ml Bouin Calf Serum çekili enjektör ucu kemik iliği kanalına sokularak mümkün olan tüm kemik iliği çekildi.

3.2.2.2. Hipotonik uygulama ve fiksasyon

a- Örnek sayısı kadar numaralanmış 10 ml santrifüj tüplerine kemik iliği+Bouin Calf Serum karışımı aktarıldı ve 1200 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi.

b- Santrifüj sonrası tüplerdeki süpernatant bir pastör pipeti yardımıyla atıldı.

c- Kalan hücre pelletine, 5 ml 0.075 M KCl (Çalışmadan önce 37°C etüvde bekletildi) damla damla yavaş ayarlı whirlimixerde ilave edildi ve 20 dakika 37°C etüvde bekletildi.

d- Süre sonunda 1200 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi.

e- Santrifüj sonrası tüplerdeki süpernatant bir pastör pipeti yardımıyla atıldı.

f- Taze hazırlanmış Carnoy fiksatifin (3 hacim metanol, 1 hacim asetik asit) den 5 ml yavaş ayarlı whirlimixerde damla damla ilave edildi.

g- 1200 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi.

ğ- Santrifüj sonrası tüplerde üstte biriken süpernatant bir pastör pipeti yardımıyla atıldı.

h- Tekrar taze Carnoy fiksatifi (3 hacim, metanol, 1 hacim asetik asit) 5 ml olacak şekilde tüplerdeki hücre pelletine ilave edildi.

ı- 30 dakika buzdolabında bekletildi.

i- Süre sonunda 1200 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi.

j- Santrifüj sonrası tüplerdeki süpernatant bir pastör pipeti yardımıyla atıldı.

3.2.2.3. Lamların ve preparatların hazırlanması

Daha önce 1 gece 5 hacim alkol, 5 hacim eter karışımında bekletilen lamlar temizlendi, kurulandı. Distile su dolu bir kavanoza yerleştirildi. 1 gece bekleyen bu lamlara, her bir hayvandan 3 preparat olacak şekilde, steril bir pastör pipeti yardımıyla hücre süspansiyonu 25-30 cm yükseklikten püskürtülerek yayıldı. Lamlar 1 gece oda ısısında kurutuldu.

3.2.2.4. Boyama

a- Kromozomlar %5'lik Giemsa (95 ml distile su+5 ml Giemsa bagetle karıştırılarak hazırlandı) ile boyandı. pH 7 olmasına dikkat edildi.

b- Hazırlanan bu solüsyon bir şale'ye (dikey boyama kabı) konuldu, preparatlar buraya dizilerek 5 dakika boyandı.

c- Boyadan çıkan preparatlar distile sudan geçirildi. Oda ısısında kurutuldu.

d- 10 dakika Xylol'de bekletildi.

e- Entellan damlatılarak lamel kapatıldı.

f- Hazırlanan preparatlarda taşma oldu ise lamaların arka yüzü metanolle temizlendi.

g- Hazırlanan preparatlar etiketlendi.

3.2.2.5. Değerlendirme

Kromatid tip kırık sayısı yönünden karşılaştırılmak üzere herbir örnek için hazırlanan 3 preparattan toplam 200 metafaz plağı sayıldı. Kırık tesbit edilen metafaz plağı sayısı belirlendi.

3.2.3. Hematokrit ve lökosit sayımı

Enjeksiyonu takip eden 18. saat sonunda eter anestezisi altındayken karın göğüs bölgesi açılan herbir sıçanın kalbinin sol ventrikülünden enjektörle alınan kan örneklerinin hematokriti tayin edildi ve lökosit sayımı içinde yayma preparatlar yapıldı.

3.2.3.1. Hematokrit

Heparinli kılcal pipetlere alınan kan hematokrit cihazında (Nüve NT 715) ölçüldü.

3.2.3.2. Lökosit sayımı

Lökosit sayımı için preparatların hazırlanması

1- Lamlar bir gece alkol / eter (5/5, V/V) karışımında bekletildi.

2- Karışımdan çıkarılan lamlar temizlendi, kurulandı.

3- Lamin bir yanına konan bir damla kan diğer bir lam ile 45° lik açı yapacak şekilde bir defada düzgünce bir uçtan diğer uca doğru itildi.

4- Lamlar daima kenarlarından tutuldu.

5- Boyama tepsisine alınan lamlar, 5 dakika oda ısısında kurutuldu.

6- Üzerlerine metanol (%100) gezdirilerek (1-5 dk) tespit yapıldı.

7- Sonra bu lamlar distile suda yıkandı.

8- 1 ml Giemsa stok solüsyonu ile 9 ml distile su karıştırılarak hazırlanan boya, lamların üzerine dökülerek 30 dakika boyanması sağlandı.

9- Boyanan lamlar, çeşme suyu ile yıkanarak oda ısısında kurutuldu.

10- Hazırlanan preparatlar mikroskopta değerlendirildi.

3.2.4. İdrarda yapılan işlemler

3.2.4.1. İdrarın toplanması

Enjeksiyonları yapılan sıçanlar gruplarına göre etiketlenen, idrar toplama kafeslerine alındı ve 18 saatlik idrarları toplandı. İdrar toplama işlemi süresince sıçanlara yem verilmedi, fakat yeterince su içmeleri sağlandı.

3.2.4.2. İdrarın saklanması

18 saat sonra etiketli küçük renkli şişelerde toplanan idrarların her biri ayrı ayrı santrifüj tüplerine aktararak 2000 rpm

de 5 dakika santrifüj edildi. Tortusu giderilen idrarların hacimleri ölçüldü. pH metre ile her örneğin pH'sı belirlendi. Herbir şişeye koruyucu olarak birkaç timol kristali atıldı.

3.2.4.3. Spektrofotometrik ölçümler

Çalışmada kullanılan tüm cam malzemelerin temizliğine dikkat edildi. Özellikle spektrofotometreye ait tüpler özenle yıkanıp distile sudan geçirildi, ters çevrilerek tüplükte kurutuldu.

Spektrofotometre kullanımdan 30 dakika önce açılarak ısınması sağlandı.

Hassas ölçümler için otomatik ayarlı pipetler kullanıldı.

Üre azotu:

Üreaz-Nesslerizasyon yöntemi ile ürenin üreaz enzimiyle parçalanarak amonyum karbonata çevrilmesi ve bunun da Nessler ayıracağı ile oluşturduğu sarı renkli kompleksin kolorimetrik olarak ölçümü esas alındı (Özkan ve Türkvan 1977, Yenson 1982).

a. Çözeltiler

1- 0.3 N Baryum hidroksit çözeltisi: 1 litrelik behere 600 ml distile su konup 5 dak. kaynatıldı. 45 g $Ba(OH)_2$ eklenip çözününceye kadar yine kaynatıldı. Distile su ile 1000 ml ye tamamlandı.

2- %5 lik çinko sülfat çözeltisi: 5 g çinko sülfat distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

3- Üreaz çözeltisi: 67 ml gliserin, 2 g üreaz ve 37 ml distile su iyice karıştırıldı. Kullanmadan hemen önce şişe çalkalandı.

4- İyot çözeltisi: 3 g potasyum iyodür ile 2 g iyot, distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

5- Üre azotu standart çözelti: 50 mg üre distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

6- Nessler çözeltisi: 30 g potasyum iyodür 20 ml distile suda çözündürüldü. İçine 22.5 g iyot eklendi. Sonra 30 g civa eklenip iyice çalkalandı. Arada musluk altında soğutuldu. Yeşilimsi renk oluşuktan sonra distile su ile 200 ml ye tamamlandı. 975 ml %10 NaOH çözeltisi eklendi, kendi haline bırakıldı, çökelek oluşuktan sonra üstteki berrak sıvı kullanıldı.

b. Spektrofotometrede okuma

1- Yeterli sayıda santrifüj tüpü blank, standart ve örnekler şeklinde işaretlendi, tüplüğe yerleştirildi.

2- Blank tüpüne 3 ml distile su, standart tüpüne 2.8 ml distile su ile 0.2 ml standart çözelti, örnek tüplerine de 2.8 ml distile su ile 0.2 ml 1/10 dilue idrar örnekleri pipetlendi.

3- Tüplerin hepsine 0.2 ml üreaz eklenip karıştırıldı (Üreaz çözeltisi viskoz olduğu için geniş ağızlı pipet ucu kullanıldı).

4- Tüpler 56°C su banyosunda 11 dakika inkübe edildi.

5- Su banyosundan çıkarılan tüplere sırayla 0.4 ml Ba(OH)₂ ve 0.4 ml çinko sülfat çözeltisi pipetlendi.

6- Tüpler karıştırıldı.

7- 5000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi.

8- Santrifüj tüplerindeki süpernatantlardan sırayla 1 ml alınarak numaralandırılmış spektro tüplerine pipetlendi.

9- Tüplerin hepsine 4 ml distile su eklendi.

10- Üzerlerine bir damla iyot çözeltisi damlatılıp 0.5 ml Nessler çözeltisi pipetlendi.

11- Tüpler whirlimixerde karıştırılıp, oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.

12- Spektrofotometre 480 nm dalga boyunda blank tüpü ile sıfırlandı, standart ve örnek tüplerinin absorbanları okundu. Okuma iki kez yapıldı.

c. Sonucun değerlendirilmesi

$$\frac{A_{\text{Örnek}}}{B_{\text{Standart}}} \times 20 = \dots \text{ mg/dl üre azotu}$$

formülüne göre elde edilen sonuç 10 ile çarpıldı.

Kalsiyum:

Kalsiyum iyonlarının okzalat iyonu ile birleşerek kalsiyum okzalat halinde çökmesi sonucu oluşan bulanıklığın turbidimetrik olarak ölçümü esas alındı (36, 60, 61).

a. Çözeltiler

1- Sulkowitch çözeltisi: 2.5 g okzalik asit ile 2.5 g amonyum okzalat, 100 ml distile suda çözündürüldü, 5 ml glacial asetik asit eklendi. Distile su ile 150 ml ye tamamlandı.

2- Kalsiyum standart çözelti: 54.5 mg kalsiyum klorür distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

b. Spektrofotometrede okuma

1- Blank tüpüne 7 ml, standart tüpüne 3 ml, örnek tüplerine 4 ml distile su pipetlendi.

2- Örnek tüplerine 1 ml idrar eklendi.

3- Standart tüpüne 2 ml standart eklendi.

4- Standart ve örnek tüplerine 2 ml Sulkowitch çözeltisi pipetlendi.

5- Tüpler arada karıştırılarak oda ısısında 30 dak. inkübe edildi.

6- Spektrofotometre 520 nm dalga boyunda blank tüpü ile sıfırlandı. Standart ve örnek tüplerinin absorbanları okundu.

c. Sonucun değerlendirilmesi

$$\frac{A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Standart}}} \times 20 = \dots \text{ mg/dl kalsiyum}$$

formülüne göre hesaplandı.

Fosfor:

Trikloroasetik asitin (TCA) plazmadaki fosfor molibdik asitle sarı renkli fosfomolibdik asiti oluşturur. Bu da indirgeyici askorbik asit ile molibden mavisine indirgenir. Oluşan mavi rengin kolorimetrik ölçümü esas alındı (36, 60, 61).

a. Çözeltiler

1- %20 TCA çözeltisi: 20 g TCA distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

2- Molibdik asit çözeltisi: 1.25 g amonyum molibdat 2.5 N sülfürik asit (H₂SO₄) solüsyonu (7 ml H₂SO₄ distile su 100 ml ye tamamlanır) ile 100 ml ye tamamlandı.

3- Fosfor standart çözelti: 0.219 g Potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) distile su ile 1000 ml ye tamamlandı.

4- %1 askorbik asit çözeltisi: 0.25 g askorbik asit distile su ile 25 ml ye tamamlandı (Taze hazırlanır).

b. Spektrofotometrede okuma

1- Numaralandırılmış santrifüj tüplerine 1/10 dilue idrar örneklerinden 0.5 ml pipetlendi.

2- Tüplere sırayla 2.5 ml distile su ve 2 ml TCA çözeltisi eklendi.

3- Tüpler whirlmixerde karıştırılıp oda ısısında 10 dak.

inkübe edildi.

4- 5000 rpm de 5 dak. santrifüj edildi.

5- Santrifüj tüplerindeki süpernatantlardan 2 ml numaralandırılmış örnek tüplerine pipetlendi. Blank ve standart tüplerine ise 2 ml TCA çözeltisi pipetlendi.

6- Blank ve örnek tüplerine 3 ml distile su, standart tüpüne ise 2.5 ml distile su ve 0.5 ml standart pipetlendi.

7- Bütün tüplere sırayla 1 ml molibdik asit çözeltisi ve 0.25 ml askorbik asit çözeltisi eklendi.

8- Tüpler whirlimixerde karıştırılıp oda ısısında 10 dak. inkübe edildi.

9- Spektrofotometre 660 nm dalga boyunda blank tüpü ile sıfırlandı, standart ve örnek tüplerinin absorbansları okundu.

c. Sonucun değerlendirilmesi

$$\frac{A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Standart}}} \times 5 = \dots \text{ mg/dl fosfor}$$

Formülüne göre hesaplanarak sonuçlar 10 ile çarpıldı.

Ürik asit:

Modifiye Caraway yöntemi ile ürik asidin hafif asidik ve sodyum karbonatlı ortamda fosfotungstik asidi indirgeyerek oluşturduğu mavi rengin kolorimetrik olarak ölçümüne göre yapıldı (Özkan ve Türkvan 1977, Yenson 1971).

a. Çözeltiler

1- 0.66 N H₂SO₄ solüsyonu: 33.68 ml H₂SO₄ distile su ile 1000 ml ye tamamlandı.

