



**KARACİĞER HASARI OLUŞTURULMUŞ  
SIÇANLARDA BETULİNİK ASİT  
UYGULAMASININ PROTEİN VE LİPİD PROFİLİ  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Gülşah BEKTAŞ**

**Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Güler YENİCE**

**Yüksek Lisans Tezi-2019**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARACİĞER HASARI OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA  
BETULİNİK ASİT UYGULAMASININ PROTEİN VE  
LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Gülşah BEKTAŞ**

**Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Güler YENİCE**

**ERZURUM  
2019**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KARACİĞER HASARI OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA  
BETULİNİK ASİT UYGULAMASININ PROTEİN VE LİPİD  
PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Gülşah BEKTAŞ**

**Tez Savunma Tarihi** : 28.08.2019

**Tez Danışmanı** : Doç. Dr. Güler YENİCE (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Mehmet GÜL (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. Recep GÜMÜŞ (Sivas Cumhuriyet Üniversitesi)

**Onay**

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Duygu ARIKAN**  
Enstitü Müdürü

**Yüksek Lisans Tezi**  
**ERZURUM - 2019**

# İÇİNDEKİLER

<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>I</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>III</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>VI</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Karaciğer Anatomisi .....	3
2.2. Karaciğerin Fonksiyonları .....	3
2.2.1 Karaciğerin Karbonhidrat Metabolizması ile İlgili Fonksiyonu .....	4
2.2.2 Karaciğerin Lipid Metabolizması ile İlgili Fonksiyonu .....	5
2.2.3 Karaciğerin Protein Metabolizması ile İlgili Fonksiyonu.....	6
2.3. Karaciğer Toksisitesi .....	7
2.4. Asetaminofen .....	8
2.4.1. Asetaminofen Toksisitesi.....	9
2.5. Betulinik Asit.....	10
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>13</b>
3.1. Materyal .....	13
3.1.1. Örneklerin toplanması.....	13
3.2. Metot.....	13
3.2.1. Çalışma Gurupları.....	13
3.2.2. Trigliserit Analizi.....	14

3.2.3 Total Kolesterol Analizi.....	15
3.2.4. Yüksek Performans İnce Tabaka Kromatografı (YPİTK).....	16
3.2.5. Lipid Profilinin Belirlenmesi .....	16
3.2.6. Protein Profillerinin Belirlenmesi .....	17
3.2.7. SDS-PAGE Analizi.....	18
3.2.8. İstatistiksel Analizler .....	20
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>21</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>26</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>31</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>32</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>42</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>42</b>
<b>EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....</b>	<b>43</b>
<b>EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU .....</b>	<b>44</b>

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada bana destek veren bilgi ve birikimiyle yardımcı olan ve çalışmalarımı yönlendiren çok kıymetli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Güler YENİCE' ye deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı üyesi Doç. Dr. Özgür KAYNAR' a, hayatım boyunca desteğini hep hissettiğim canım aileme, özellikle her konuda bir arkadaş gibi yanımda olan annem Gülşen BEKTAŞ, babam Tahsin BEKTAŞ ve kardeşlerime teőekkürü borç bilirim...

**Gülşah BEKTAŞ**

## ÖZET

### **Karaciğer Hasarı Oluşturulmuş Sıçanlarda Betulinik Asit Uygulamasının Protein ve Lipid Profili Üzerine Etkileri**

**Amaç:** Bu çalışma asetaminofen ile karaciğer hasarı oluşturulmuş ratlarda betulinik asidin (25 mg/kg gün) protein ve lipid profili üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yürütülmüştür.

**Materyal ve Metot:** Çalışmada, toplam kırk adet, Wistar cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar biri kontrol olmak üzere dört gruba ayrılmış ve her kafeste beş hayvan bulunacak şekilde muhafaza edilmiştir. Deneme 15 gün sürmüştür. Deneme sonunda sakrifiye edilen hayvanlardan alınan serum örneklerinde AST, ALT, ALP, trigliserit, kolesterol ve total protein düzeyleri analiz edilmiştir. Serum örneklerinde ve karaciğer dokusu örneklerinde protein ve lipid profilleri analiz edilmiştir. Veriler, tek yönlü ANOVA kullanılarak analiz edilmiştir.

**Bulgular:** Asetaminofen ile karaciğer toksisitesi oluşturulan grupta kontrole göre ALT, AST ve ALP düzeylerinde önemli derecede ( $P<0.001$ ) artış gözlenirken, betulinik asit uygulaması yapılan tedavi grubunda söz konusu değerlerin kontrole yakın düzeylerde olduğu gözlenmiştir. Serum trigliserit ve kolesterol değerleri toksisite oluşturulan grupta kontrole göre yüksek ( $P<0.001$ ), total protein düzeyi ise düşük tespit edilmiştir. Tedavi grubunda serum trigliserit düzeyi toksisite oluşturulan gruba göre önemli derecede düşük, total protein değeri ise yüksek bulunmuştur. Total oksidan durum değerinin toksisite oluşturulmuş grupta diğer tüm gruplara göre önemli derecede ( $P<0.001$ ) yüksek olduğu gözlenmiştir. Karaciğer dokusu total protein düzeyi toksisite oluşturulan grupta diğer gruplara göre düşük bulunurken, tedavi grubunda total protein düzeyinin kontrole yakın olduğu gözlenmiştir.

**Sonuç:** Asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında serum ve karaciğer dokusu lipid ve protein profilinin olumsuz etkilendiği, betulinik asit uygulamasının bu olumsuz etkileri iyileştirme etkisinin bulunabileceği gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Asetaminofen, betulinik asit, karaciğer hasarı, protein profili, lipid profili

## ABSTRACT

### Effects of Betulinic Acid Application on Protein and Lipid Profile in Liver

#### Damaged Rats

**Aim:** The aim of this study was to investigate effects of betulinic acid (25 mg/kg, day) on protein and lipid profile in rats with acetaminophen-induced liver damage.

**Material and method:** Forty male Wistar rats were used in experiment. The animals were divided into four groups, one of which was a control, and five animals were kept in each cage. The experiment lasted 15 days. At the end of the experiment, serum, AST, ALT, ALP, triglyceride, cholesterol and total protein levels were analyzed. Protein and lipid profiles were analyzed in serum samples and liver tissue samples. Data were analyzed using one-way ANOVA.

**Results:** In acetaminophen-induced liver toxicity group, ALT, AST and ALP levels increased significantly ( $P < 0.001$ ) compared to control group, while these values were close to control levels in the treatment group treated with betulinic acid. Serum triglyceride and cholesterol levels were determined to be higher ( $P < 0.001$ ) and total protein levels were lower in the toxicity group compared to the control group. Serum triglyceride levels were significantly lower and total protein values were higher in the treatment group compared to the toxicity group. Total oxidant status was significantly higher in the toxicity group compared to all other groups ( $P < 0.001$ ). Liver tissue total protein level was found to be lower in the toxicity group compared to the other groups, while total protein level in the treatment group was close to the control group.

**Conclusion:** It was observed that serum and liver tissue lipid and protein profile were adversely affected in acetaminophen induced liver damage and betulinic acid application could have an improvement in these negative effects.

**Key words:** Acetaminophen, betulinic acid, liver damage, protein profile, lipid profile



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AG</b>	: Açıl gliserol
<b>ALP</b>	: Alkale fosfataz
<b>ALT</b>	: Alanin aminotransferaz
<b>AMP</b>	: Adenozin monofosfat
<b>APAP</b>	: Asetaminofen
<b>APS</b>	: Amonyum persülfat
<b>AST</b>	: Aspartat aminotransferaz
<b>CE</b>	: Kolesterol esteri
<b>COL</b>	: Kolesterol
<b>CoA</b>	: Koenzim-A
<b>CRP</b>	: C-Reaktif protein
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	: Distile su
<b>dL</b>	: Desilitre
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetraasetik asit
<b>FFA</b>	: Serbest yağ asidi
<b>GGT</b>	: Gama-glutamil transferaz
<b>GSH</b>	: Glutation
<b>HCL</b>	: Hidroklorik asit
<b>HIV</b>	: Human Immunodeficiency Virus
<b>ISAEC</b>	: International Serious Adverse Event Consortium
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>NAPQI :</b>	: N-asetil-pbenzokinonimin
<b>nm</b>	: Nanometre

<b>PL</b>	: Fosfolipit
<b>SDS</b>	: Sodyum dodesil sülfat
<b>TAG</b>	: Triaçil gliserol
<b>TAS</b>	: Total antioksidan durum
<b>TCA</b>	: Sitrik asit döngüsü
<b>TEMED</b>	: Tetrametiletildiamin
<b>TG</b>	: Trigliserit
<b>TOS</b>	: Total oksidan durum
<b>TP</b>	: Total protein
<b>ULN</b>	: Normal üst sınır
<b>YPİTK</b>	: Yüksek Performans İnce Tabaka Kromatografi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Şekil No

### Sayfa No

- Şekil 4.1.** Serum protein elektroforetogramı. Lane 1 Moleküler ağırlık markeri, Lane 2-3 Kontrol, Lane 4-5 Betulinik asid, Lane 6-7 Asetaminofen, Lane 8-9 Tedavi. .... 24
- Şekil 4.2.** Total karaciğer homojenatı protein elektroforetogramı. Lane 1 Moleküler ağırlık markeri, Lane 2-3 Kontrol, Lane 4-5 Betulinik asid, Lane 6-7 Asetaminofen, Lane 8-9 Tedavi..... 24
- Şekil 4.3.** Total karaciğer homojenatı lipid ince tabaka kromatogramı. Lane 1-4 Kontrol, Lane 5-8 Betulinik asit, Lane 9-12 Asetaminofen, Lane 13-18 Tedavi..... 25