2- %10 sodyum tungstat çözeltisi: 10 g sodyum tungstat distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

3- %14 sodyum karbonat çözeltisi: 14 g sodyum karbonat distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

4- Fosfotungstat çözeltisi: 30 g sodyum tungstat, 32 ml %85 fosforik asit ve 300 ml distile su, dik soğutucuda iki saat kaynatıldı. İndirip soğutuldu, 350 ml distile su eklendi. Bu arada 100 ml distile suda çözündürülen 16 g lityum sülfat, önceki karışıma eklendi. Tüm karışım distile su ile 1000 ml ye tamamlandı. Filtre kağıdından süzüldü.

b. Spektrofotometrede okuma

1- Numaralandırılmış santrifüj tüplerine 1/10 dilue idrar örneklerinden sırayla 0.5 ml pipetlendi.

2- Bütün tüplere sırayla 8.5 ml distile su, 0.5 ml H_2SO_4 solüsyonu ve 0.5 ml sodyum tungstat çözeltisi eklendi.

3- Tüpler whirlimixerde karıştırılıp oda ısısında 10 dak. inkübe edildi.

4- 5000 rpm de 5 dak. santrifüj edildi.

5- Blank tüpüne 4 ml distile su, örnek sayısınca numaralanan tüplere santrifüj tüplerindeki süpernatantlardan 4 ml pipetlendi.

6- Bütün tüplere sırayla 1.5 ml sodyum karbonat çözeltisi ve 1 ml fosfotungstat çözeltisi eklendi.

7- Tüpler whirlimixerde karıştırılıp oda ısısında 15 dak. inkübe edildi.

8- Spektrofotometre 700 nm dalga boyunda blank tüpü ile sıfırlandı, örnek tüplerinin transmittansları okundu.

9- Transmittans cetveline karşılık gelen %mg değer bulundu. Sonuç 10 ile çarpıldı (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Ürik asit standardına göre hesaplanan transmitans değerleri

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
40	14.5	14	13.5	13	13.2	12.5	12	11.5	11.3	11.9
50	11	10.6	10.2	9.8	9.3	9.5	8.9	8.3	7.7	7.7
60	7.5	7.6	7.2	6.8	6.7	6.2	6	5.7	5.6	5.5
70	5.5	5.2	5	4.8	4.6	4.5	4.1	3.7	3.7	3.2
80	3	2.6	2.4	2	1.6	1.2	1.1	0.9	0.8	0.7
90	0.5	0.3	0.1	0.09	0.07	0.05	0.04	0.02	0.01	

Sodyum:

Elektrolit analizör (Beckman E 2A) ile ölçüldü. Sonuçlar mEq/L olarak kaydedildi.

Potasyum:

Elektrolit analizör (Beckman E 2A) ile ölçüldü. Sonuçlar mEq/L olarak kaydedildi.

Kreatinin:

Alkalin pikrat yöntemi ile kreatinin'in alkalik ortamda pikrik asiti pikramik aside çevirmesi (Jaffe reaksiyonu) sonucu oluşan turuncu rengin kolorimetrik olarak ölçümü esas alındı (Yenson 1982).

a. Çözeltiler

1- Pikrik asit çözeltisi: 9.16 g pikrik asit distile su ile 1000 ml'ye tamamlanıp hafif ısıtıp karıştırarak çözündürüldü. Filtre edildi.

2- Sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi: 3 g NaOH distile su ile 100 ml ye tamamlandı. Filtre edildi.

3- Hidroklorik asit (HCl) solüsyonu: 18 ml HCl distile su ile 2000 ml ye tamamlandı.

4- Stok kreatinin standart çözeltisi: 1.131 g kreatinin 3. maddedeki HCl solüsyonunun 1000 ml'sinde çözündürüldü (4°C'de saklanır).

b. Spektrofotometrede okuma

1- Stok kreatinin standart çözeltisinin 1 ml'si 100 ml ye tamamlanır (dilue standart).

2- İdrar örneklerinin 0.5 ml'si distile su ile 50 ml ye tamamlandı (dilue idrar 1/10).

3- Blank tüpüne 3 ml distile su, standart tüpüne 3 ml dilue standart çözelti, numaralandırılmış örnek tüplerine 3 ml dilue idrar örnekleri pipetlendi.

4- Bütün tüplere sırayla 1 ml pikrik asit çözeltisi pipetlendi.

5- Yine bütün tüplere sırayla 1 ml NaOH çözeltisi pipetlendi.

6- Tüpler whirli mixerde karıştırıldıktan sonra oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.

7- Spektrofotometre 500 nm dalga boyunda, blank tüpü ile sıfırlandıktan sonra bütün tüplerin absorbanları okundu. Okuma işlemi iki kez yapıldı.

c. Sonucun değerlendirilmesi

$$\frac{A_{\text{Örnek}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Standart}} - A_{\text{Blank}}} \times 10 = \dots \text{ mmol/l kreatinin}$$

$$\frac{\dots \text{ mmol/l} \times 113.2}{10} = \dots \text{ mg/dl kreatinin}$$

A = Absorbans

formülüne göre yapıldı, daha sonra mg/dl cinsinden sonuç hesaplandı.

Serum Kreatinin:

İdrarda olduğu gibi burada da kreatinin alkalik ortamda pikrik asidi pikramik aside çevirmesi sonucu oluşan turuncu rengin kolorimetrik ölçümü esas alındı (Yenson, 1982).

a. Çözeltiler

1- % 1.4 Pikrik asit çözeltisi: 1.4 g pikrik asit distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Hafif ısıtılarak çözündürüldü. pH:3.8'e ayarlandı (pH metre NaOH ile ayarlandı).

2- 2.5 N NaOH çözeltisi: 10 g NaOH distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

b. Spektrofotometrede okuma

1- Numaralanmış santrifüj tüplerine serum örneklerinden 1 ml pipetlendi. Üzerlerine 3 ml pikrik asit çözeltisi eklendi.

2- 5000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi.

3- Blank tüpüne 0.5 ml distile su ve 1.5 ml pikrik asit çözeltisi pipetlendi.

4- Örnek tüplerine santrifüj tüplerindeki süpernatantlardan 2 ml pipetlendi.

5- Blank ve örnek tüplerine 0.2 ml NaOH çözeltisi pipetlendi.

6- Bütün tüpler whirlimixerde karıştırılıp oda ısısında 20 dakika bekletildi.

7- Spektrofotometre 520 nm dalga boyunda blank tüpü ile sıfırlandı, örnek tüplerinin transmittansları okundu.

8- Okunan değerler çizelge 3.2.'den bulundu.

Çizelge 3.2. Serum kreatinin transmittans değerleri

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	7.4	7.2	7.0	6.9	6.8	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3
20	6.2	6.2	6.0	5.8	5.65	5.5	5.3	5.2	4.9	4.8
30	4.6	4.5	4.4	4.35	4.15	4.05	3.95	3.8	3.7	3.65
40	3.5	3.45	3.35	3.3	3.2	3.1	3.0	2.95	2.85	2.75
50	2.7	2.65	2.55	2.45	2.4	2.35	2.25	2.2	2.1	2.05
60	2.0	1.95	1.85	1.8	1.75	1.7	1.6	1.85	1.5	1.45
70	1.4	1.35	1.3	1.25	1.2	1.15	1.1	1.05	0.9	0.95
80	0.9	0.85	0.80	0.75	0.7	0.65	0.6	0.55	0.5	0.45
90	0.4	0.35	0.35	0.3	0.25	0.20	0.2	0.15	0.1	0.05

Kreatinin Klerensi:

İdrar kreatinin ve serum kreatinin değerlerinin hesaplanmasından sonra herbir örnek için aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Kreatinin klerensi} = \frac{U \times V}{P} = \dots \text{ mg/dk}$$

U : İdrar kreatinini(mg/dl)

V : 24 saatlik idrarın dakikadaki hacmi (ml)

(Herbir örnek idrarın, dakikadaki hacmi için, önce 24 saatlik hacmi hesaplandı. $24 \times 60 = 1440$ bu da idrar hacmi/1440=24 saatlik idrarın dakikadaki hacmi olarak bulundu).

P : Serum kreatinin (mg/dl)

3.2.5. Serumda yapılan işlemler

Enjeksiyonu takip eden 18. saat sonunda eter anestezisi altında göğüs bölgesi açılan sıçanın, kalbinin sol ventrikülünden enjektörle mümkün olan tüm kan çekilerek santrifüj tüpüne aktarıldı. Herbir sıçan için aynı işlem tekrarlandı. Santrifüj edilen kandan ayrılan serumda kreatinin, enzimlerden Transaminazlar (SGOT-SGPT), ALP ve ASP ölçümleri yapıldı.

Transaminazlar (SGOT-SGPT):

1- Örnek sayısı kadar büyük boy SGOT tüpü numaralanarak tüplüğe yerleştirildi.

2- SGOT tüplerine 0.5 ml (500 μ l) SGOT reaktifinden konuldu ve 37°C su banyosunda 5 dakika bekletildi.

3-SGOT tüplerine 100 μ l serum ilave edildi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 37°C su banyosuna 1 saat bekletilmek üzere yerleştirildi.

4- SGOT tüplerini su banyosuna yerleştirdikten 30 dakika sonra SGPT tüpleri numaralanarak hazırlandı. Bu tüplere de SGPT reaktifinden 0.5 ml (500 μ l) konularak 37°C su banyosunda 5 dakika bekletildi.

5- Sonra SGPT tüplerine de 100 μ l serum ilave ederek SGOT tüpleriyle arka arkaya gelecek şekilde su banyosuna yerleştirildi.

6- 30 dakika sonra SGOT ve SGPT tüpleri tüplükle beraber su banyosundan çıkarıldı. Böylece SGOT tüpleri 1 saat SGPT tüpleri 30 dakika su banyosunda kaldı.

7- Su banyosundan çıkan tüplere 500 μ l (color reagent) (DNPH) renk reaktifinden SGOT ve SGPT tüplerine konuldu. Tüpler iyice karıştırıldı.

8- Karıştırılan tüpler 20 dakika oda ısısında bekletildi.

9- Spektrofotometre 505 nm'ye ayarlandı.

10- Sonra bütün tüplere 5 ml 0.4 N NaOH konuldu (8 g NaOH alınır 500 ml distile su ile tamamlanır buzdolabında 1 yıl bekleyebilir).

11- Karıştırılan tüpler 15 dakika oda ısısında bekletildi.

12- Distile su ile 100 ayarı yapılan 505 nm'ye ayarlı spektroda örneklerin % transmittansları okundu.

13- Spektrofotometrede önce SGOT sonra SGPT okundu.

14- Okunan değerler aşağıdaki Çizelge 3.3. ve 3.4.'den bulundu.

Çizelge 3.3 Serum SGOT transmittans değerleri.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10						140	122	116	93	85
20	76	69	63	58	53	50	46	42	39	37
30	34	31	29	27	25	23	20	18	16	14
40	13	11	10	9	8	7	6	5	4.4	4
50	3	2	1	0						

Çizelge 3.4 Serum SGPT transmittans değerleri.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10						108	93	82	75	70
20	67	60	55	52	48	45	42	39	36	33
30	31	29	27	26	24	23	22	20	18	16
40	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6
50	5	3.5	3	2	1	0				

Alkalen Fosfataz (ALP):

1- ALP chromatest kitinden kullanıldı.

2- Substrat için kitin içinden 1 kapsül alındı. Kapsül içindeki toz 10.5 ml glycine buffer (glycocola) ile çözüldürüldü (1 kapsül 20 teste yeter ve 2 ay saklanabilir).

3- 20 mmol / l NaOH çözeltisi için 2 mol/l NaOH şişesinden 5 ml alındı. Distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

4-Hazır standart kullanıldı.

5-Tüpler Blank, Standart ve Örnek tüpleri olarak numaralandırıldı.

6- Blank tüpüne 500 μ l, standart tüpüne 500 μ l ve her bir örnek tüpüne de 500 μ l olmak üzere hazırlanan substrattan konuldu. Tüpler 37°C su banyosunda 5 dakika bekletildi.

7- Her bir örnek tüpüne 50 μ l serum konuldu.

8- Standart tüpüne 50 μ l standart konuldu.

9- Bütün tüpler 20 dakika oda ısısında bekletildi.

10- Bütün tüplere 20 mmol / lt NaOH'den 5 ml ilave edildi.

11- Spektrofotometre 405 nm'ye ayarlandı.

12- Blank ile spektrofotometre 0'ra ayarlandı.

13- Tüplerin absorbansları okundu.

14- Hesaplama
$$\frac{\text{Ornek (Spektroda okunan)}}{\text{Standart (Spektroda okunan)}} \times 50 = \dots \text{ U/L}$$

olarak yapıldı.

Asit Fosfataz (ASP):

1- Chroma test hazır kiti kullanıldı.

2- Buffer (1) solüsyonu için kitten 3 ml buffer solüsyonu alındı ve distile su ile 30 ml'ye tamamlandı.

3- Buffer (2) solüsyonu için buffer (1) solüsyonuna kitten 3 tablet atarak çözünmesi sağlandı (buzdolabında 1 hafta saklanabilir).

4- 0.02 N NaOH için kitle hazır konsantre NaOH solüsyonunun 10 ml'si 1000 ml redistile suya tamamlandı (buzdolabında 1 yıl saklanabilir).

5- Ölçüm için örnek sayısı kadar tüp yine aynı sayıda kör tüpü hazırlanarak numaralandırıldı.

6- Bütün tüplere buffer (2) solüsyonundan 1 ml konuldu.

7- Bütün tüpler 37°C su banyosunda 5 dakika bekletildi.

8- Örnek tüplerine 200 µl serum pipetlendi. Körlere birşey konulmadı.

9- Tüpler karıştırıldı.

10- 37°C su banyosunda 30 dakika bekletildi.

11- Su banyosundan çıkarılan örnek ve kör tüplerine 0.02 N NaOH den 10 ml ilave edildi.

12- Kör tüplerine 200 µl serum pipetlendi.

13- Bütün tüpler 10 dakika karıştırıldı.

14- Spektrofotometre 405 nm'ye ayarlandı.

15- Örneklerin absorbanları okundu.

16- Her bir örnek okunmadan önce o örneğin kör tüpü ile spektro sifıra ayarlandı ve hemen örnek konularak okundu.

17- Hesaplama: Örnek (spektroda okunan) x 101 = ... U/L olarak yapıldı.

Çalışmalar sonucu elde edilen tüm değerlere tek yönlü varyans analizi uygulandı ve belirlenen ortak varyans kullanılarak grupların önemliliğini belirlemede Fisher LSD testi uygulandı ve önemlilik için $p < 0.05$ düzeyi kullanıldı (Özdamar, 1989).

4. B U L G U L A R

Yapılan bu çalışma sonunda kontrol grubu olarak kabul ettiğimiz; serum fizyolojik verilen I. grup, A. densiflora'nın katı ekstreğini çözümlendiğimiz sıvı yağ verilen II. grup ve AfB₁'i çözümlendiğimiz DMSO verilen III. grup için ölçülen tüm parametre değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında beklenildiği gibi gruplar arasında önemli bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Bu nedenle deney gruplarından elde edilen parametre değerlerinin karşılaştırılmasında kontrol değerleri olarak I. grup göz önüne alındı.

4.1. Kromozomlar

Kromozomları kromatid tipi kırık yönünden değerlendirdiğimiz bu çalışmada kontrol ve deney gruplarında kromatid tipi kırık görülen metafaz plağı sayısı ve yüzde değerleri Çizelge 4.1. ve Şekil 4.3.'de görülmektedir.

Kromatid tipi kırık görülen metafaz plağı yüzde değerleri I. grupta (Kontrol) % 0.64 ± 0.18 , AfB₁ verilen IV. grupta % 20.50 ± 1.56 , A. densiflora verilen V. grupta % 1.64 ± 0.68 , Af B₁ + A. densiflora verilen VI. grupta ise % 23.50 ± 1.99 olarak bulundu. Kontrol grubu ile V. grup arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmezken ($p>0.05$), IV. grup ile VI. grupta görülen kırık yüzdesindeki artış kontrol grubuna göre oldukça önemliydi ($p<0.05$) (Şekil 4.1., Şekil 4.2.).

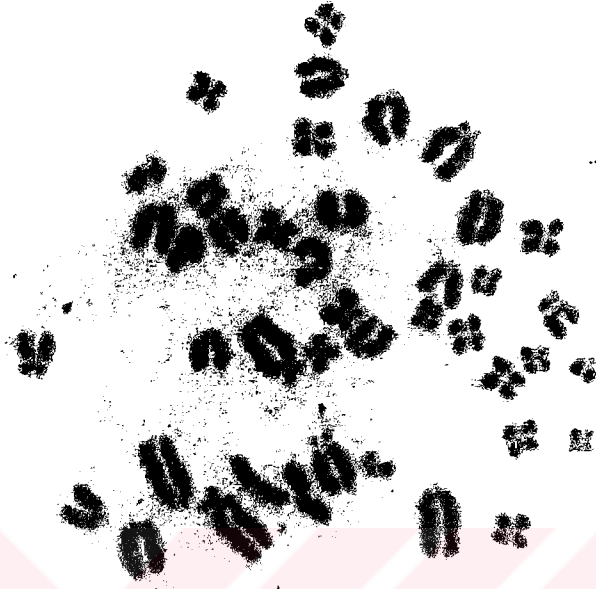
Çizelge 4.1. Kontrol ve deney gruplarının kromatid tipi kırık görülen metafaz plağı oranları ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar		n	Kırık Görülen Metafaz Plağı Sayısı	Kırık Görülen Metafaz Plağı Yüzdesi (%)
KONTROL	I. Grup (Serum fizyolojik)	7	1.29±0.36	0.64±0.18
	II. Grup (Sıvı yağ)	7	1.14±0.26	0.57±0.18
	III. Grup (DMSO)	7	1.14±0.40	0.57±0.20
DENEY	IV. Grup Af B ₁ (2 mg/kg)	7	41.00±3.12	20.50±1.56
	V. Grup A. densiflora (4 mg/kg)	7	3.29±1.36	1.64±0.68
	VI. Grup Af B ₁ + A. dens. (aynı oranda)	7	47.00±3.98	23.50±1.99

Gruplar	Kırık Görülen Metafaz Plağı Sayısı	Kırık Görülen Metafaz Plağı Yüzdesi
I. - II. Grup	n.s	n.s
I. - III. Grup	n.s	n.s
I. - IV. Grup	*	*
I.- V. Grup	n.s	n.s
I.- VI. Grup	*	*
IV.- V. Grup	*	*
IV.-VI. Grup	n.s	n.s
V.-VI Grup	*	*

n.s p>0.05 Gruplar arası önemlilik yok

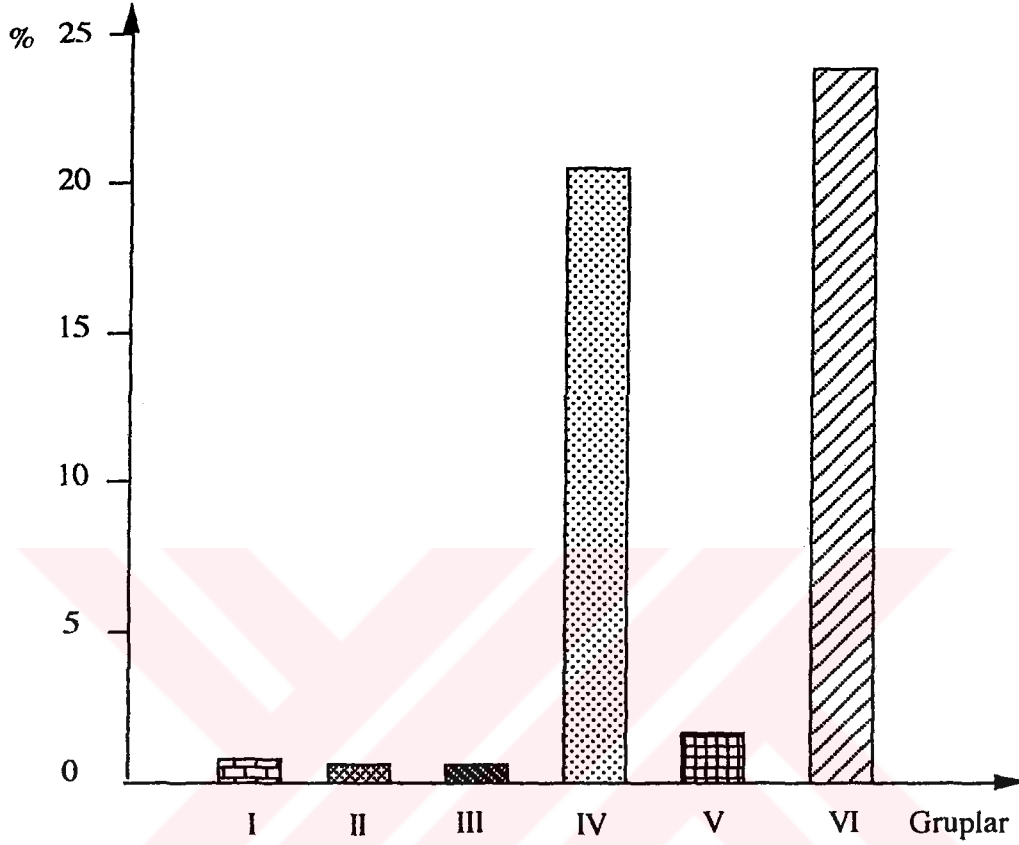
* p<0.05 Gruplar arası önemlilik var



Şekil 4.1. Kontrol grubu metafaz plağı.



Şekil 4.2. IV. grupta kromatid tipi kırık görülen metafaz plağı
(→ kromatid tipi kırık).



Şekil 4.3. Kontrol ve deney gruplarının kromatid tipi kırık görülen metafaz plağı yüzdeleri.

4.2. Hematokrit ve Lökosit Tipleri Yüzdeleri

Kontrol ve deney gruplarına ait hematokrit ve lökosit yüzde değerleri Çizelge 4.2. ve Şekil 4.4.'de görülmektedir.

Hematokrit değeri I. grupta (Kontrol) % 50.43 ± 0.84 , Af B₁ verilen IV. grupta % 53.14 ± 1.16 , A. densiflora verilen V. grupta % 51.57 ± 1.45 , AfB₁ + A. densiflora verilen VI. grupta ise % 51.57 ± 1.19 olarak bulundu. İstatistiksel olarak yapılan karşılaştırmada kontrole göre ve gruplar arasında önemli bir farklılık görülmedi ($p > 0.05$).

Çizelge 4.2. Kontrol ve deney gruplarının hematokrit, lökosit tiplerinin yüzde değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar		n	Hematokrit %	LÖKOSİT TIPLERİ		
				Lenfosit %	Monosit %	Nötrofil %
KONTROL	I. Grup (Serum fizyolojik)	7	50.43±0.84	64.06±3.16	4.44±1.12	30.93±2.42
	II. Grup (Sıvı yağ)	7	49.43±1.09	61.51±2.85	4.70±0.89	33.27±2.63
	III. Grup (DMSO)	7	48.29±0.89	62.14±2.64	3.56±0.62	33.57±2.66
DENEY	IV. Grup Af B ₁ (2 mg/kg)	7	53.14±1.16	60.44±3.28	3.33±0.71	35.84±3.10
	V. Grup A. densiflora (4 mg/kg)	7	51.57±1.45	79.46±2.20	2.60±0.22	17.70±2.13
	VI. Grup Af B ₁ + A. dens. (aynı oranda)	7	51.57±1.19	66.56±4.13	3.16±0.86	27.21±3.03

Gruplar	Hematokrit %	LÖKOSİT TIPLERİ		
		Lenfosit %	Monosit %	Nötrofil %
I. - II. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s
I. - III. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s
I. - IV. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s
I.- V. Grup	n.s	*	n.s	*
I.- VI. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s
IV.- V. Grup	n.s	*	n.s	*
IV.-VI. Grup	n.s	n.s	n.s	*
V.-VI Grup	n.s	*	n.s	*

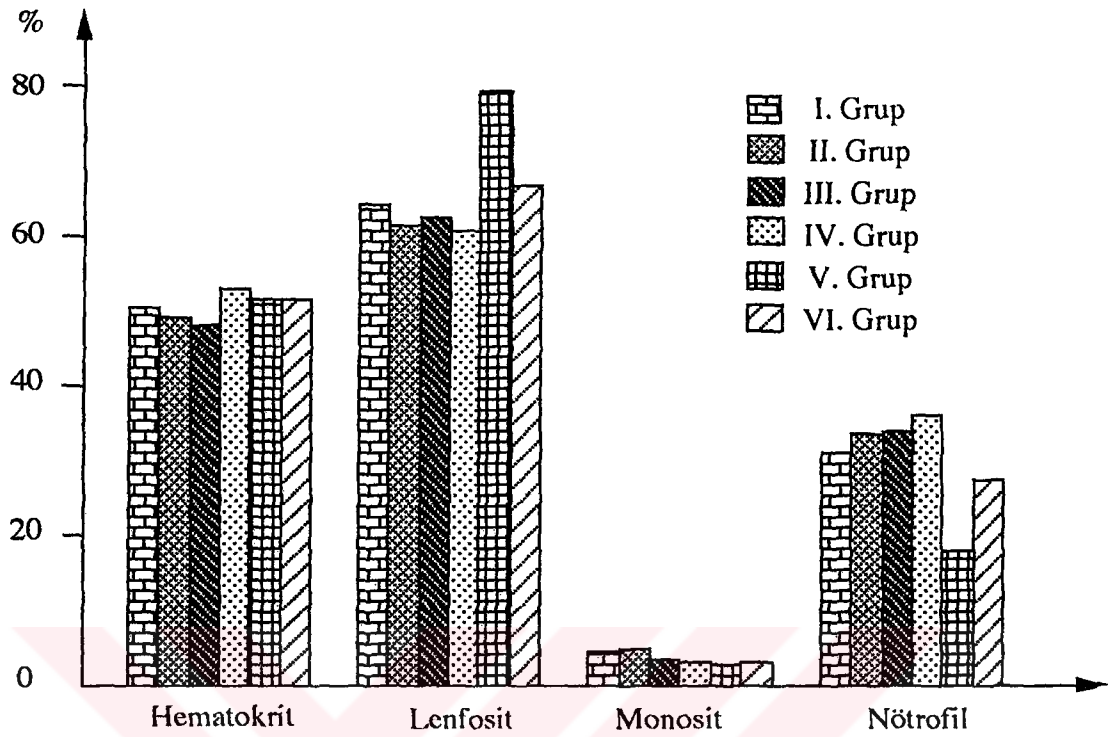
n.s p>0.05 Gruplar arası önemlilik yok

* p<0.05 Gruplar arası önemlilik var

Lenfosit yüzde değerleri I. grupta (kontrol) % 64.06 ± 3.16 , AfB₁ verilen IV. grupta % 60.44 ± 3.28 , A. densiflora verilen V. grupta % 79.46 ± 2.20 , AfB₁ + A. densiflora verilen VI. grupta ise % 66.56 ± 4.13 olarak bulundu. I. grup (kontrol) ile IV. ve VI. gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmezken, V. grubun lenfosit yüzde değerinde görülen artış kontrol ve diğer gruplara göre anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Monosit yüzde değerleri I. grupta (kontrol) % 4.44 ± 1.12 , AfB₁ verilen IV. grupta % 3.33 ± 0.71 , A. densiflora verilen V. grupta % 2.60 ± 0.22 , AfB₁ + A. densiflora verilen VI. grupta % 3.16 ± 0.86 olarak bulundu. İstatistiksel olarak yapılan karşılaştırmada kontrole göre gruplar arasında önemli farklılık görülmedi ($p > 0.05$).