## TABLULAR DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 3.1.</b> Triglicerid ölçümü için örnek ve standartlar .....	15
<b>Tablo 3.2.</b> Tüp karışım miktar tablosu .....	15
<b>Tablo 3.3.</b> SDS-PAGE jellerinin kimyasal kompozisyonları.....	19
<b>Tablo 4.1.</b> Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin karaciğer enzimleri üzerine etkisi. ....	21
<b>Tablo 4.2.</b> Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin total antioksidan durum, total oksidan durum üzerine etkileri.....	21
<b>Tablo 4.3.</b> Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin serum protein, trigliserit ve kolesterol düzeylerine etkisi.....	22
<b>Tablo 4.4.</b> Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin karaciğer protein, trigliserit ve kolesterol düzeylerine etkisi.....	23
<b>Tablo 4.5.</b> Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin total karaciğer homojenatı lipit profili üzerine etkisi.....	23

# 1. GİRİŞ

Karaciğer deriden sonra vücutta en büyük organ olup birçok hayati fonksiyonda rol almaktadır. Protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmalarında önemli fonksiyonları olan karaciğer, aynı zamanda birçok plazma proteinini üretme, vücuda alınmış toksik maddelerin detoksifikasyonu, vücut için gerekli birçok vitamin ve minerallerin depolanması gibi hayati görevleri olan bir organdır.

Karaciğer çok küçük bir parçası kalana kadar normal fonksiyonunu sürdürebilen ve rejenerasyon özelliğine sahip bir organ olmasına rağmen fonksiyonunu tamamen yitirmesi durumunda kısa sürede ölüm gerçekleşmektedir. Çok sayıda reçeteli ilaç, küçük kimyasal moleküller, biyolojik ajanlar, geleneksel ilaçlar, doğal ilaçlar, sağlık ürünleri, bitkisel takviyeler ve diyet takviyeleri karaciğer hasarına yol açabilmektedir. Karaciğer fonksiyon bozukluğunun en önemli nedenlerinden biri ilaca bağlı karaciğer hasarıdır.

Asetaminofen analjezik ve antipiretik özelliğe sahip, en sık kullanılan ilaçlardan biridir. Önerilen dozlarda güvenli ve etkili bir ilaç olmakla birlikte akut aşırı doz alımı veya günlük doz miktarının aşılması durumunda hepatotoksisite ve akut karaciğer yetmezliğine neden olma potansiyeline sahiptir. İlaça bağlı karaciğer hasarlarında adı en sık geçen ilaçlardan biri asetaminofendir. Genel olarak, oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun, asetaminofen kaynaklı akut karaciğer hasarının patogeneğinde merkezi rol oynadığı düşünülmektedir. Asetaminofen toksisitesi sıçanlarda bitki ekstraktlarının ve doğal bileşiklerin hepatoprotektif aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan deneysel modellerden biridir.

Betulinik asit yaygın olarak huş ağaçlarından (*Betula Pendula*) izole edilebilen fakat birçok bitki türünde de bulunabilen, pentasiklik lupan tipi bir triterpendir. Betulinik asit çok çeşitli farmakolojik özellik sergilemekte olup, son yıllarda antioksidan, anti-inflamatuar, anti-tümör, anti-anjiyojenez, anti-viral, anti-HIV, anti-neoplastik ve

anti-plazmodial özelliklerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar güncellik kazanmıştır. Betulinik asidin farmakolojik özellikleri düşünülerek, asetaminofen ile karaciğer hasarı oluşturulmuş ratlarda, betulinik asidin karaciğer enzimleri ile protein ve lipid profilleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla bu çalışma yürütülmüştür.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer (liver, hepar) vücuttaki en büyük solid organ olup çok sayıda fonksiyona sahiptir.<sup>1</sup> Karaciğer aynı zamanda vücuttaki en büyük bez olup son derece vaskülerdir. Arteriyel kan kaynağını hepatik arterden alır ve portal ven kanı intestinal sistemden kendisine iletir. Karaciğer kanı, inferior vena kavaya açılan hepatik damarlar tarafından boşaltılır. Deriden sonra vücutta en büyük organ olup, yetişkinlerde vücut ağırlığının yaklaşık 1/50'ini oluşturur. Karın bölgesinin sağ üst kısmını kaplar. Diyaframla yakın ilişki içindedir ve kendisine koruma sağlayan kaburgalarla kaplıdır. Doğumda karaciğer göreceli olarak daha büyüktür.<sup>2,3</sup>

Karaciğer %76 su, %16.4 gliserid ve proteinler, %5-10 glikojen, %2.2 lipidlerden oluşmaktadır<sup>4</sup>. Sindirim sistemi ile dolaşım sistemi arasında bir bekçi gibi görev alır; toksik maddeleri işlemek ve detoksifiye etmek, besinleri depolamak ve dönüştürmek, plazma proteinlerini sentezlemek, glukoneogenez, insülin ve diğer hormonların yıkımlanması, yağların sindiriminde görevli olan safrayı salgılamak başta olmak üzere, sayısız metabolik fonksiyonu gerçekleştirir. Karaciğer çok küçük bir parçası kalana kadar normal fonksiyonunu sürdürebilir ve rejenerasyon özelliğine sahiptir. Fonksiyonunu tamamen yitirmesi durumunda ise kısa sürede ölüm gerçekleşir.<sup>3,4</sup>

### 2.2. Karaciğerin Fonksiyonları

Protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmalarında önemli fonksiyonları olan karaciğer, ayrıca birçok plazma proteinini üretme, vücuda alınmış toksik maddelerin detoksifikasyonu, vücut için gerekli birçok vitamin ve minerallerin depolanması gibi hayati görevleri olan bir organdır.<sup>4,5</sup>

Karaciğer 12 ana metabolik alandaki 70 kısmi fonksiyonun, sürekli veya biyolojik ritimlerde devam etmesini veya spesifik gereksinimlere göre değişmesini sağlamaktadır.

Bu 12 ana metabolik alan;

- Bilirubin metabolizması
- Porfirin metabolizması
- Safra asidi metabolizması
- Amino asit ve protein metabolizması
- Karbonhidrat metabolizması
- Lipit ve lipoprotein metabolizması
- Hormon metabolizması
- Vitamin metabolizması
- İz elementler ve karaciğer
- Biyotransformasyon ve detoksifikasyon fonksiyonu
- Alkol yıkımlanması
- Asit-baz dengesi olarak sıralanmaktadır.<sup>4, 5</sup>

Bir karaciğer hücresinde yaklaşık 500 ayrı biyokimyasal işlem gerçekleşmektedir.<sup>3, 5, 6</sup>

### **2.2.1 Karaciğerin Karbonhidrat Metabolizması ile İlgili Fonksiyonu**

Glukozun glikojen şeklinde depo edilmesi, ihtiyaç halinde glikojenin parçalanması, glukoneogenez, enerji için glukozun yıkımı, diğer monosakkaritlerin glukozu çevrilmesi, glukozun diğer monosakkaritlere veya yağa dönüştürülmesi karaciğerde gerçekleşen olaylardır.<sup>4, 6</sup>

Karaciğer kan glukoz seviyesinin korunmasında merkezi bir rol oynamaktadır. Besinlerin vücuda alınmasını takiben, bağırsaklardan emilen karbonhidratlar öncelikle karaciğere taşınır. Karaciğer, portal dolaşımdaki glukozun yaklaşık %87'sini alır. Fazla



glukoz karaciğerde glikojen olarak depolanmaktadır (glikojenezis)<sup>7</sup>. Bu işlem insülin salınımı ile stimüle edilmektedir. Glikojen daha sonra açlık durumunda, kan glukoz seviyesi düştüğü zaman, glukozun salınması için yıkımlanmaktadır. Bu reaksiyon glikojenoliz olarak isimlendirilmektedir. Glukoz daha sonra vücutta kullanılmak üzere kan dolaşımına girer. Karaciğer aynı zamanda amino asit, laktat, piruvat ve gliserol gibi karbonhidrat olmayan maddelerden de glukoz sentezlemektedir (glukoneojenezis). Glukoneojenezis, kortizol ve glukagon tarafından uyarılmakta ve insülin tarafından inhibe edilmektedir. Böylece karaciğer, karbonhidrat metabolizması bağlamında glukoz homeostazının korunmasına dört farklı şekilde katkıda bulunur: Glikojenezis, glikojenolizis, glikoneojenezis ve glikolizis (enerji için, glukozun enzimlerle pirüvik asite kadar yıkılması).<sup>5</sup>

### **2.2.2 Karaciğerin Lipid Metabolizması ile İlgili Fonksiyonu**

Yağ asitlerinin sentez ve yıkımı bununla birlikte yağ asitlerinden trigliserid oluşumu, fosfolipit, lipoprotein, keton, kolesterol sentezi, safra asitleri ve safranin üretilmesi karaciğerde meydana gelen en önemli olaylardır.<sup>4, 6, 7</sup>