Nötrofil yüzde değerleri I. grupta (kontrol) % 30.93 ± 2.42 , AfB₁ verilen IV. grupta % 35.84 ± 3.10 , A. densiflora verilen V. grupta % 17.70 ± 2.13 , AfB₁ + A. densiflora verilen VI. grupta ise % 27.21 ± 3.03 olarak bulundu. İstatistiksel olarak yapılan karşılaştırmada kontrole göre IV. grup ve VI. grup arasında önemli farklılık görülmedi ($p > 0.05$). Ancak A. densiflora verilen V. gruptaki nötrofil yüzde değerlerindeki düşme kontrole ve diğer deney gruplarına göre istatistiksel olarak önemliydi ($p < 0.05$).



Şekil 4.4. Kontrol ve deney gruplarının hematokrit ve lökosit tiplerinin yüzde değerleri.

4.3. İdrar Kompozisyonları Değerleri

Kontrol ve deney gruplarına ait 18 saatlik idrar hacmi, pH, üre azotu, kalsiyum, fosfor, ürik asit, sodyum, potasyum ve kreatinin ölçümüne ait değerler ile serum kreatinin ve kreatinin klerensi değerleri Çizelge 4.3.'de görülmektedir.

İdrar hacmi yapılan ölçümler sonunda I. grupta (kontrol) 9.14 ± 1.37 ml, AfB₁ verilen IV. grupta 6.71 ± 0.43 ml, A. densiflora verilen V. grupta 1.93 ± 0.13 ml, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta ise 6.00 ± 0.62 olarak bulundu. Kontrol ile IV ve VI. grup arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmezken ($p > 0.05$) V. grubun idrar hacmindeki azalma kontrol ve diğer deney gruplarına göre önemliydi ($p < 0.05$) (Şekil 4.5).

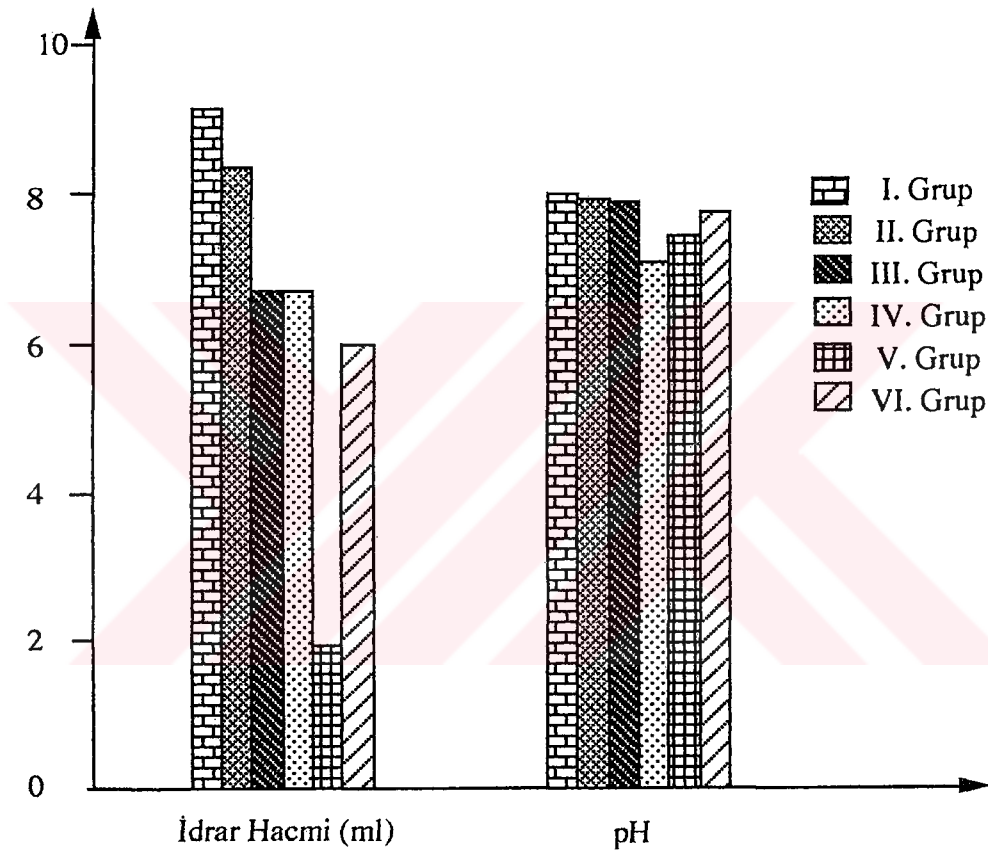
Çizelge 4.3. Kontrol ve deney gruplarının idrar kompozisyonlarına ait değerler ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	I D R A R										SERUM		Kreatinin Klerensi (mg/dk)
		Hacim (ml)	pH	Üre Azotu (mg/dl)	Kalsiyum (mg/dl)	Fosfor (mg/dl)	Ürik asit (mg/dl)	Sodyum (mEq/L)	Potasyum (mEq/L)	Kreatinin (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)		
I. Grup (Serum fizyolojik)	7	9.14±1.37	7.99±0.34	1572.5±152.0	13.98±1.23	67.87±7.2	9.00±0.53	23.33±2.35	47.71±4.28	48.72±5.46	3.70±0.25	0.08±0.01		
II. Grup (Sıvı yağ)	7	8.36±1.13	7.97±0.25	1558.1±138.8	13.55±1.28	66.67±7.2	8.86±0.74	22.93±2.05	47.23±4.08	48.56±5.45	3.69±0.19	0.07±0.01		
III. Grup (DMSO)	7	6.71±1.68	7.94±0.34	1683.4±171.0	13.85±1.32	67.46±6.9	8.57±0.53	24.27±2.25	45.64±2.04	50.78±4.17	3.64±0.11	0.07±0.02		
IV. Grup (Af B1) (2 mg/kg)	7	6.71±0.43	7.10±0.29	1376.4±110.6	11.27±1.66	71.30±4.8	13.29±1.60	32.37±3.63	64.30±3.96	60.10±10.84	3.89±0.42	0.07±0.01		
V. Grup (A. densiflora) (4 mg/kg)	7	1.93±0.13	7.44±0.16	2554.2±85.2	14.57±1.92	182.69±5.4	58.57±4.85	27.36±0.97	54.93±1.99	92.43±0.91	3.93±0.15	0.04±0.01		
VI. Grup (Af B1+ A. dens.) (aynı oranda)	7	6.00±0.62	7.74±0.38	2096.1±120.8	8.53±0.60	143.24±8.4	55.57±6.89	18.31±1.63	59.80±2.90	97.73±5.90	6.21±0.55	0.08±0.02		

Gruplar	I D R A R										SERUM		Kreatinin Klerensi (mg/dk)
	Hacim (ml)	pH	Üre Azotu (mg/dl)	Kalsiyum (mg/dl)	Fosfor (mg/dl)	Ürik asit (mg/dl)	Sodyum (mEq/L)	Potasyum (mEq/L)	Kreatinin (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)		
I. - II. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	
I. - III. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	
I. - IV. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	*	*	*	n.s	n.s	n.s	
I. - V. Grup	*	n.s	*	n.s	*	*	n.s	n.s	*	*	n.s	n.s	
I. - VI. Grup	n.s	n.s	*	*	*	*	n.s	*	*	*	*	n.s	
IV. - V. Grup	*	n.s	*	n.s	*	*	n.s	n.s	n.s	*	n.s	n.s	
IV. - VI. Grup	n.s	n.s	*	n.s	*	*	*	*	n.s	*	*	n.s	
V. - VI. Grup	*	n.s	*	*	*	n.s	*	*	n.s	n.s	*	n.s	

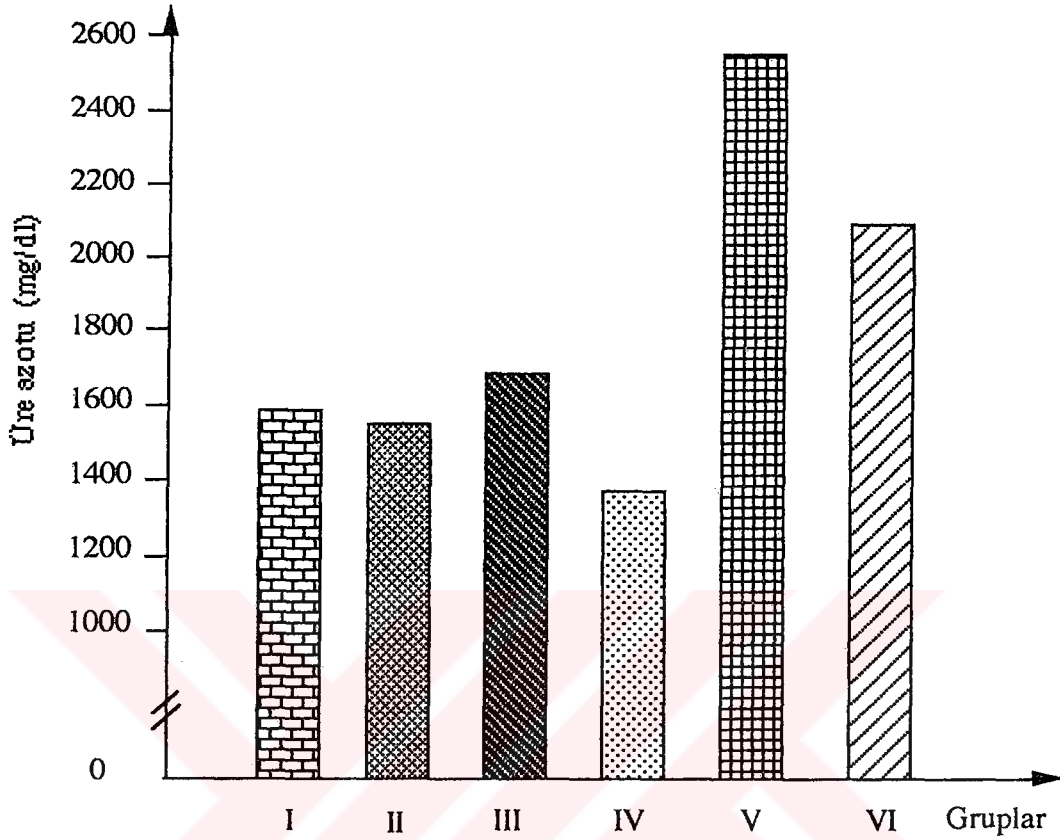
n.s p>0.05 Gruplar arası önemlilik yok, * p<0.05 Gruplar arası önemlilik var

pH, I.grupta (kontrol) 7.99 ± 0.34 , AfB₁ verilen IV. grupta 7.10 ± 0.29 , A. densiflora verilen V. grupta 7.44 ± 0.16 AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta 7.74 ± 0.38 olarak bulundu. İstatistiksel olarak yapılan karşılaştırmada gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0.05$) (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Kontrol ve deney gruplarının idrar hacmi ve pH değerleri.

Üre azotu I. grupta (kontrol) 1572.5 ± 152.0 mg/dl, AfB₁ verilen IV. grupta 1376.4 ± 110.6 mg/dl, A. densiflora verilen V. grupta 2554.2 ± 85.2 mg/dl, AfB₁+A. densiflora VI. grupta ise 2096.1 ± 120.8 mg/dl olarak bulundu. Kontrol ile IV. grup arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık görülmezken ($p > 0.05$) diğer deney gruplarında kontrole göre ve kendi aralarında önemli farklılık görüldü ($p < 0.05$) (Şekil 4.6.).

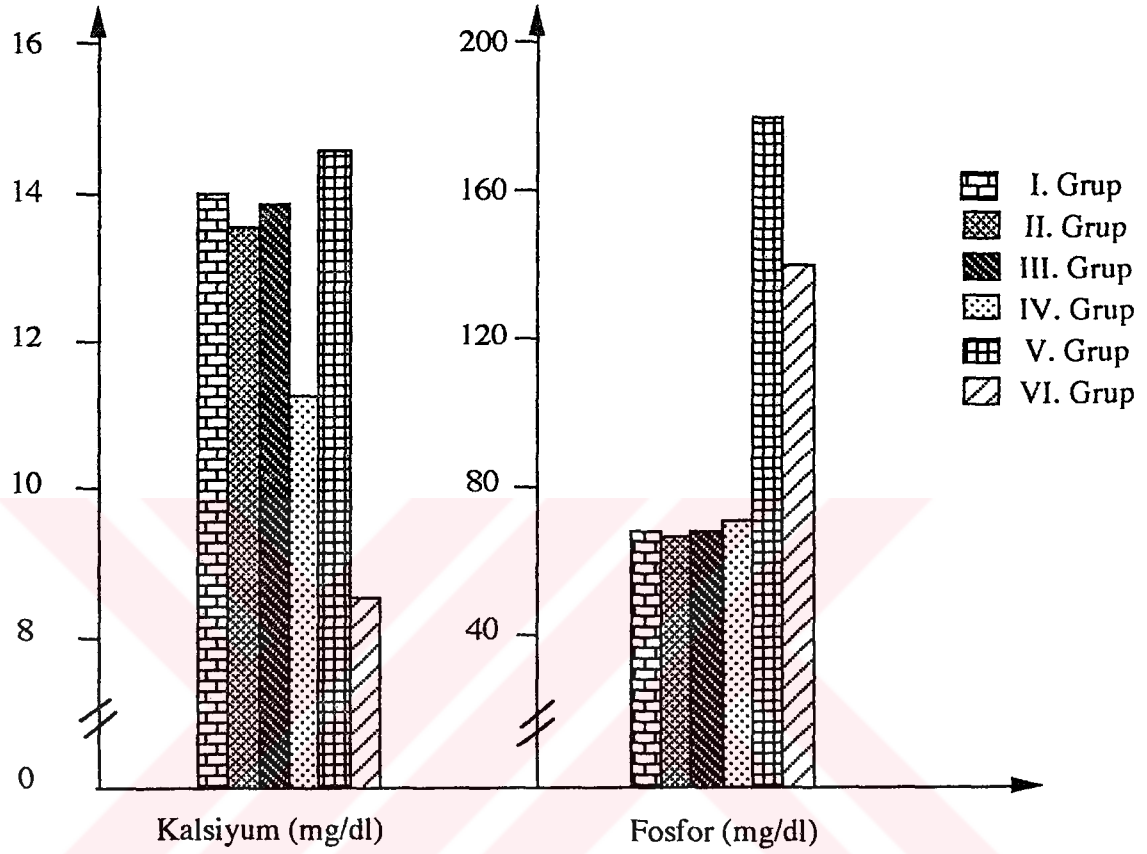


Şekil 4.6. Kontrol ve deney gruplarının üre azotu değerleri.