Yağ asitlerinin sentezi (lipojenez) Asetil-CoA'dan, hepatositlerin sitoplazması içinde gerçekleşmektedir. İlk olarak, Asetil-CoA, asetil karboksilaz tarafından Malonil-CoA'ya dönüştürülür. Bu adım, lipojenezin düzenlenmesinde önemli bir adım olup, sitrat tarafından aktif hale getirilip, AMP (Adenozin monofosfat) tarafından inhibe edilmektedir. Daha sonra bu 2 karbon molekülü (malonil-CoA) yağ asidi sentezi tarafından bir yağ asidine eklenir. Bu yağ asidi daha sonra taşıyıcı bir proteine bağlanır. Lipogenez, insülin tarafından uyarılır, glukagon ve adrenalın tarafından inhibe edilir.<sup>4, 6</sup>

Açlık veya stres durumunda, karaciğerde yağ asitleri B-oksidasyon için aktive edilir (lipoliz). Bu olay mitokondride meydana gelir ve TCA (Tricarboxylic acid cycle-Sitrik asit döngüsü) döngüsüne girebilen veya keton gövdeleri üretmek için

kullanılabilecek asetil-CoA'lar üretilir. Uzun zincirli yağ asitleri her defasında 2 karbon asetat ünitesine bölünür ve bunlar asetil-CoA oluşturmak için koenzim-A ile birleştirilir. Bu asetil-CoA'lar daha sonra TCA döngüsünün başlangıcı için sitrat oluşturmak üzere oksaloasetat ile birleştirilmektedir. Lipoliz glukagon ve adrenalin ile uyarılmakta, insülin tarafından inhibe edilmektedir.<sup>4,7</sup>

### **2.2.3 Karaciğerin Protein Metabolizması ile İlgili Fonksiyonu**

Karaciğer serum proteinlerinin çoğunun ana kaynağıdır<sup>8</sup>. Protein sentezi ve yıkımlanmasında önemli rolü olan bir organdır. Proteinler, besinlerle alınan amino asitler kullanılarak karaciğerde sentezlenebilmektedir. Protein sentezi, insülin ve büyüme hormonu tarafından uyarılmaktadır. Albümin, CRP (C-Reaktif protein), kan pıhtılaşma faktörleri (Vitamin K'ya bağımlı olarak faktör II, VII, IX ve X), trombopoietin, anjiyotensinojen karaciğerde sentezlenmektedir.<sup>6</sup>

Besinlerle alınan fazla amino asitlerin (proteinlerin veya azot bileşiklerin sentezi için gerekli olmayan amino asitlerin) katabolizmasında da (yıkımlanması) karaciğer önemli bir role sahiptir. Bu amino asitler karaciğerde metabolize edilirler, ancak amino asit katabolizma ürünü olan amino grubu potansiyel olarak toksiktir ve uzaklaştırılması gerekmektedir. Bunun için iki yol bulunmaktadır; transaminasyon ve deaminasyon. Transaminasyonda amino grubu, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) aracılığı ile ketoasitlere aktarılmaktadır. Bu amaçla amino grubu, glutamat oluşturmak üzere alfa-ketoglutarata veya aspartat oluşturmak üzere oksaloasetata eklenebilir.<sup>4,7</sup>

Deaminasyon işleminde ise amino grubu, ketoasit ve amonyak üretilmesi için amino asitten ayrılmaktadır. Bu işlemde, yüksek özgülüklü glutaminaz veya düşük özgülüklü L + D amino asit oksidaz enzimleri görev almaktadır. Amonyak daha sonra

toksisite nedeniyle uzaklaştırılması gereken bir amonyum iyonuna dönüştürülür. Amonyum ise glutamin veya üre döngüsü yoluyla uzaklaştırılır.<sup>4, 6</sup>

### 2.3. Karaciğer Toksisitesi

Karaciğer fonksiyon bozukluğunun en önemli nedenlerinden biri, asemptomatik transaminit, akut hepatit, kronik hepatit, kolestatik ve karaciğer yetmezliği gibi geniş bir semptom yelpazesine yol açabilen ilaca bağlı karaciğer hasarıdır<sup>9, 10</sup>. Çok sayıda reçeteli ilaç, küçük kimyasal moleküller, biyolojik ajanlar, geleneksel ilaçlar, doğal ilaçlar, sağlık ürünleri, bitkisel takviyeler ve diyet takviyeleri karaciğer hasarına yol açabilmektedir.<sup>9, 11, 12</sup>

Steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçlar, anti-enfektif ilaçlar (anti-tüberküloz ilaçlar), anti-kanser ilaçları, hormonal ilaçlar, immünosüpresif ilaçlar, sedatif ve nöropsikiyatrik ilaçlar dahil olmak üzere ilaca bağlı karaciğer hasarına neden olan birçok ilaç sınıfı vardır<sup>12</sup>. İlaça bağlı karaciğer hasarında en sık adı geçen ilaç asetaminofen'dir<sup>13</sup>.

Karaciğer hasarı hepatosellüler, kolestatik veya iki tipin karışımı şeklinde olabilir<sup>14</sup>. Kolestatik hasar genellikle ilaç veya ilaç metabolitine bağlı olarak ortaya çıkar. İlaç veya ilaç metabolitleri, safra oluşumu ve salgılanması için gerekli olan kolefilik maddelerin ve ksenobiyotiklerin hepatobiliyer taşıyıcı sistemlerini inhibe ederler<sup>15</sup>. Hepatosellüler hasar, doğrudan hepatotoksisite ve doğuştan gelen ve adaptif immün yanıtları içeren birçok yolla oluşur<sup>16</sup>. İlacın neden olduğu karaciğer hasarı doza bağımlı/intrinsik veya çoğu durumda dozdan bağımsız/idiosenkratiktir. Diğer ilaçların çoğu doza bağımlı hepatotoksisite paternine neden olurken asetaminofen genellikle doza bağımlı bir şekilde karaciğer hasarına neden olmaktadır.<sup>17</sup>

İlaça bağlı karaciğer hasarı çoğu durumda, karaciğer testlerinde hafif ile orta dereceli yükselmeye neden olabilirken nadir durumlarda ölümcül sonuçlara yol açabilmektedir.<sup>18</sup> Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalik

fosfataz (ALP), gama-glutamyl transferaz (GGT) ve toplam bilirubin dahil karaciğer enzimlerinin yükselmesine neden olabilmektedir<sup>16</sup>. Ayrıca, ilaca bağlı hepatoselüler karaciğer hasarı, kolestatik hasarla karşılaştırıldığında ALP'ye göre daha yüksek ALT yükselmesine neden olmaktadır.<sup>19</sup> Uluslararası Ciddi Olumsuz Olaylar Konsorsiyumu (ISAEC- International Serious Adverse Event Consortium) 2011 yılında, ilaç kaynaklı karaciğer hasarını belirlemek için aşağıdaki modifiye biyokimyasal kriterleri önermiştir.<sup>20</sup>

- Alanin transferaz,  $\geq 5$  ULN (Normal üst sınır)
- Alkalın fosfataz,  $\geq 2$  ULN, özellikle 5'-nükleotidaz veya GGT'li ve kemik hastalıkları ile ilişkili ALP yüksekliği olmayan hastalarda
- Alanin transferaz,  $\geq 3$  ULN ve toplam bilirubin,  $\geq 2$  ULN

Genel olarak, karaciğer testlerinin yükselmesi, ilaca maruz kalma öyküsü mevcut olduğunda ilaca bağlı karaciğer hasarına bağlanabilmektedir. İlacın kesilmesi durumunda karaciğer hasarı geri dönüşümlüdür, iyileşme gerçekleşebilir. İlacın yeniden alımında nüksetme durumu vardır.<sup>21</sup>

#### **2.4. Asetaminofen**

Asetaminofen (Parasetamol, N-asetil-P-aminofenol, APAP), analjezik ve antipiretik özelliklere sahip, orta derecede lipit ve suda çözünebilir bir asetanilit türevidir.<sup>22, 23</sup> İlk kez Morse<sup>24</sup> tarafından 1878'de tanımlanmış ve 1893 yılında tıbbi kullanıma sunulmuştur<sup>25</sup>. Parasetamol 100 yıldan uzun bir süredir, dünya çapında (kısmen “reçetesiz ilaç”) çocuklardan yaşlılara kadar değişen farklı hasta gruplarında, hafif-orta şiddette ağrı ve ateşin etkin ve güvenli tedavisi için kullanılmaktadır.<sup>22</sup>

Asetaminofen oral, rektal ve parenteral formülasyonlarda kullanılmaktadır.<sup>25</sup> Oral yoldan alındığında sindirim sisteminden hızlı bir şekilde tamamına yakını absorbe edilerek ilk geçiş metabolizmasına maruz kalır (hepatik ekstraksiyon oranı yaklaşık

0.2'dir). Biyoyararlanımı yaklaşık %80'dir. Emilme yarı ömrü ve en yüksek plazma seviyelerine ulaşma süresi sırasıyla 4.5 ve 20 dk'dır. %5-20 oranında plazma proteinlerine ve %10-20 oranında kırmızı kan hücrelerine bağlanır. İlaç plasenta ve kan-beyin bariyerini geçer ve vücut içinde düzgün, dengeli dağılır.<sup>22</sup>

Asetaminofen'in metabolizması, öncelikle karaciğerde faz I (farklı CYP-izofomlarının aracılık ettiği) ve faz II reaksiyonları (konjugasyonlar) ile gerçekleşir<sup>22</sup>. Terapötik dozlarda alınan asetaminofen büyük oranda, faz II konjuge enzimler, özellikle UDP-glukuronosiltransferaz ve sülfotransferaz ile metabolize edilerek, toksik olmayan bileşiklere dönüştürülmekte ve idrarla atılmaktadır. Değişime uğramadan idrarla atılan kısmı ise çok azdır. Geriye kalan yaklaşık %5-9 civarındaki APAP ise, sitokrom P450 enzimleri tarafından yüksek reaktif ara metabolit olan N-asetil-p-benzokinonimin'e (NAPQI) metabolize edilmektedir. Genellikle NAPQI, glutation (GSH) ile konjuge edilerek hızlı bir şekilde detoksifiye edilmektedir.<sup>23</sup>

#### **2.4.1. Asetaminofen Toksisitesi**

Asetaminofen (APAP) analjezik ve antipiretik özelliğe sahip, en sık kullanılan ilaçlardan biridir.<sup>26</sup> Yetişkinlerde önerilen asetaminofen dozu; ağız yoluyla her 4-6 saatte 325-650 mg olmak üzere günde en fazla 4 g/gün olup, yüksek hepatotoksisite riski olan hastalarda günde en fazla 2 g tavsiye edilmektedir.<sup>27</sup>

Asetaminofen, önerilen dozlarda güvenli ve etkili bir ilaç olsada akut aşırı doz alımı veya günlük doz miktarının aşılması durumunda hepatotoksisite ve akut karaciğer yetmezliğine neden olma potansiyeline sahiptir.<sup>28-31</sup> Genel olarak, oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun, APAP kaynaklı akut karaciğer hasarının patogeneğinde merkezi rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>32</sup> APAP toksisitesinin, APAP metabolizması, oksidatif stres, endoplazmik retikulum stresi, otofaji, steril enflamasyon, mikrosirkülasyon disfonksiyonu ve telafi edici karaciğer onarımı ve rejenerasyonu dahil

olmak üzere çok aşamalı ve çok sinyalli yollardan oluştuğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, aşırı dozda APAP alımında faz II metabolize edici enzimler doyurulmakta, aşırı NAPQI varlığına bağlı olarak GSH tüketilmekte ve böylece serbest NAPQI, mitokondriyal yağ asidi β-oksidasyonunu baskılayan ve masif nekroz ve hepatositlerin apoptozisi ile sonuçlanan hücresel proteinlerde, özellikle mitokondriyal proteinlerde sülfhidril gruplarının kovalent bağlanmasına yol açmaktadır.<sup>33-35</sup> Sonuç olarak mitokondriyal oksidatif stress, işlev bozukluğu ve en nihayetinde hepatositlerde nekroz şekillenmektedir.<sup>32</sup>

## 2.5. Betulinik Asit

Betulinik asit yaygın olarak huş ağaçlarından (*Betula Pendula*) izole edilebilen fakat birçok bitki türünde de bulunabilen, 3β-hidroksi-lup-20(29)-en-28-oik asit yapısında bir pentasiklik lupan tipi triterpendir.<sup>36-38</sup> Huş ağacı dış kabuğu (*Betula alba* cortex) temel olarak betulin (%34'e kadar) fakat aynı zamanda betulinik asit, oleanolik asit, lupeol ve eritrodiol gibi pentasiklik triterpenler içermektedir.<sup>39</sup> Huş ağacı triterpenleri antiviral, antimikrobiyal ve hepatoprotektif farmakolojik aktivitelere sahiptir.<sup>40-42</sup> Betulin, betulinik asit ve oleanolik asit ayrıca antitümör etkilere sahiptir.<sup>43-45</sup> Betulinik asit çok çeşitli farmakolojik özellik sergilemekte olup, antioksidan, antienflamatuar, anti-tümör, anti-anjiyojenez, anti-viral, anti-HIV, anti-neoplastik ve anti-plazmodial özelliklerinin olduğu bildirilmektedir.<sup>42, 46-50</sup>

Triterpenlerin toksisitesinin göreceli olarak düşük olduğu, 600 mg/kg intraperitoneal dozun iyi tolere edilebildiği bildirilmektedir.<sup>50-52</sup> Betulinik asidin, intraperitoneal uygulamadan 24 saat sonra çeşitli dokularda bulunduğu (500 mg/kg; fare) ve perirenal yağda en yüksek konsantrasyona ulaştığı, 0.23 saatte pik serum konsantrasyonuna (4.0µg/mL) ulaştığı bildirilmektedir.<sup>53</sup> Triterpenlerin nispeten düşük toksisiteye sahip olduğu ve bu nedenle terapötik olarak kullanılabilceği

bildirilmektedir<sup>54</sup>. Bununla birlikte, çözünürlüklerinin düşük olması (betulinik asidin sudaki çözünürlüğü 0.02 µg/mL)<sup>55</sup> biyoyararlanımlarını etkilemektedir<sup>54</sup>.

Betulinik asidin hepatoprotektif etkinliği ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Yi et al.<sup>56</sup> betulinik asidin farelerde hepatoprotektif aktivitesini ve in vivo alkolün neden olduğu karaciğer hasarını önleme potansiyelini ve mekanizmasını araştırdıkları çalışmalarında, farelere 14 gün boyunca oral yolla değişik dozlarda (0.25, 0.5 ve 1.0 mg/kg) betulinik asit vermişler ve son betulinik asit uygulamasından sonra 10 ml/kg dozunda oral olarak %50 alkol kullanarak karaciğer hasarı oluşturmuşlardır. Betulinik asidin doza bağlı bir şekilde alanin transaminaz, aspartat transaminaz, toplam kolesterol ve triasilgliseritlerin serum seviyelerini önemli ölçüde azalttığını, hepatoprotektif etkisinin altında yatan mekanizmanın, esas olarak doku redoks sisteminin iyileştirilmesi, antioksidan sistemin bakımı ve karaciğerde lipid peroksidasyonunun azalması yoluyla, antioksidan kapasiteyi arttırmış olduğunu bildirmişlerdir.

Quan et al.<sup>57</sup> insüline dirençli HepG2 hücreleri, primer sıçan hepatositleri ve yüksek yağlı diyetle beslenen ICR farelerinden karaciğer dokuları kullanarak yaptıkları çalışmalarında betulinik asidin, karaciğer hücrelerinde hücre içi lipid birikimini etkili bir şekilde iyileştirdiğini ve böylece yağlı karaciğer hastalığının önlenmesi için potansiyel bir terapötik madde olduğunu bildirmişlerdir.

Zheng et al.<sup>58</sup> D-galaktosamin/lipopolisakkarit (D-GalN/LPS) karaciğer toksisitesinin önlenmesinde betulinik asidin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında farelere, D-GalN/LPS enjeksiyonundan 1 saat önce farklı dozlarda (20 ve 50 mg/kg) intraperitoneal betulinik asit uygulamışlardır. Betulinik asit ile ön muamelenin, serum aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz artışlarını önemli ölçüde önlediğini, belirgin antioksidan etkiler gösterdiğini ve D-GalN/LPS kaynaklı akut karaciğer yetmezliğini önlediğini bildirmişlerdir.

Yi et al.<sup>59</sup> betulinik asidin deksametazonun neden olduğu timosit apoptozisi üzerine in vivo koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarında, farelere 14 gün boyunca günlük oral yolla değişik dozlarda (0.25, 0.5 ve 1.0 mg/kg) betulinik asit vermişler ve son dozdan 8 saat sonra intraperitoneal yolla, 25 mg/kg seviyesinde tek doz Dex vererek oksidatif stres yaratmışlardır. Betulinik asit ile n muamelenin, doza bağlı olarak Dex kaynaklı oksidatif hasarı hafiflettiğini bildirmişlerdir.

Jain et al.<sup>60</sup> betulinik asit içeren *Tecomella undulata* kök kabuğunun ve betulinik asidin hepatoprotektif etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sıçanlara, 7 gün boyunca *Tecomella undulata* metanolik özü veya betulinik asit veya silimarin vermişler ve ardından tek doz CCl<sub>4</sub> ile karaciğer hasarı oluşturmuşlardır. Çalışma sonucunda, *Tecomella undulata* metanolik özü veya betulinik asit ile n tedavi uygulanan sıçanlarda hepatosit hasarının önlendiği, *Tecomella undulata* kök kabuğunun hepatoprotektif potansiyelinin kısmen betulinik asit varlığına bağlı olduğu sonucuna varıldığını bildirmişlerdir.



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Örneklerin toplanması

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli etik kurul onayı Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (30.04.2019 tarih ve 5/93 sayılı karar).

Çalışmada, 40 adet, 250-300 gr ağırlıkta, Wistar cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, araştırma süresince 19-21 °C sabit sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/ karanlık sürelerin olduğu özel hazırlanmış odalarda korundu. Deneysel uygulamalar süresince ratlara standart ticari yemi (pellet yem) ve normal içme suyu verildi. Hayvanlar her kafeste 5 sıçan olacak şekilde bulunduruldu. Sıçanlar 1 haftalık adaptasyon süresi sonunda 4 gruba ayrıldı.