Kalsiyum I. grupta (kontrol) 13.98 ± 1.23 mg/dl, AfB₁ verilen IV. grupta 11.27 ± 1.66 mg/dl, A. densiflora verilen V. grupta 14.57 ± 1.92 mg/dl, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta 8.53 ± 0.60 mg/dl olarak bulundu. İstatistiksel olarak yapılan karşılaştırmada kontrole göre IV ve V. grup değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0.05$). Ancak VI. grupta görülen azalma kontrole ve V. gruba göre önemliydi ($p < 0.05$) (Şekil 4.7).

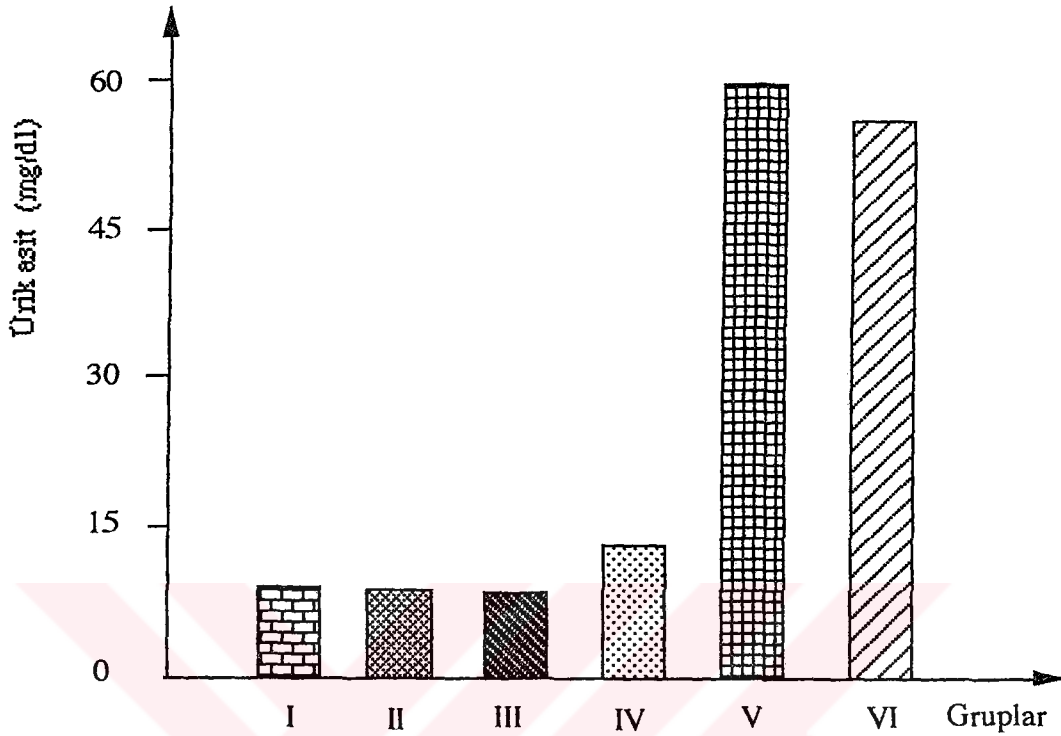
Fosfor I. grupta (kontrol) 67.87 ± 7.2 mg/dl, AfB₁ verilen IV. grupta 71.30 ± 4.8 mg/dl, A. densiflora verilen V. grupta 182.69 ± 5.4 mg/dl, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta ise 143.24 ± 8.4 mg/dl olarak bulundu. Kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmada kontrol ile IV. grup arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık görülmezken ($p > 0.05$), kontrole göre diğer iki deney

grubunda ve bu iki deney grubu arasında önemli farklılık görüldü ($p<0.05$) (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Kontrol ve deney gruplarının kalsiyum ve fosfor değerleri.

Ürik asit I. grupta (kontrol) 9.00 ± 0.53 mg/dl, AfB₁ verilen IV. grupta 13.29 ± 1.60 mg/dl, A. densiflora verilen V. grupta 58.57 ± 4.85 mg/dl, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta 55.57 ± 6.89 mg/dl olarak bulundu. Kontrol ve IV. grup arasında anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Ancak V. ve VI. gruplarda görülen artma kontrol ve IV. gruba göre anlamlı ($p<0.05$), kendi aralarında ise anlamsız bulundu (Şekil 4.8.).

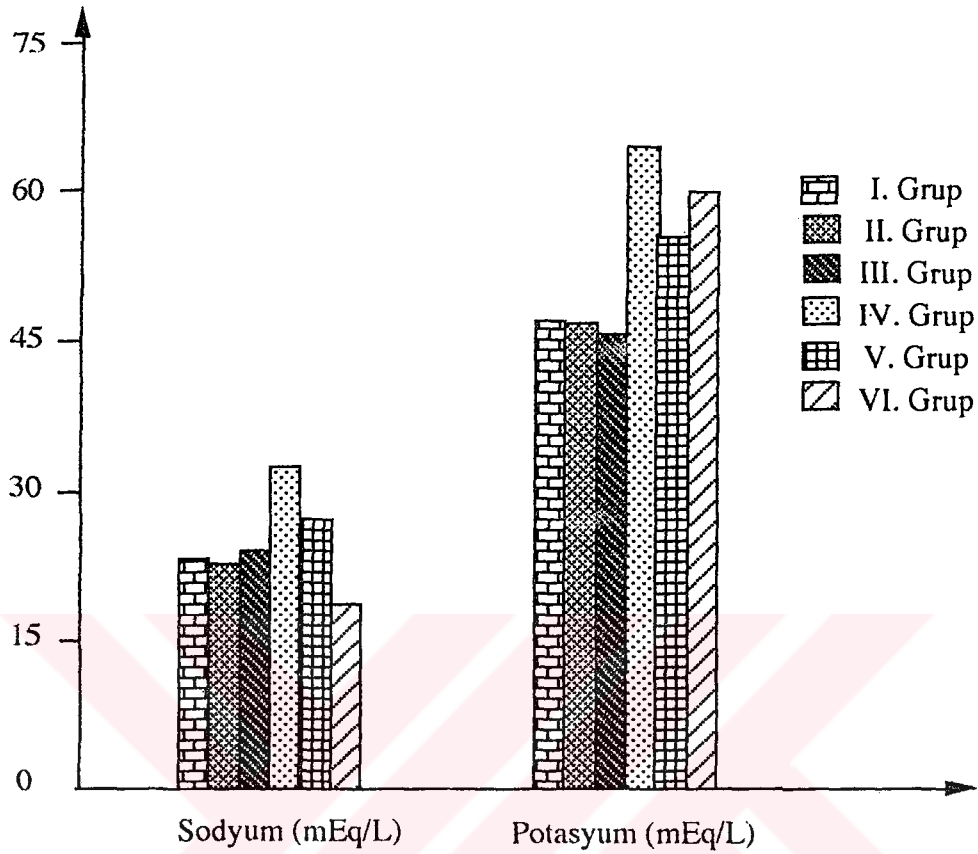


Şekil 4.8. Kontrol ve deney gruplarının ürik asit değerleri.

Sodyum I. grupta (kontrol) 23.33 ± 2.35 mEq/L, AfB₁ verilen IV. grupta 32.37 ± 3.63 mEq/L, A. densiflora verilen V. grupta 27.36 ± 0.97 mEq/L, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta 18.31 ± 1.63 mEq/L olarak bulundu. Kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmada kontrole göre V. ve VI. gruplar anlamlı bir fark göstermedi ($p > 0.05$), fakat kendi aralarındaki fark anlamlı idi. IV. grupta ise kontrol gruba ve VI. gruba göre anlamlı bir artma görüldü ($p < 0.05$) (Şekil 4.9).

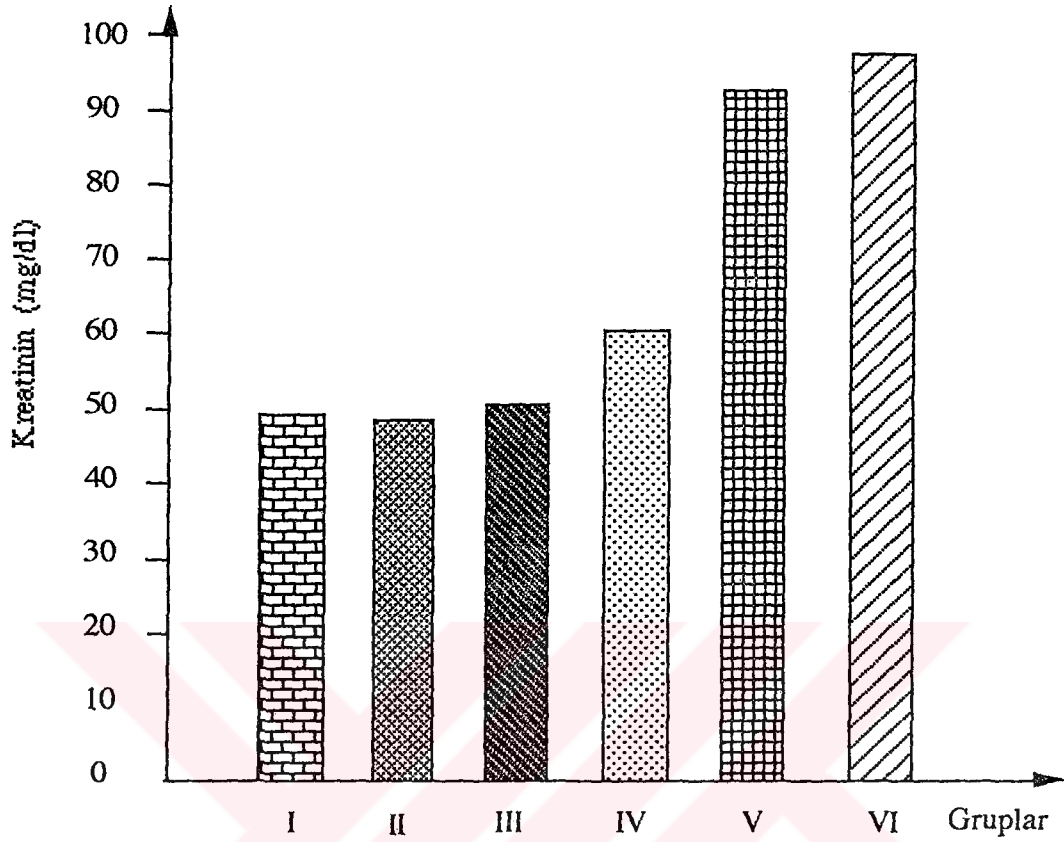
Potasyum I. grupta (kontrol) 47.71 ± 4.28 mEq/L, AfB₁ verilen IV. grupta 64.30 ± 3.96 mEq/L, A. densiflora verilen V. grupta 54.93 ± 1.99 mEq/L AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta 59.80 ± 2.90 mEq/L olarak bulundu. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada kontrole göre V. grupta anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0.05$). Ancak IV. ve VI. grupta görülen artış kontrole

göre anlamlı ($p<0.05$), kendi aralarında ise anlamsız bulundu (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Kontrol ve deney gruplarının sodyum ve potasyum değerleri.

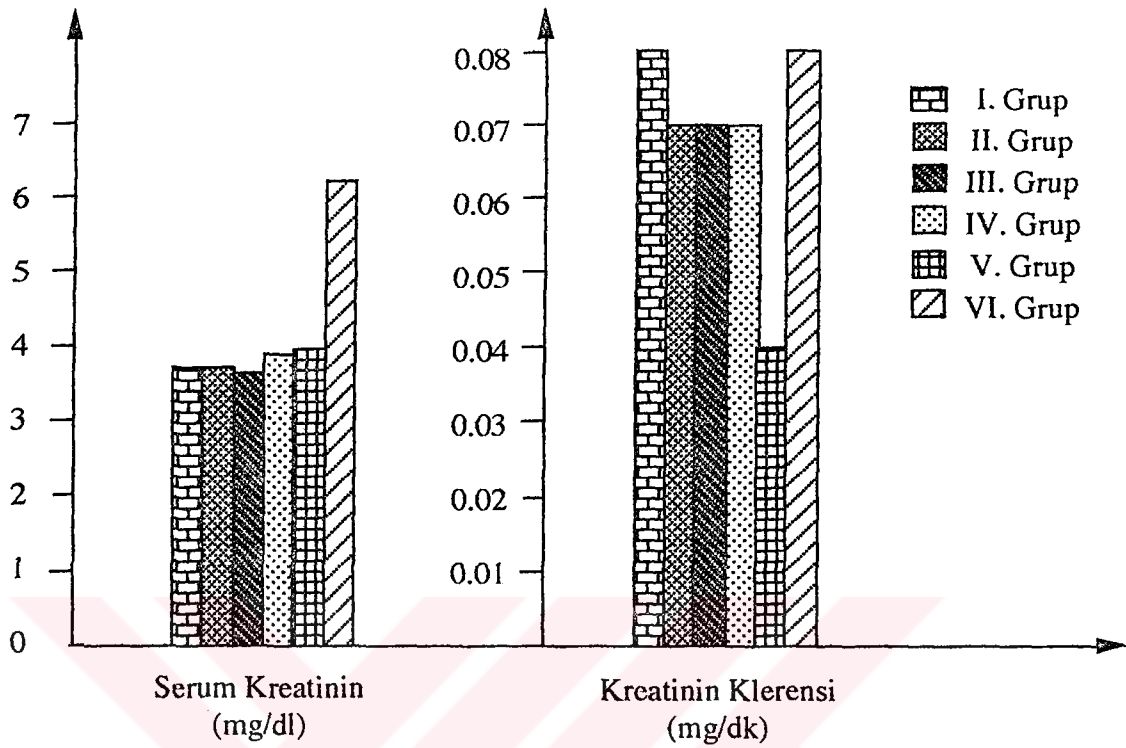
Kreatinin I. grupta (kontrol) 48.72 ± 5.46 mg/dl, AfB₁ verilen IV. grupta 60.10 ± 10.84 mg/dl, A. densiflora verilen V. grupta 92.43 ± 0.91 mg/dl, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta ise 97.73 ± 5.90 mg/dl olarak bulundu. Kontrole göre ve IV. grup arasında anlamlı bir farklılık görülmezken ($p>0.05$), V ve VI. gruplardaki artış kontrole göre önemli ($p<0.05$), fakat kendi aralarında önemsizdi ($p>0.05$) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Kontrol ve deney gruplarının idrar kreatinin değerleri.