#### 3.2. Metot

##### 3.2.1. Çalışma Grupları

**1. Kontrol Grubu:** 10 sıçandan oluşan kontrol grubu deney süresi boyunca standart yem ve içme suyuyla beslendi. Kontrol grubundaki hayvanlara herhangi bir uygulama yapılmadı.

**2. Asetaminofen Grubu:** 10 sıçandan oluşan asetaminofen grubu deney süresi boyunca standart yem ve içme suyuyla beslendi. Asetaminofen grubundaki hayvanlara karaciğer hasarı oluşturmak üzere 15.günde 1 g/kg, tek doz asetaminofen intraperitoneal verildi.

**3. Tedavi Grubu:** 10 sıçandan oluşan tedavi grubu deney süresi boyunca standart yem ve içme suyuyla beslendi. Tedavi grubundaki hayvanlara 14 gün boyunca 25 mg/kg dozunda betulinik asit oral yolla verildi. 15.günde 1 g/kg tek doz asetaminofen intraperitoneal olarak uygulandı.

**4. Betulinik asit Grubu:** 10 sıçandan oluşan bu gruptaki hayvanlara deney süresi boyunca standart yem ve içme suyu ile 25 mg/kg dozunda betulinik asit oral yolla verildi.

Çalışma periyodu sonunda, asetaminofen uygulamasından 24 saat sonra tüm sıçanlar aynı gün isoflurane ile anesteziye alındıktan sonra kalplerinden kan alınarak sakrifiye edildi. Karaciğer doku örnekleri uygun petri kutularına alınarak çalışma zamanına kadar -80 °C'de saklandı. Analizlerde kullanılacak homojenatların hazırlanması için 1 gr karaciğer dokusu üzerine 10 ml PBS (pH 7.4) eklenerek Ultraturrax homojenizatörde 1 dk süreyle homojenize edildi ve elde edilen homojenatlar analizlerde kullanıldı. Lipid ve protein profili analizleri için kan örnekleri serum tüplerine alınıp oda sıcaklığında yaklaşık 1 saat bekletildi, 4000 x g'de 5 dk süre ile santrifüj edildi ve daha sonra elde edilen serum örnekleri (süpernatant) analiz edilene kadar -80°C'de muhafaza edildi.

### **3.2.2. Trigliserit Analizi**

Prensibi: Trigliserid, lipoprotein lipaz tarafından gliserol ve yağ asitlerine parçalanarak hidrolize edilir. Daha sonra gliserol, gliserol kinaz tarafından katalize edilen bir reaksiyonla adenozin trifosfat tarafından gliserol -3-fosfata ve adenozin difosfata fosforile edilir. Gliserol-3-fosfat daha sonra gliserolfosfat oksidaz tarafından dihidroksiaseton fosfat ve hidrojen peroksit'e dönüştürülür. Hidrojen peroksit, peroksidaz tarafından katalize edilen bir reaksiyonla kırmızı renkli kinonimin boyası üretmek üzere 4-aminoantipirin ve paraklorofenol ile tepkimeye girer. 505 nanometredeki absorbans artışı trigliserid düzeyi ile doğru orantılıdır.<sup>61</sup>

#### *Deneyin gerçekleştirilmesi*

Trigliserid ölçümü için örnek ve standartlar aşağı tablodaki gibi tüplere konuldu.

**Tablo 3.1.** Trigliserid ölçümü için örnek ve standartlar

	<b>Kör</b>	<b>Standart</b>	<b>Örnek</b>
Su (mL)	1.0	1.0	1.0
Standart ( $\mu$ L) 200 mg/dL	--	10	--
Örnek ( $\mu$ L)	--	--	10

Tüpler homojen şekilde karıştırıldı ve 10 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda tüplerdeki absorbans değerleri 505 nm de ölçüldü. Çevirme faktörü: mg/dL x 0.0113= mmol/L.

### **3.2.3 Total Kolesterol Analizi**

Prensibi: Önce kolesterol esteri kolesterol esterazla hidroliz edilerek serbest kolesterol meydana gelir. Kolesterol oksidaz, oksijen kullanılarak hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) oluşturur.  $H_2O_2$ , çeşitli bileşiklerle reaksiyona girerek renkli bir ürün meydana getirir. Oluşan renkli karışım 500 nm'de okunur. 500 nanometredeki absorbans artışı kolesterol düzeyi ile doğru orantılıdır.<sup>62</sup>

#### *Deneyin gerçekleştirilmesi*

Total kolesterol ölçümü için örnek ve standartlar aşağı tablodaki gibi tüplere konuldu.

**Tablo 3.2.** Tüp karışım miktar tablosu

	<b>Kör</b>	<b>Standart</b>	<b>Örnek</b>
Su (mL)	1.0	1.0	1.0
Standart ( $\mu$ L) 200 mg/dL	--	10	--
Örnek ( $\mu$ L)	--	--	10

Tüpler karıştırıldı ve 10 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda tüplerdeki absorbans değerleri 505 nm de ölçüldü. Çevirme faktörü: mg/dL x 0.0258 = mmol/L.

### **3.2.4. Yüksek Performans İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK)**

#### **YPİTK Validasyonu:**

*YPİTK Plakaların Ön Yıkaması:* YPİTK plakaları (Silica gel 60, MERCK) kromatografik geliştirmeden önce kromatografi tankında kloroform:metanol (2:1, h/h) karışımı ile tamamen geliştirilerek üzerlerindeki bulunan safsızlıklar uzaklaştırıldı.

**YPİTK Plakaların Aktivasyonu:** YPİTK plakaları örnekler yüklenmeden önce 100 °C etüvde 1 saat bekletilerek aktive edildi ve sonrasında desikatöre konarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Örneklerin uygulanmasına kadar burada bekletildi.<sup>63</sup>

**Kromatografi Tankının Dengelenmesi:** Kromatografi öncesi tanka lipidlerin geliştirilmesi için kullanılacak çözücü karışımı konarak [(n-hekzan: dietileter:asetik asid (80:20:2, h/h/h)] 30 dk tank dengelendi.<sup>63</sup>

### **3.2.5. Lipid Profilinin Belirlenmesi**

Bu işlem, 20x10 cm Silika Jel 60 F254 YPİTK plakası kullanılarak gerçekleştirildi. 1 ml plazma üzerine 1 ml n-hekzan/izo-propanol (2:1 (h/h)) karışımı eklendikten sonra tüplerin kapağı kapatılarak şiddetli bir şekilde vortekslenildi ve 10 dakika beklendikten sonra yeniden vortekslenildi. Bu işlem 2 defa daha tekrar edildi<sup>64</sup>. Vortekslenen tüpler 5000 xG'de 10 dk süreyle santrifüj edilerek üst faz (hekzan fazı) lipid standartları ile birlikte (kolesteril oleat, triolein, palmitik asid, kolesterol, gliseril 1,3-dipalmitat, ve L- $\alpha$ -fosfatidilkolin) YPİTK plakalarına yüklendi. Plakalara yüklenen lipid sınıfları hekzan: dietileter: asetik asit (80:20:2 (h/h/h)) karışımında 7 cm yürütülüp, oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutulan bu plakalar üzerine %8 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> içerisindeki %3'lük CuSO<sub>4</sub> püskürtüldü ve 150 °C'deki etüvde yaklaşık 10 dk süreyle yakılarak lipid bantları

görünür hale getirildi. YPİTK plakaları Epson Perfection V700 foto-tarayıcı ile fotoğrafı alındıktan sonra, her bir örneğe ait lipid bantlarının kapladığı alan Phoretix 1D (TL120) yazılımı kullanılarak tespit edilecek ve toplam karışımdaki % olarak ifade edildi.<sup>63</sup>

### 3.2.6. Protein Profillerinin Belirlenmesi

*Protein Profillerinin Belirlenmesinde Kullanılan Solüsyonların Hazırlanışı;*  
Akrilamid Stok Solüsyonu (%30): 14.6 g akrilamid ve 0.4 g N,N'-metilen bisakrilamid, 50 ml'ye distile suyla tamamlanıp ve manyetik karıştırıcı yardımıyla 30 dakika süreyle karıştırılmıştır. Süzgeç kâğıdından geçirilerek süzölmüş ve koyu renkli şişede +4 °C 'de muhafaza edilmiştir.

Stacking Jel Tamponu (0.5 M tris-HCl (pH 6.8): 6.1 g trizma-base yaklaşık 90 ml distile suda eritilerek ve 1 N HCl ile pH 6.8'e ayarlanmıştır. Toplam hacim 100 ml'ye distile su ile tamamlanarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Resolving Jel Tamponu (1.5 M tris-HCl (pH 8.8): 18.3 g trizma-base yaklaşık 90 ml distile suda eritilerek 1 N HCl ile pH 8.8'e ayarlanmış ve toplam hacim 100 ml'ye distile su ile tamamlanarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Tris-Glisin Elektrod Tamponu (pH 8.3): 1.515 g tris, 7.2 g glisin ve 0.25 g sodyum dodesil sülfat (SDS) distile su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.

Örnek Tamponu: 4 ml distile su, 1 ml 0.5 mol tris-HCl (pH 6.8) (stacking jel tamponu), 0.8 ml gliserol, 1.6 ml %10 SDS, 0.4 ml 2-β-merkaptoetanol, 0.2 ml %0.05 bromfenol blue karıştırılarak koyu renkli şişede, oda ısısında saklanmıştır. Sodyum Dodesil Sülfat (SDS): 10 g SDS 50 ml distile suda hafifçe karıştırılıp çözülerek toplam hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Amonyum Persülfat (APS): 100 mg amonyum persülfat üzerine 1 ml distile su ilave edilerek, kullanmadan hemen önce, taze olarak hazırlanmıştır. Bromfenol Blue

Solüsyonu: 50 mg bromfenol blue yaklaşık 5 ml distile suda çözülerek 10 ml'ye tamamlanmıştır.

Oriole Hazırlanması; Oriole stok solüsyonu 10 ul Deiyonize su 60 ml Metanol 400 ml Jeller 2 saat süreyle boyanmıştır.

### **3.2.7. SDS-PAGE Analizi**

Protein profili analizi Veteriner Fakültesi Biyokimya Laboratuvar'ında sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) metodu ile gerçekleştirilmiştir<sup>63</sup>. Düz cam plaka (10x8.5 cm) ile 1.5 mm kalınlığındaki plastik şeritleri (spacer) olan plaka üst üste gelecek şekilde bir araya getirilmiştir. İlk önce kimyasal kompozisyonu Tablo 3.3'de verilen rezolving jel 10 ml'lik bir enjektör ile plakaların arasına hava kabarcığı oluşturmadan üst kenara 2.5 cm kalıncaya kadar doldurulmuştur. Jelin dökülmesinin ardından 1 ml'lik bir enjektör ile jel yüzeyi üzerinde bütanol ile ince bir tabaka oluşturularak düz bir polimerizasyon hattı meydana getirilmiştir. Ortalama 2 saat süreyle polimerizasyon için beklendikten sonra bütanol süzgeç kâğıdıyla uzaklaştırılarak ve kimyasal kompozisyonu Tablo 3'de verilen stacking jel hazırlanıp, hava kabarcığı oluşturmadan bir enjektör yardımı ile dökülmüştür. Hemen ardından 1.5 mm kalınlığındaki taraklar yerleştirilerek ve polimerizasyon için en az 3 saat süreyle bekletilmiştir. Sürenin sonunda 11 taraklar çıkarılarak, polimerizasyon artıklarını uzaklaştırmak için numunelerin uygulanacakları kuyucuklar 3 defa tris-glisin elektrod tamponuyla (pH 8.3) yıkanıp ve yıkama sonrası kuyucuklar aynı tampon ile doldurulmuştur.

Örnekler çalışmadan bir gün önce derin dondurucudan çıkartılarak oda sıcaklığında çözdürülmüş ve eppendorf tüpe alınan 100 µl örnek üzerine 900 µl elektroforez örnek tamponu eklenip tüpler iyice karıştırılarak 100 °C 'de 1 dk süreyle

bekletildikten sonra 20 mA/jel sabit akım modunda yaklaşık 60 dakika süreyle elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir.

Serum ve karaciğer proteinleri 1 gece boyunca oriole solüsyonunda bekletilip ve jellerin Biorad Geldoc XR jel görüntüleme sisteminde fotoğrafı çekildikten sonra, her bir örneğe ait protein bantlarının “volume” değerleri ve toplam protein karışımındaki bireysel oranları Image Lab 5.0 jel analiz programı ile tespit edilmiştir.

**Tablo 3.3.** SDS-PAGE jellerinin kimyasal kompozisyonları

	<b>Rezolving jel</b> (% 10)	<b>Stacking Jel</b> (% 4)
dH <sub>2</sub> O (ml)	11	17
Tris-HCl pH 8.8 (ml)	7.5	-
Tris-HCl pH 6.8 (ml)	-	7.5
%10 SDS (µl)	300	300
Akrilamid stok (ml)	10	4
APS (µl)	150	150
TEMED (µl)	5.0	5.0

İçerik: Her vial 100 µl deiyonize su ile sulandırıldıktan sonra, yaklaşık 2-3.5 mg protein/ml, 62 mmol tris (pH 8.0), 1 mmol EDTA, %3 sükröz, %0.5 dithiothreitol ve %0.005 bromfenol blue içermektedir. Hazırlanışı: Protein standart solüsyonu 5 µl'lik porsiyonlara bölünüp, -20 °C 'de saklanmış ve elektroforez öncesi 20 µl örnek tamponu ilave edilerek, örneklerle birlikte 2-3 dakika 95 °C'lik suda bekletilmiştir. Uygulanışı: Örnek kuyucuklarına 15 µl ilave edilmiş ve 20 mA/jel sabit akımda yaklaşık 60 dakika süreyle elektroforez işlemine devam edilmiştir. Elektroforez sonrası doku örneklerine ait jeller oriol ile boyanıp, Biorad Gel Doc XR jel görüntüleme sisteminde fotoğrafı çekilerek, ImageLab jel analiz programı ile analiz edilmiştir. Proteinlerin molekül ağırlıklarının hesaplanması: Molekül ağırlıkları bilinen standart proteinlerin molekül

ağırlıkları ve jeldeki göç mesafeleriyle ilişkili olarak semi-logaritmik bir grafik yardımıyla örnek proteinin moleköl ağırlığının tespiti esasına dayanır. Her standart protein için Rf değeri hesaplanmış ve bunun için aşağıdaki formöl kullanılmıştır: Fotoğrafları çekilen serum proteinlerinin moleköl ağırlıkları yukarıdaki prensibe göre, BioRad firmasından temin edilen ImageLab programı ile otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda her bir protein bandının total protein konsantrasyonu içindeki “bireysel yüzde” değerleri kullanılarak, Lowry<sup>65</sup> yöntemiyle total protein miktarları hesaplanmış olan örneklerde “g” olarak bireysel protein miktarları belirlenmiştir.

### **3.2.8. İstatistiksel Analizler**

İstatistik analizler için SPSS Statistics 20.0 programı (IBM SPSS statistics for Windows, New York: IBM Corp)<sup>66</sup> programı kullanılmış olup, her grubun istatistiki hesaplamaları ve bu gruplara ait ortalama değerler arasındaki farkın önemliliği için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arasında bulunan farkın önemini kontrol etmek için Duncan testi uygulanmıştır.



## 4. BULGULAR

Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin karaciğer enzimleri üzerine etkisi Tablo 4.1’de verilmiştir. Asetaminofen grubunda kontrole göre ALT, AST ve ALP düzeylerinde önemli derecede ( $P<0.001$ ) artış gözlenirken, tedavi grubunda söz konusu değerlerin kontrole yakın olduğu gözlenmiştir.

**Tablo 4.1.** Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin karaciğer enzimleri üzerine etkisi.

Parametreler	Gruplar			
	Kontrol	Betulinik	Asetaminofen	Tedavi
AST, U/L	45.25±4.17 <sup>c</sup>	48.63±3.10 <sup>c</sup>	178.88±13.65 <sup>a</sup>	75.88±7.79 <sup>b</sup>
ALT, U/L	45.88±2.43 <sup>b</sup>	46.75±2.21 <sup>b</sup>	191.25±16.22 <sup>a</sup>	70.88±5.17 <sup>b</sup>
ALP, U/L	72.63±4.58 <sup>b</sup>	78.38±2.90 <sup>b</sup>	362.63±30.14 <sup>a</sup>	184.50±14.42 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Aynı satırda farklı harf bulunduran değerler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak anlamlıdır, ( $P<0.001$ ). AST; Aspartat aminotransferaz, ALT; Alanin aminotransferaz, ALP; Alkalen fosfataz.

Karaciğer hasarında betulinik asidin total antioksidan durum, total oksidan (TOS) durum üzerine etkileri Tablo 4.2’de verilmiştir. TOS değerinin toksisite oluşturulmuş grupta diğer tüm gruplara göre önemli derecede ( $P<0.001$ ) yüksek olduğu gözlenirken, total antioksidan durum değerlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

**Tablo 4.2.** Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin total antioksidan durum, total oksidan durum üzerine etkileri.

Parametreler	Gruplar			
	Kontrol	Betulinik	Asetaminofen	Tedavi
TAS, nmol/L	1.64±0.09	1.65±0.04	1.50±0.06	1.59±0.05
TOS, µmol/L	0.53±0.03 <sup>b</sup>	0.57±0.03 <sup>b</sup>	0.79±0.03 <sup>a</sup>	0.59±0.03 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>: Aynı satırda farklı harf bulunduran değerler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak anlamlıdır, ( $P<0.001$ ). TAS; total antioksidan durum, TOS; total oksidan durum.

Karaciğer hasarında betulinik asidin serum protein, trigliserit ve kolesterol düzeylerine etkisi Tablo 4.3'te verilmiştir. Serum trigliserit ve kolesterol değerleri toksisite oluşturulan asetaminofen gurubunda kontrole göre yüksek, total protein düzeyi ise düşük tespit edilmiştir ( $P<0.001$ ). Tedavi grubunda serum trigliserit düzeyi toksisite oluşturulan gruba göre önemli derecede düşük, total protein değeri ise yüksek bulunmuştur ( $P<0.001$ ).

**Tablo 4.3.** Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin serum protein, trigliserit ve kolesterol düzeylerine etkisi.