Serum kreatinin I. grupta (kontrol) 3.70 ± 0.25 mg/dl, AfB₁ verilen IV. grupta 3.89 ± 0.42 mg/dl, A. densiflora verilen V. grupta 3.93 ± 0.15 mg/dl, AfB₁ + A. densiflora verilen VI. grupta 6.21 ± 0.55 mg/dl olarak bulundu. İstatistiksel açıdan kontrole göre ve kendi aralarında VI. grup hariç önemli bir farklılık görülmezken ($p > 0.05$) VI. gruptaki artış tüm gruplarla karşılaştırıldığında önemli bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 4.11).

Kreatinin klerensi, I. grupta (kontrol) 0.08 ± 0.01 , AfB₁ verilen IV. grupta 0.07 ± 0.01 , A. densiflora verilen V. grupta 0.04 ± 0.01 , AfB₁ + A. densiflora verilen VI. grupta ise 0.08 ± 0.02 olarak bulundu. İstatistiksel olarak kontrol ve deney grupları arasında yapılan karşılaştırmada anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Kontrol ve deney gruplarının serum kreatinin ve kreatinin klerensi değerleri.

4.4. Serum Enzim Değerleri

Deney sonunda kandan elde edilen serumda ölçülen SGOT, SGPT, ALP ve ASP değerleri Çizelge 4.4.'de görüldüğü gibidir.

SGOT, I. grupta (kontrol) 304.29 ± 49.99 U/L, AfB₁ verilen IV. grupta 544.29 ± 38.66 U/L, A. densiflora verilen V. grupta 121.43 ± 6.70 U/L, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta 625.71 ± 81.73 U/L olarak bulundu. İstatistiksel açıdan kontrole göre deney grupları arasında önemli farklılıklar görüldü ($p < 0.05$). Bu farklılıklar IV ve VI. gruplarda artma, V. grupta ise azalma şeklinde idi (Şekil 4.12).

SGPT, I. grupta (kontrol) 125.00 ± 8.24 U/L, AfB₁ verilen IV. grupta 274.29 ± 61.95 U/L, A. densiflora verilen V. grupta 122.86 ± 7.14 U/L, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta ise 174.29 ± 46.64 U/L olarak bulundu. İstatistiksel açıdan kontrole

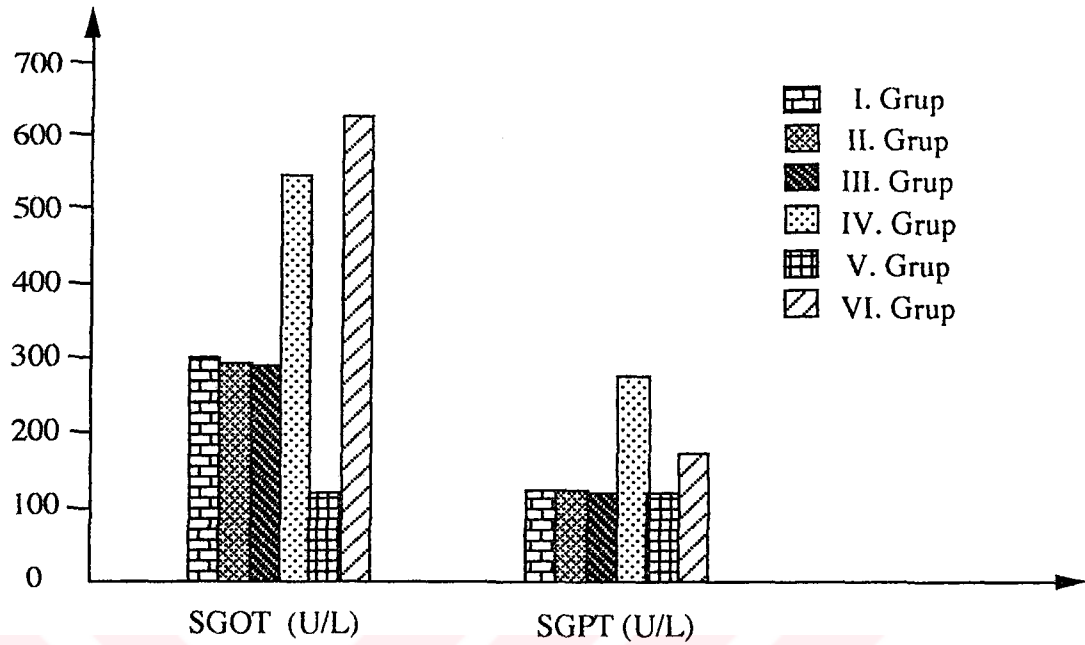
göre V. ve VI. grup arasında farklılık önemsiz ($p>0.05$) iken, IV. gruptaki artış kontrol ve diğer deney gruplarına göre önemli bulundu ($p<0.05$) (Şekil 4.12).

Çizelge 4.4. Kontrol ve deney gruplarının serum enzim değerleri.

Gruplar		n	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	ALP (U/L)	ASP (U/L)
KONTROL	I. Grup (Serum fizyolojik)	7	304.29±49.99	125.00±8.24	104.39±3.16	47.86±4.68
	II. Grup (Sıvı yağ)	7	301.14±49.41	125.00±8.54	103.57±3.35	45.70±3.60
	III. Grup (DMSO)	7	293.14±55.81	123.43±5.13	104.29±3.82	44.29±3.52
DENEY	IV. Grup Af B ₁ (2 mg/kg)	7	544.29±38.66	274.29±61.95	270.59±38.99	62.75±4.32
	V. Grup A. densiflora (4 mg/kg)	7	121.43±6.70	122.86±7.14	192.61±35.41	40.43±1.56
	VI. Grup Af B ₁ + A. dens. (aynı oranda)	7	625.71±81.73	174.29±46.64	397.73±8.11	89.25±7.76

Gruplar	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	ALP (U/L)	ASP (U/L)
I. - II. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s
I. - III. Grup	n.s	n.s	n.s	n.s
I. - IV. Grup	*	*	*	*
I.- V. Grup	*	n.s	*	n.s
I.- VI. Grup	*	n.s	*	*
IV.- V. Grup	*	*	*	*
IV.-VI. Grup	n.s	*	*	*
V.-VI Grup	*	n.s	*	*

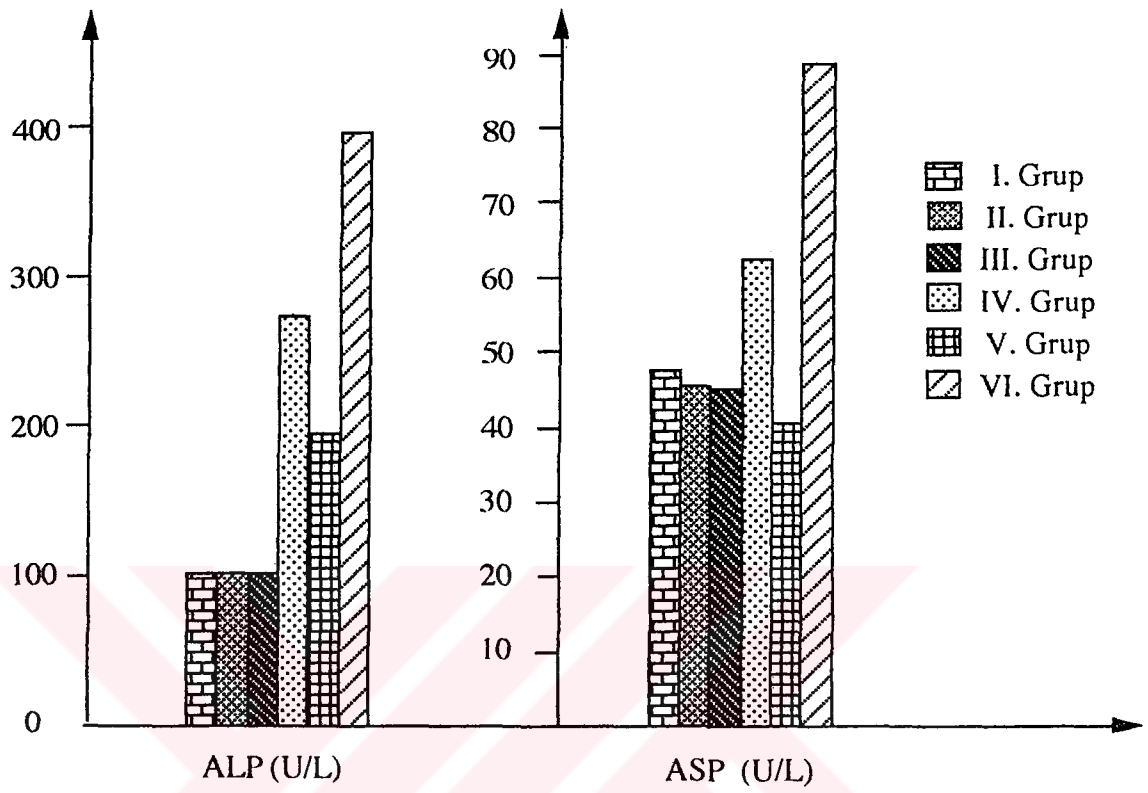
n.s $p>0.05$ Gruplar arası önemlilik yok
* $p<0.05$ Gruplar arası önemlilik var



Şekil 4.12. Kontrol ve deney gruplarının SGOT ve SGPT değerleri.

ALP I. grupta (kontrol) 104.39 ± 3.16 U/L, AfB₁ verilen IV. grupta 270.59 ± 38.99 U/L, A. densiflora verilen V. grupta 192.61 ± 35.41 U/L AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta 397.73 ± 8.11 U/L olarak bulundu. Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tüm deney gruplarındaki artış kontrole göre ve ayrıca kendi aralarında önemli bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 4.13.).

ASP, I. grupta (kontrol) 47.86 ± 4.68 U/L AfB₁ verilen IV. grupta 62.75 ± 4.32 U/L, A. densiflora verilen V. grupta 40.43 ± 1.56 U/L, AfB₁+A. densiflora verilen VI. grupta 89.25 ± 7.76 U/L olarak bulundu. İstatistiksel açıdan kontrol ile V. grup arasında önemli bir farklılık bulunmazken ($p > 0.05$), diğer deney grupları kontrole göre ve kendi aralarında önemli artış gösterdi ($p < 0.05$) (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Kontrol ve deney gruplarının ALP ve ASP değerleri.

5. TARTIŞMA

Bu bölümde, kanserojen özelliği bilinen AfB₁'in (1, 41, 58, 62) kromozom, lökosit tipleri, idrar kompozisyonları ve serum enzimleri üzerine olan etkilerini, antikanserojen özelliği bilinen A. densiflora kök ekstresinin (29, 40, 48-51) nasıl etkilediği bulgular bölümünde verilen sıraya göre tartışılacaktır.

5.1. Kromozomlara Etkisi

Daha önceki çalışmalarda da (10, 13, 26) bildirildiği gibi bizim çalışmamızda da aflatoksin B₁ doza bağlı olarak önemli düzeyde kromatid tipi kırık oluşturmaktadır. Kontrol ve deney gruplarına ait kromatid tipi kırık yüzde değerleri Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibidir. AfB₁ uyguladığımız grupta kontrol gruplarına göre kırık yüzde değerleri çok artmıştır. Kontrol grubunda %0.64 iken AfB₁ grubunda %20.50 olarak gözlenmiştir. VI. grup değerleride IV. grupta uygunluk göstermektedir. V. grupta ise kırık oranı %1.64'dir. Buradan A. densiflora kök ekstresinin 4 mg/kg dozunun kromatid tipi kırığa neden olmadığı ilaveten AfB₁'in neden olduğu kromatid tipi kırıkları da önleyemediği görülmüştür. Arnebia'nın kromozomlara etkisiyle ilgili fazla bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sadece Çakmak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada AfB₁ ile birlikte verilen 15 mg/kg A. densiflora dozunun (1993) kırık oluşmasını bir derecede önlediği fakat 4 mg/kg dozun hiçbir önleyici etkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu sonuç bizim sonuçlarımızla uyumludur.