Parametreler	Gruplar			
	Kontrol	Betulinik	Asetaminofen	Tedavi
TG, (mg/dL)	138.82±4.72 <sup>c</sup>	143.26±4.55 <sup>c</sup>	190.27±6.09 <sup>a</sup>	163.01±4.83 <sup>b</sup>
COL, (mg/dL)	127.20±3.87 <sup>c</sup>	136.64±2.31 <sup>b</sup>	149.24±3.33 <sup>a</sup>	141.89±2.58 <sup>ab</sup>
TP, (g/dL)	5.38±0.04 <sup>a</sup>	5.28±0.06 <sup>a</sup>	4.77±0.06 <sup>c</sup>	4.98±0.04 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Aynı satırda farklı harf bulunduran değerler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak anlamlıdır, ( $P<0.001$ ). TG; trigliserit, COL; kolesterol, TP; Total protein.

Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin karaciğer protein, trigliserit ve kolesterol düzeylerine etkisi Tablo 4.4'te verilmiştir. Karaciğer dokusu total protein düzeyi toksisite oluşturulan grupta diğer gruplara göre önemli düzeyde düşük bulunurken ( $P<0.05$ ), tedavi grubunda kontrole yakın olduğu gözlenmiştir. Betulinik asidin total karaciğer homojenatı lipit profili üzerine etkisi ise Tablo 4.5'te verilmiştir. Karaciğer hasarı oluşturulan grupta triaçil gliserol ve fosfolipit düzeyleri kontrole göre düşük, kolesterol esteri, serbest yağ asidi ve kolesterol düzeyleri yüksek tespit edilirken ( $P<0.05$ ), açil gliserol düzeylerinde gruplar arasında fark gözlenmemiştir.

**Tablo 4.4.** Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin karaciğer protein, trigliserit ve kolesterol düzeylerine etkisi.

Parametreler	Gruplar			
	Kontrol	Betulinik	Asetaminofen	Tedavi
TG, umol/g	49.24±1.09 <sup>a</sup>	48.30±1.20 <sup>a</sup>	44.93±1.16 <sup>b</sup>	44.01±0.97 <sup>b</sup>
COL, umol/g	5.34±0.30	5.52±0.36	4.71±0.17	5.14±0.22
TP, mg/g	138.00±1.72 <sup>a</sup>	136.22±1.18 <sup>a</sup>	125.26±1.39 <sup>b</sup>	134.37±1.08 <sup>a</sup>

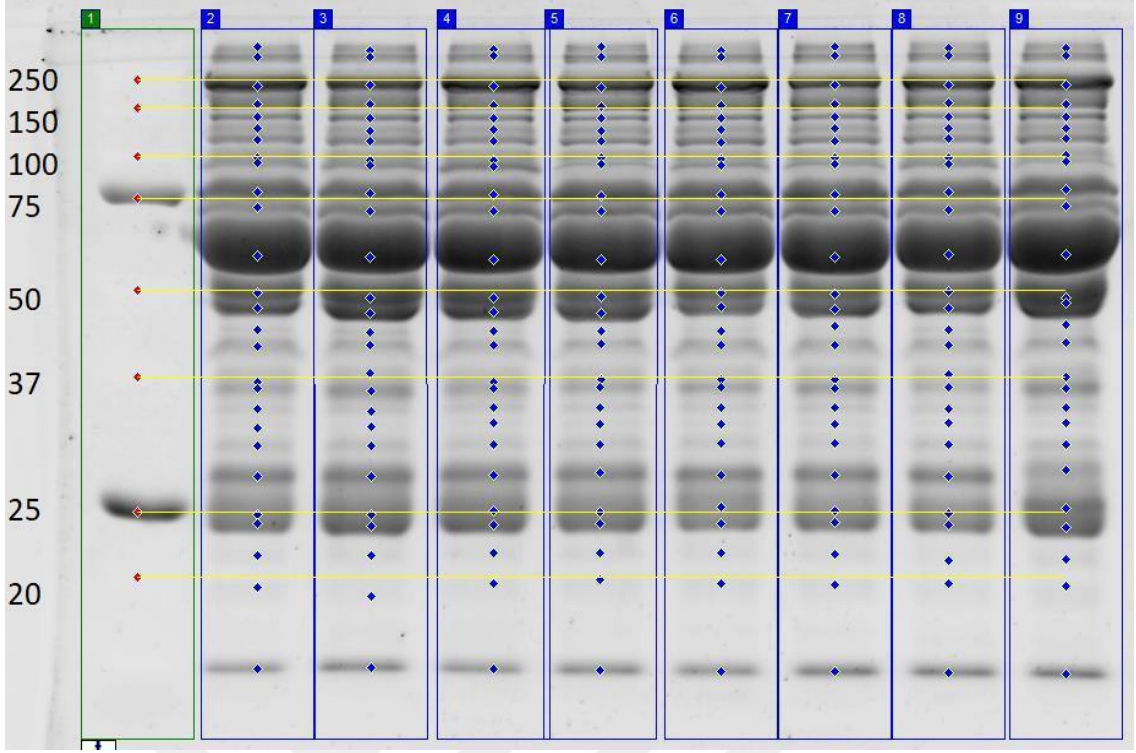
<sup>a,b</sup>: Aynı satırda farklı harf bulunduran değerler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak anlamlıdır, (P<0.05). TG; trigliserit, COL; kolesterol, TP; Total protein.

**Tablo 4.5.** Asetaminofen ile indüklenen karaciğer hasarında betulinik asidin total karaciğer homojenatı lipit profili üzerine etkisi.

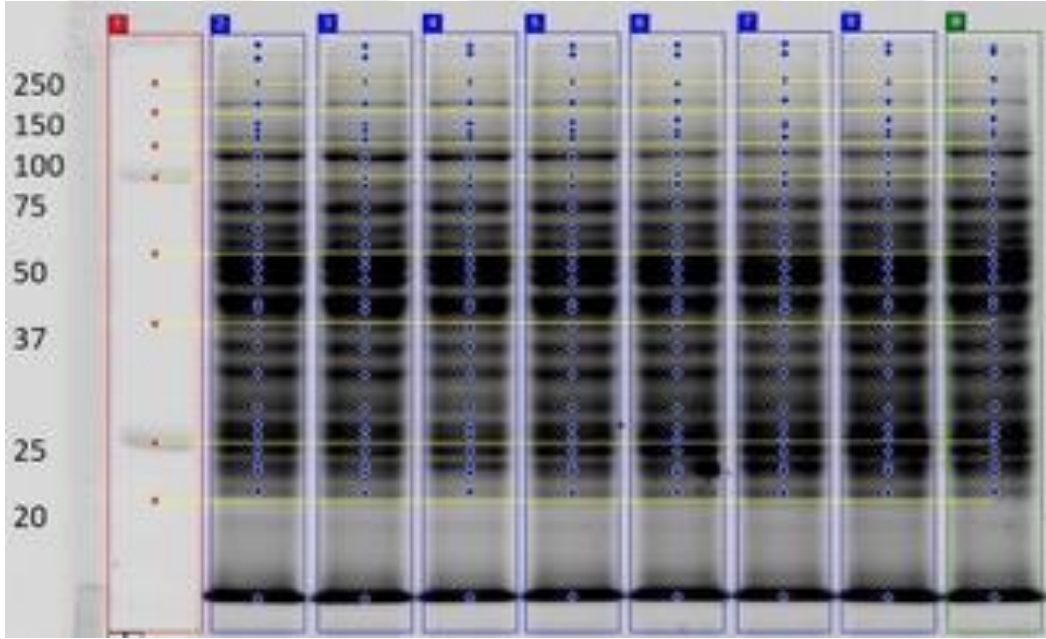
Parametreler	Gruplar			
	Kontrol	Betulinik	Asetaminofen	Tedavi
CE,%	32.11±0.32	32.28±0.3	30.56±0.33	31.42±0.84
TAG,%	21.62±0.65 <sup>a</sup>	19.35±0.22 <sup>b</sup>	19.44±0.58 <sup>b</sup>	20.62±0.41 <sup>ab</sup>
FFA, %	5.92±0.19 <sup>b</sup>	5.98±0.39 <sup>b</sup>	7.57±0.35 <sup>a</sup>	6.92±0.23 <sup>a</sup>
COL, %	18.17±0.53 <sup>b</sup>	19.92±0.57 <sup>a</sup>	20.95±0.70 <sup>a</sup>	19.79±0.46 <sup>ab</sup>
PL, %	16.38±0.27 <sup>a</sup>	16.53±0.40 <sup>a</sup>	13.49±0.55 <sup>c</sup>	15.18±0.37 <sup>b</sup>
AG, %	5.82±0.14 <sup>b</sup>	5.95±0.09 <sup>b</sup>	8.00±0.37 <sup>a</sup>	6.09±0.73 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Aynı satırda farklı harf bulunduran değerler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak anlamlıdır, (P<0.05). CE: kolesterol esteri, TAG; triaçil gliserol, FFA; serbest yağ asidi, COL; kolesterol, PL; fosfolipit, AG; açil gliserol.