5.2. Hematokrit ve Lökosit Tiplerine Etkisi

Hematokrit yüzde değerleri Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibidir. Kontrol ve deney grupları arasında önemli farklılık görülmemiştir. Ancak Campbell ve arkadaşları (3 hafta boyunca gün aşırı verdikleri 2.5 $\mu\text{g/g}$ AfB₁ dozunun) (1983) piliçlerde, Reddy ve arkadaşları (2 hafta gün aşırı 0.03, 0.145 mg/kg ve 4 hafta gün aşırı 0.7 mg/kg AfB₁ dozunun) (1987, 1989) farelerde doza bağlı olarak hematokrit düzeyini düşürdüğünü bildirmişlerdir. *A. densiflora*'nın hematokrit üzerine etkisi konulu bir literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

Lenfosit, monosit ve nötrofil yüzde değerleri Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibidir. AfB₁ verilen IV. grupta kontrole göre lenfosit ve monosit yüzde değerleri biraz azalmış, nötrofil yüzdesi ise biraz artmıştır. Fakat bu azalma ve artma önemsizdir (Campbell et al, 1983). Çakmak ve Başaran (500 $\mu\text{g/kg}$ ve 1000 $\mu\text{g/kg}$ AfG₁ tek doz) (1991) sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada aflatoksinin 6. saatte lenfosit ve monosit yüzdelerini azalttığını bildirmektedir. Yine Başaran ve Çakmak (0.145 mg/kg ve 0.7 mg/kg AfB₁'i 2 hafta hergün) (1993) verdikleri bir çalışmada bu süre sonunda sıçanlarda doza bağlı olarak hematokrit, lenfosit ve monosit yüzdelerinin azaldığını, nötrofil yüzdesinin ise arttığını bulmuşlardır. Bizim bulgularımız da aflatoksinin bu etkilerini doğrulamaktadır. Ancak istatistiksel olarak yapılan karşılaştırmada kontrol ve deney grupları arasında önemli farklılık görülmemiştir. Ancak farklılık önemsiz de olsa lenfositlerdeki azalma ve nötrofil yüzdesinde görülen artış aflatoksinin akut toksik etkisi olduğunu desteklemektedir. *A. densiflora* verilen V. grupta lenfosit yüzde değerleri tüm gruplara nazaran önemli düzeyde artarken monosit ve nötrofil yüzde değerleri azalmıştır. Nötrofildeki azalma önemli

bulunmuştur. Bütün bunlardan AfB₁ ve A. densiflora'nın verilen dozlarının toksik etkiye sahip oldukları görülmüştür. Yapılan literatür taramasında A. densiflora'nın lökosit tiplerine etkisi konulu bir çalışmaya rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

5.3. İdrar Kompozisyonlarına Etkisi

İdrar kompozisyonlarına ait değerlerin istatistiksel değerlendirilmeleri Çizelge 4.3.'de görüldüğü gibidir.

İdrar hacmi bakımından gruplar arası yapılan karşılaştırmada kontrol ve IV. grup değerleri birbirine çok yakın bulunmuştur. Bu Başaran ve arkadaşlarının (2 mg/kg AfB₁, tek doz) (1992) yaptığı çalışma ile uyumludur. Yine Başaran ve arkadaşlarının (10 ay boyunca hergün verdikleri 30 µg/kg AfB₂) (1990) yaptığı bir çalışmada idrar hacmi 5.aydan itibaren önemli düzeyde artmışsa da kontrollerle karşılaştırıldığında önemli bir farkın olmadığı görülmüştür. IV. ve VI. grup değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmemiş ancak V. grupta idrar hacminin kontrol ve diğer deney gruplarına göre azaldığı görülmüştür. Bu da A. densiflora'nın antidiüretik etkisi olduğunu göstermektedir. A. densiflora'nın idrar hacmini nasıl etkilediği konulu bir literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

pH değeri tüm gruplarda alkali bir karakterde olup kendi aralarında yapılan karşılaştırmada istatistiksel açıdan farklılık önemsiz bulunmuştur. AfB₁ ve A. densiflora'nın idrar pH'sına etkisiyle ilgili literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

Üre azotu değeri bakımından kontrol ve IV. grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu sonuç literatür bilgileriyle uyumludur (Başaran ve ark., 1990, 1992). V. grupta üre azotu

değerleri önemli düzeyde artmıştır. VI. grupta her ne kadar V. gruba göre bir düşme varsa da bu değer kontrole göre yine de önemli düzeyde yüksektir. Yapılan literatür taramasında A. densiflora'nın üre azotuna etkisi konulu literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

Kalsiyum seviyesi bakımından IV. grup kontrolle uyumludur. AfB₁'in kalsiyum seviyesine etkisiyle ilgili çalışmaların sonucu (Başaran ve ark., 1990, 1992) bizim sonuçlarımızla uyumludur. A. densiflora verilen V. grupta kalsiyum seviyesi kontrol değerlere yakındır. VI. grupta ise önemli düzeyde düşme görülmüştür. A. densiflora'nın kalsiyum seviyesi üzerine etkisiyle ilgili literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

İdrar fosfor seviyesi bakımından kontrole yakın bulunan IV. grup değerleri yapılan çalışmalarla (Başaran ve ark., 1990, 1992) uyumlu bulunmuştur. A. densiflora verilen V. grupta fosfor seviyesi önemli düzeyde artmıştır. AfB₁ ve A. densiflora birlikte verilen VI. grupta V. gruba göre bir azalma varsa da bu kontrole göre önemli düzeyde yüksektir. Yapılan literatür taramasında A. densiflora'nın fosfor seviyesi üzerine etkisi konulu literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

Ürik asit seviyesi bakımından IV. grupta kontrole göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu sonuç Başaran ve arkadaşlarının (1992) yaptığı çalışma ile uyumludur. V. ve VI. grupta ürik asit seviyesi önemli düzeyde artmıştır. A. densiflora'nın ürik asit seviyesine etkisi konulu bir literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

Sodyum seviyesi bakımından IV. grup kontrole göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Yapılan bir çalışmada da AfB₁ verilen sıçanlarda sodyum atılımının arttığı bildirilmiştir (Grosman et al., 1984). Diğer yandan V. grupta, kontrole göre, sodyum düzeyi biraz

artmış, VI. grupta ise biraz düşmüştür. Fakat bu farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. A. densiflora'nın sodyum üzerine etkisi konusunda bir literatüre rastlayamadığımız için karşılaştırma yapılamadı.

Potasyum seviyesi IV. grupta kontrole göre anlamlı bir artış göstermiştir. Bu sonuç AfB₁'in potasyum seviyesini artırdığını gösteren bir çalışma ile uyumludur (Grosman et al., 1984). V. grup potasyum seviyesi bakımından kontrole uyumlu bulunmuştur, fakat Arnebia ile AfB₁'in birlikte verildiği VI. grupta kontrole göre potasyum seviyesinde anlamlı bir artış bulunmuştur. A. densiflora'nın potasyum seviyesi üzerine etkisi konulu bir literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

İdrar kreatinin seviyesi bakımından kontrole göre IV. grup farklı bulunmamıştır. Bu sonuç literatür bilgileriyle uyumludur (Başaran ve ark., 1990, 1992). Ancak V. VI. gruplarda kreatinin seviyesinin kontrol ve IV. gruba göre arttığı görülmüştür (Şekil 4.10.). Yapılan literatür taramasında A. densiflora'nın kreatinin seviyesi üzerine etkisi konulu herhangi bir literatüre rastlanmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

Yapılan bu çalışmada serum kreatinin seviyesi, IV. ve V. grupta kontrol grubu ile uyumlu, VI. grupta ise kontrol ve diğer deney gruplarına göre yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). AfB₁ ve A. densiflora'nın serum kreatinin seviyesine etkisi konulu bir literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

Kreatinin klerensi seviyeleri arasındaki farklılık tüm gruplarda önemsiz bulunmuş olup AfB₁ ve A. densiflora'nın kreatinin klerensi üzerine etkisini gösterir bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

5.4. Serum Enzimlerine Etkisi

Serumda ölçülen SGOT, SGPT, ALP ve ASP değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları Çizelge 4.4.'de görüldüğü gibidir.

SGOT seviyesi, bakımından IV. grup değerindeki artış kontrol grubuna göre önemli bulunmuştur. Bu sonuç Başaran ve ark.'nın (1992) yaptıkları çalışmayla uyumluluk göstermiştir. Yine bu sonuç Chattopadhyay ve arkadaşlarının (1985) bulgularıyla ters, Brownie ve Brownie'nin (1988) bulgularıyla ise uyumlu idi. A. densiflora verilen V. grup SGOT değerleri düşmüş, VI. grupta ise yükselmiştir. Bu değerler kontrole göre önemli bulunmuştur. Arnebia densiflora'nın SGOT seviyesine etkisi ile ilgili literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.

SGPT seviyesi bakımından IV. grup değerindeki artış kontrol grubuna göre önemli bulunmuştur. Bu sonuç literatür bulgularıyla uyumludur (Brownie and Brownie, 1988). V. ve VI. grup değerleri ise kontrole uyumlu sonuç vermiştir. Bu bulgular ile ilgili literatüre rastlanılmadığı için tartışılmamıştır.

ALP seviyesi IV. grupta kontrole göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Başaran ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (9) ALP seviyesini kontrol ve deney gruplarına göre artırmıştır. Yine Chattopadhyay ve arkadaşları AfB₁'in (0.5 µg/kg ve 2.5 µg/kg 10 hafta boyunca yemle birlikte verilen AfB₁) (1985) ALP seviyesini artırdığını bildirmişlerdir. Brownie ve Brownie 5 gün süreyle verilen AfB₁'in (50 µg/kg) (1988) ALP seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uyumludur. Fakat Güneş ve arkadaşları (500 µg/kg ve 1000 µg/kg AfB₁ tek doz halinde) (1991) yaptıkları bir çalışmada ALP seviyesi 5. saatte kontrole göre düşük iken, 5. günde kontrole uyumlu sonuç vermiştir. Bu sonuçlar ise bizim çalışmamızla uyumlu değildir. Bu

farklılıkta uygulanan doz miktarı, veriliş şekli ve sürenin etkili olabileceği düşünülmektedir. V. ve VI. gruplarda da ALP seviyesi kontrole göre yüksek bulunmuştur. A. densiflora ile ilgili literatüre rastlanılmadığı için tartışılmamıştır.

ASP seviyesi, IV. grupta önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu sonuç literatür bilgileriyle uyumludur (Güneş ve ark, 1991). A. densiflora verilen V. grup değerleri kontrol değerlerle uyumlu iken A. densiflora ile AFB₁'i birlikte verdiğimiz VI. grupta ise kontrole göre yüksek bulunmuştur. A. densiflora'nın enzimler üzerine etkisi konulu bir literatüre rastlanılmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır.



6. SONUÇ

Naftakinon türevlerini içeren bitkiler eskiden beri boya maddesi olarak kullanılmaktadır. Genellikle alkanninler adı ile de bilinen kırmızı renkli maddelerdir. Bunlara Boraginaceae familyasının Lithospermum, Echium, Onosma, Alkanna, Cynoglossum ve Arnebia cinslerine ait türlerde rastlanmaktadır (3, 31, 37).

Toksik etkileri yanında antikanserojen etkisi olduğu da bildirilen naftakinon türevlerini ihtiva eden Boraginaceae familyasının bir üyesi olan Arnebia densiflora'nın kök ekstresinin; kromozomlara, lökosit tiplerine, idrar kompozisyonu ve serum enzim düzeylerine etkileri yanında, toksik ve kanserojen etkisi bilinen AfB₁'in bu sayılan parametrelere olan etkisini ne derece değiştirebileceğini gözlemek amacıyla düzenlediğimiz bu çalışmada şu sonuçlara vardık :

1. A. densiflora'nın 4 mg/kg dozunun kontrole göre önemli düzeyde kromatid tipi kırık yapmadığı, fakat AfB₁'in sebep olduğu kromatid tipi kırıkları da önleyemediği belirlendi.

2. AfB₁, lenfosit tipleri üzerine önemli bir etki yapmazken, A. densiflora lenfosit yüzdesini önemli düzeyde yükseltmiş, nötrofil yüzdesini azaltmış monosit yüzdesini ise değiştirmemiştir. Buradan A. densiflora'nın toksik etki yapabileceği belirlenmiştir.

3. A. densiflora idrar kompozisyonları üzerine AfB₁'in yapmış olduğu etkiyi düzeltemediği gibi bazı idrar bileşenleri üzerine kendisinde önemli düzeyde bozucu etki yapmıştır.

4. A. densiflora serum enzimlerinden SGOT aktivitesini önemli düzeyde, SGPT ve ASP aktivitelerini önemsiz düzeyde azaltmış, ALP aktivitesini ise önemli düzeyde artırmıştır. Dolayısıyla AfB₁ in yaptığı bozucu etkileri de düzeltememiştir.

Bütün bu nedenlerle, A. densiflora'nın toksik etkileri göz önüne alınarak değişik dozları ile daha fazla araştırma yapılmalı, rastgele kullanılmamalı ve ilaç olarak kullanırken doz ayarlamasına çok dikkat edilmelidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Autrup, H., Wakhisi, I., Vahakangas, K., Wasunna, A. and Harris, C.C. : Detection of 8,9 dihydro (7-quanyl 9-hydroxyafolatoxin B₁ in human urine. Environmental Health Perspectives, **62**: 105-108, 1985.
2. Afzal, M., and Al-Origat, G. : Shikonin derivatives, part V. chemical investigations of *Arnebia decumbens*. Agric. Biol. Chem. **50**(6): 1651-1652, 1986.
3. Baytop, A. : Farmasötik Botanik. İstanbul Üniv. Yay. No: 3637, İstanbul, 1991.
4. Başaran, A.: Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı, 3. Baskı, Bilim Teknik Kitabevi, Eskişehir, 1992.
5. Başaran, N. : Tıbbi Genetik Ders Kitabı, 4. Baskı, Bilim Teknik Kitabevi, Eskişehir, 1986.
6. Başaran, A., Başaran, N., Erdem, S., Çakmak, E.A.: Eskişehir'de sütlerde aflatoksin B₁ ve M₁ aranması. Anadolu Tıp Derg., **8**: 61-69, 1986.
7. Başaran, A., Güneş, H.V., Eren, O., Çakmak, E.A., Kalkandelen, G., Şimşek, S., Değirmenci, İ.: Uzun süre düşük dozda kullanılan aflatoksin B₂'nin gelişmekte olan sıçanlar üzerine etkileri. X. Ulusal Biyoloji Kongresi, Bildiri Kitabı, I: 303-313, 1990, Erzurum.
8. Başaran, A., Çakmak, E.A., Güneş, H.V., Erdem, S., Kelle, A.: Eskişehir'de imal edilen bozalarda ve boza yapımında kullanılan hammaddelerde mikotoksin araştırmaları. Anadolu Tıp Derg., **10**: 11-18, 1988.
9. Başaran, A., Çakmak, E.A., Değirmenci, İ., Güneş, H.V. : The effects of aflatoxin B₁ and *Ecballium elaterium* on serum enzyme levels and some urine excreta in rats. Fitoterapia, **LXIII**(6): 493-496, 1992.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

10. Başaran, A., Başaran, N., Can Başer, K.H., Artan, S., Çakmak, E.A., Kırimer, N.: Chromosome aberrations induced by aflatoxin B₁ in rat bone marrow cells in vivo and their suppression by Ecballium elaterium. Proceedings of the 8th International Congress of Human Genetics, Washington 6-11 October 1991, Am. J. Human Genetics. **49** (Supple- 4): 238, 1991.
11. Başaran, A., Çakmak, E.A. : Immunological effects of aflatoxin B₁. European Society of Human Genetics 2th Annual Meeting ESHG, 6-9 May 1993, Barcelona, Spain.
12. Bose, S., Sinha, S.P.: Aflatoxin-induced structural chromosomal changes and mitotic disruption in mouse bone marrow. Mutat. Res., **261**: 15-19, 1991.
13. Brownie, C.F., Brownie, C. : Preliminary study on serum enzyme changes in Long Evans rats given parenteral ochratoxin A, aflatoxin B₁ and their combination. Vet. Hum. Toxicol., **30**(3): 211-214, 1988.
14. Campbell, M.L., May, D., Huff, W.E. and Doerr, J.A.: Evaluation of immunity of young broiler chickens during simultaneous aflatoxicosis and ochratoxicosis. Poult. Sci., **62**: 2138-2144, 1983.
15. Castelli, D., Seralini, G.E., Lafaurie, M., Krebs, B. and Stora, C.: Ovarian function during aflatoxin B₁-induced hepatocarcinogenesis in the rat. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharm., **53**(2):183-194, 1986.
16. Chattopadhyay, S.K., Taskar, P.K., Schwabe, O., Das, V.T. and Brown, H.D.: Clinical and biochemical effects of aflatoxin in feed ration of chicks. Can. Biochem. Biophys., **8**: 67-75, 1985.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

17. Cysewski, S.J., Wood, R.L., Pier, A.C., Baetz, A.L. : Effects of aflatoxin on the development of acquired immunity to swine erysipelas. *Am. J. Vet. Res.*, **39(3)**: 445-448, 1978.
18. Çakmak, E.A., Değirmenci, İ., Başaran, A., Güneş, H.V., Bozan, B., Kırimer, N., Başer, H.C., Başaran, N. : *Arnebia densiflora* (Nordm)'nın değişik dozlarının kromozomlara etkisi. 10. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 20-23 Mayıs 1993, İzmir, Bildiri Özetleri Kitabı, s. 60.
19. Çakmak, E.A., Başaran, A.: Değişik dozlardaki aflatoksin B1 ve G1'in idrarla atılımı, vücut ağırlığı ve lökosit yüzdeleri üzerine etkileri. *Anadolu Tıp Derg.*, **13(2)**: 11-26, 1991.
20. Davis, P.H. : *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, **6**, pp. 237-313, 1978.
21. Dennig, D.W., Allen, R., Wilkinson, A.P., Morgan, M.R.: Transplacental transfer of aflatoxin in humans. *Carcinogenesis*, **11(6)**: 1033-1035, 1990.
22. Detroy, R.W., Lillehoj, E.B. and Ciegler, A., Aflatoxin and related compounds, *Microbial Toxins IV*, Academic Press, New York and London, pp 4-155, 1971.
23. El Zawahri, M.M., Morad, M.M., Khishin, A.F.: Mutagenic effect of aflatoxin G1 in comparison with B1. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, **10(1-2)**: 45-51, 1990.
24. Grosman, M.E., Elias, M.M., Comin, E.J. and Rodriguezgaray, E.A.: Distal nephron function of the rat during acute aflatoxicosis. *Toxic. Lett.*, **21**: 263-270, 1984.
25. Güneş, H.V., Başaran, A., Çakmak, E.A., Değirmenci, İ., Başaran, N., Kaygısız, Z., Özdamar, K.: Aflatoksin B1'in sıçanlarda bazı enzim düzeylerine etkisi. *Anadolu Tıp Derg.*, **13**: 1-9, 1991.
26. Harvey, R.B., Clark, D.E., Huff, W.E., Kubena, L.F., Corrier, D.E. and Phillips, T.D.: Suppression of serum iron-binding capacity and bone marrow cellularity in pigs fed aflatoxin. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **40**: 576-583, 1988.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

27. Hendrichse, R.G., Aflatoxins and child health in the tropics, *Cronicle*, **15**: 138-156, 1985.
28. Ito, Y., Ohnishi, S. and Fujie, K.: Chromosome aberrations induced by aflatoxin B₁ in rat bone marrow cells in vivo and their suppression by green tea. *Mutat. Res.*, **222**: 253-261, 1989.
29. Katti, S.B., Shukla, Y.N., and Tandon, J.S. : Arnebin derivatives for anticancer activity. *Indian Journal of Chemistry*, **18B**: pp.440-442, 1979.
30. Khan, H.A., Chandrasekharan, I. and Ghanım, A. : Naphthazarins from *Arnebia hispidissima*. *Phytochemistry*, **22(2)**: 614-615, 1983.
31. Kırimer, N., Cingi, M.İ., Alpan, S., Gez, S., Bozan, B., Başer, K.H.C. : *Arnebia densiflora*'nın toksisite ve farmakolojik etki yönünden araştırılması. IX. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir, 16-19 Mayıs 1991, ss. 110-114.
32. Metcalfe, C.R., Chalk, L., Chattaway, M.M., Hare, C.L., Richardson, F.R., Slatter, E.M. : *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford At The Clarendon Press, First Edition, Volume II, pp. 945-95, 1950.
33. Mori, K., Waku, M., and Sakakibara, M. : Synthesis of Arnebinol, an ansa-type prenylated phenol with effects inhibitory to prostaglandin biosynthesis. *Tetrahedron*, **41(14)**: 2825-2830, 1985.
34. Newberne, P.M. and Butler, W.H., Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals : A Review, *Cancer Res.*, **29**: 236-250, 1969.
35. Özdamar, K. : *Biyoistatistik Genişletilmiş 2. Baskı*, Bilim Teknik Yayınevi, 1989.
36. Özkan, K., ve Türkvan, M. : *Klinik Biyokimya Lab. El Kitabı*. Bursa Üniv. Tıp Fak. Yay., No:2, Seyhan Matbaası, Bursa, 1977.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

37. Papageorgiou, V.P. : Naturally occurring. Isohexenylnaphthazarin pigments : A new class of drugs. *Planta Medica*, **38**(3): 193-203, 1980.
38. Papageorgiou, V.P., Mellidis, A.S., and Sagredos, A.N. : Study on the antibiotic fraction of *Alkanna tinctoria* Tausch. *Chimica Chronica, New Series*, **9**:57-63, 1980.
39. Papageorgiou, V.P., Winkler, A., Sagredos, A.N., Digenis, G.A. : Studies on the relationship of structure to antimicrobial properties of naphthaquinones and other constituents of *Alkanna tinctoria*. *Planta Medica*, **35**: 56-60, 1979.
40. Papageorgiou, V.P. : Wound healing properties of naphthaquinone pigments from *Alkanna tinctoria*. *Experientia*, **34**(11): 1499-1501, 1978.
41. Pegram, R.A. and Wyatt, R.D.: The relationship of certain blood parameters to aflatoxin resistance in Japanese quail. *Poult. Sci.*, **65**: 1652-1658, 1986.
42. Petr, T., Barta, I., Adamkova, M., Hrabal, P., Bartova, J.: The effect of partial hepatectomy on the genotoxicity of aflatoxin B₁. *Neoplasma.*, **38**(1): 77-83, 1991.
43. Plummer, S., Boobis, A.R. and Davies, D.S.: Strain differences in the metabolic activation of aflatoxin B₁ in the rat. *Xenobiotica*, **17**(2): 199-208, 1987.
44. Raisuddin, S., Singh, K.P., Zaidi, S.I., Saxena, A.K., Ray, P.K.: Effects of aflatoxin on lymphoid cells of weanling rat. *J. Appl. Toxicol.*, **10**(4): 245-250, 1990.
45. Reddy, R.V., Taylor, M.J. and Sharma, R.P.: Studies of immune function of CD-1 mice exposed to aflatoxin B₁. *Toxicology*, **43**: 123-132, 1987.
46. Reddy, R.V. and Sharma, R.P.: Effects of aflatoxin B₁ on murine lymphocytic functions. *Toxicology*, **54**: 31-44, 1989.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

47. Roll, R., Matthiasch, G., Korte, A.: Embryotoxicity and mutagenicity of mycotoxins. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, **10**(1-2): 1-7, 1990.
48. Sankawa, U., Otsuka, H., Kataoka, Y., Iitaka, Y., Hoshi, A., Kuretani, K. : Antitumor activity of shikonin, alkannin and their derivatives. II. X-ray analysis of cyclo-alkannin leucoacetate, tautomerism of alkannin and cyclo-alkannin and antitumor activity of alkannin derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **29**(1): 116-122, 1981.
49. Sankawa, U., Ebizuka, Y., Miyazaki, T., Isomura, Y., Otsuka, H., Shibata, S., Inomata, M. and Fukuoka, F. : Antitumor activity of shikonin and its derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **25**(9): 2392-2395, 1977.
50. Shukla, Y.N., Tandon, J.S., Bhakuni, D.S., Dhar, M.M. : Naphthaquinones of *Arnebia nobilis*. *Phytochemistry.* **10**: 1909-1915, 1971.
51. Tanaka, S., Tajima, M., Tsukada, M., Tabata, M. : A comparative study on anti-inflammatory activities of the enantiomers, shikonin and alkannin. *J. Natural Products*, **49**(3): 466-469, 1986.
52. Tjalve, H., Larsson, P., Andersson, C., Busk, L.: Bioactivation of aflatoxin B₁ in the bovine olfactory mucosa: DNA binding, mutagenicity and induction of sister chromatid exchanges. *Carcinogenesis.*, **13**(8): 1345-1350, 1992.
53. Wahab, S., Tandon, R.N., Jacob, Z., Chandra, B., Srivastava, O.P.: Comparative in vitro and in vivo effect of lactones and arnebins on *Trichophyton mentagrophytes* and *Candida albicans*. *Indian J. Med. Res.*, **76**(Suppl): 77-82, 1982.
54. Wassel, G., El-Menshawi, B., Saeed, A., Mahran, G. and El-Merzabani, M. : Screening of selected plants for pyrrolizidine alkaloids and antitumor activity. *Pharmazie*, **42**, 1987.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

55. Wassel, G., El-Menshawi, B., Saeed, A., Mahran, G.: Toxic pyrrolizidine alkaloids of certain boraginaceous plants. *Acta. Pharm.Suec.* **24**: 199-204, 1987.
56. Wehner, F.C., Thiel, P.G., Van Rensburg, S.J. and Demasius, I.P.C.: Mutagenicity to *Salmonella typhimurium* of some *Aspergillus* and *Penicillium* mycotoxins. *Mutat. Res.*, **58**: 193-203, 1978.
57. Wyllie, T.D., Morehouse, L.G. : *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicosis I.* New York and Basel, pp. 159-185, 1977.
58. Yadgırı, B., Reddy, V., Tulpule, P.G., Srikantia, S.G., Gopalan, C.: Aflatoxin and Indian childhood cirrhosis. *Am. J. Clin. Nutr.* **23** : 94-98, 1970.
59. Yamasaki, T., Teel, R.W., Lau, B.H.: Effect of allixin, a phytoalexin produced by garlic, on mutagenesis, DNA-binding and metabolism of aflatoxin B₁. *Cancer Lett.* **59**(2): 89-94, 1991.
60. Yenson, M. : *Tıpsal ve Klinik Kimya Laboratuvar Çalışmaları. Sulhi Garan Matbaası Varisleri Koll. Şti. İstanbul, 1971.*
61. Yenson, M.: *Klinik Biyokimya Laboratuvar Çalışmaları. Beşinci Baskı, İstanbul Üniv. Tıp Fak. Yay., No: 139, Senal Matbaacılık, İstanbul, 1992.*
62. Zhu, J., Zhang, L., Hu, X., Xiao, Y, Chen, J., Xu, Y., Fremy, J. and Chu, F.S., Correlation of dietary aflatoxin B₁ levels with excretion of aflatoxin M₁ in human urine, *Cancer Res.*, **47**: 1848-1852, 1987.

ÖZGEÇMİŞ

1968 Ankara Etimesgut doğumlu Hülyam GÜN ilköğrenimini 1978 yılında Cengiz Topel İlkokulunda, orta öğrenimini 1985 yılında Süleyman Çakır Lisesinde Eskişehir’de tamamladı. 1991 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 1993 yılında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. Halen aynı görevde çalışmaktadır.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANİZASYON MERKEZİ