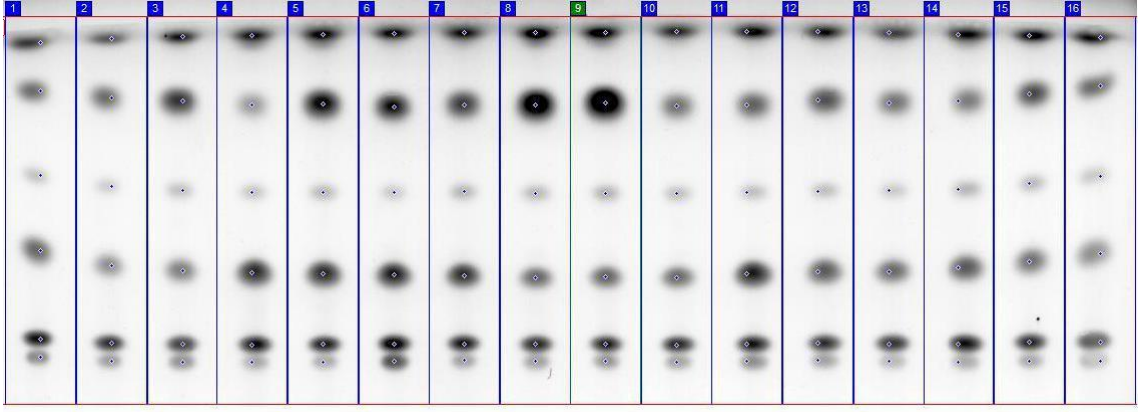
Karaciğer hasarında betulinik asidin serum protein profillerine etkisi Şekil 4.1’de, total karaciğer homojenatı protein profillerine etkisi Şekil 4.2’de, lipid profillerine etkisi ise Şekil 4.3’te verilmiştir.



**Şekil 4.1.** Serum protein elektroforetogramı. Lane 1 Moleküler ağırlık markeri, Lane 2-3 Kontrol, Lane 4-5 Betulinik asid, Lane 6-7 Asetaminofen, Lane 8-9 Tedavi.



**Şekil 4.2.** Total karaciğer homojenatı protein elektroforetogramı. Lane 1 Moleküler ağırlık markeri, Lane 2-3 Kontrol, Lane 4-5 Betulinik asid, Lane 6-7 Asetaminofen, Lane 8-9 Tedavi.



**Şekil 4.3.** Total karaciğer homojenatı lipid ince tabaka kromatogramı. Lane 1-4 Kontrol, Lane 5-8 Betulinik asit, Lane 9-12 Asetaminofen, Lane 13-18 Tedavi



## 5. TARTIŞMA

Karaciğer, organizmanın çeşitli metabolik ve fizyolojik homeostazları ile ilişkili ana organdır. İlaçlar, serbest radikaller, alkol, ksenobiyotikler besin takviyeleri ve kirleticiler, hepatit, siroz ve alkolik karaciğer hastalıklarına neden olan başlıca risk faktörleridir<sup>67, 68</sup>. Karaciğer fonksiyonunu uyarabilen ve hepatik koruma sağlayabilen veya hepatik hücrelerin yenilenmesinde yardımcı olabilecek az sayıda geleneksel ilaç vardır, ancak bunların belirli bir dozda hepatotoksik olduğu bilinmektedir<sup>69</sup>. Doğal bileşiklerin etkili alternatifler olarak değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Bitkisel ilaçlar, çeşitli hastalıkların tedavisinde farklı formülasyonları ile önemli bir rol oynamaktadır.

Asetaminofen analjezik ve antipiretik özelliklere sahip, önerilen dozlarda güvenli bir ilaç olarak kabul edilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, aşırı dozda alındığında insanlarda ve deney hayvanlarında hepatik nekroz, nefrotoksisite, ekstrahepatik lezyonlar ve hatta ölüme neden olabilmektedir<sup>70</sup>. Asetaminofen toksisitesi sıçanlarda bitki ekstraktlarının ve doğal bileşiklerin hepatoprotektif aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan deneysel modellerden biridir<sup>71-74</sup>. Asetaminofen ile karaciğer hasarı oluşturulan çalışmalarda asetaminofen dozu ve uygulama şekli; 2 ml/kg, intraperitoneal<sup>71</sup>, 250 mg/kg, intraperitoneal<sup>72</sup>, 300 mg/kg, intraperitoneal<sup>73</sup>, 1 g/kg, oral<sup>74</sup>, 2 g/kg, oral<sup>75</sup>, 1 g/kg<sup>76</sup> olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda ratlarda karaciğer hasarı oluşturmak için 1 g/kg, tek doz asetaminofen intraperitoneal olarak kullanılmıştır.

Hepatik hasarın açık bir işareti, hepatositlerin taşıma fonksiyonlarında meydana gelen rahatsızlıktan dolayı ALT, AST ve ALP gibi hücresel enzimlerin plazmaya sızmasıdır<sup>77</sup>. Karaciğer hasarında serumda söz konusu enzim düzeyleri yükselmektedir<sup>4</sup>. Çalışmamızda kontrol, betulinik asit, asetaminofen ve tedavi gruplarında ALT düzeyleri sırasıyla; 45.88, 46.75, 191.25 ve 70.88 U/L olarak, AST düzeyleri sırasıyla; 45.25, 48.63,

178.88 ve 75.88 U/L olarak, ALP düzeyleri ise sırasıyla; 72.63, 78.38, 362.63 ve 184.50 U/L olarak ölçülmüştür. ALT karaciğere daha spesifiktir ve hepatik hasarı analiz etmek için daha iyi bir parametredir<sup>77</sup>. Çalışmamızda da asetaminofen grubunda ALT düzeylerinin kontrole göre önemli derecede ( $P<0.001$ ) arttığı gözlenmektedir. Yüksek AST seviyeleri, hücre sızıntısının yanı sıra karaciğerde hücre zarının işlevsel yetenek kaybını göstermekte ve ALP düzeyinin yüksekliği ayrıca karaciğer hücre hasarı ile ilişkilendirilmektedir<sup>77</sup>. Elde ettiğimiz sonuçlar her iki enzim düzeyinde asetaminofen grubunda kontrole göre önemli derecede ( $P<0.001$ ) arttığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre uygulanan asetaminofen dozu ile karaciğer hasarı oluşturulduğu düşünülmektedir. Asetaminofen ile deneysel karaciğer hasarı oluşturulan çalışmalarda da sonuçlarımızı destekler şekilde AST, ALT ve ALP düzeylerinin kontrole göre yükseldiği bildirilmektedir<sup>72, 75, 76</sup>. Betulinik asit ile ön tedavi gören betulinik asit grubunda ALT, AST ve ALP düzeylerinin asetaminofen uygulanan gruba göre önemli düzeyde ( $P<0.001$ ) düşüş gösterdiği tespit edilmiş olup bu sonuç ratların 25 mg/kg dozda betulinik asit ile ön tedavisinin AST, ALT ve ALP enzimlerindeki artışı engellediğini, betulinik asidin asetaminofenin oluşturduğu karaciğer hasarını önlemede etkin olabileceğini göstermektedir.

Serbest radikaller metabolik ve fizyolojik işlemlerde üretilmekte ve organizmalarda zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşturmaktadır. Organizmalar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar yoluyla oksidatif strese karşı korunmaktadır. Normal şartlar altında serbest radikal oluşum oranları ile bunların antioksidan enzimler ve moleküller tarafından uzaklaştırılması arasında hassas bir denge vardır. Biyolojik örneklerin oksidatif durumu oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilmekte ve toplam oksidan durumu (TOS) ile toplam antioksidan durumunun (TAS) ölçümü oksidatif stresin öngörülmesi için en yaygın prosedürler olarak bilinmektedir<sup>78</sup>.

Çalışmamızda TAS değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmazken, TOS değerleri kontrol, betulinik, asetaminofen ve tedavi gruplarında sırasıyla; 0.53, 0.57, 0.79 ve 0.59  $\mu\text{mol/L}$  olarak tespit edilmiş olup, asetaminofen uygulanan grupta diğer gruplara göre önemli düzeyde ( $P<0.001$ ) artış gösterdiği gözlenmiştir. Çalışmamızı destekler şekilde, Aksit ve Bildik<sup>79</sup> ve Hismiogullari ve ark.<sup>80</sup> çalışmalarında,  $\text{CCl}_4$  ile karaciğer hasarı oluşturdukları ratlarda, TOS seviyelerinin kontrole göre arttığını, TAS seviyesinin ise azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da TAS seviyesi bakımından gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen asetaminofen grubunda rakamsal olarak düşüş olduğu gözlenmiştir. Betulinik asit ile ön tedavi gören grupta TOS ve TAS seviyelerinin kontrole yakın olduğu görülmekte olup, bu sonuçlar asetaminofen uygulamasının karaciğerde oksidatif strese neden olduğunu, betulinik asidin toksik dozda asetaminofenin karaciğerde oluşturacağı oksidatif strese karşı koruyucu rolü olduğunu düşündürmektedir. Betulinik asidin oksidatif strese karşı koruyucu rolü yönünde elde ettiğimiz bulgularımız, Yi et al.<sup>59</sup>'nın betulinik asit ile ön muamelenin deksametazonun neden olduğu oksidatif stresi hafiflettiği yönündeki bildirimleriyle uyumludur.

Asetaminofen ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda betulinik asit uygulamasının protein ve lipid profili üzerine etkilerini araştırdığımız çalışmamızda, kontrol, asetaminofen ve tedavi gruplarına ait serum TG düzeyleri sırasıyla; 138.82, 190.27 ve 163.01 mg/dL olarak ölçülmüş olup, TG değerlerinin toksisite oluşturulan asetaminofen grubunda kontrole göre artış ( $P<0.001$ ) sergilediği görülmektedir. Çalışmada kontrol, asetaminofen ve tedavi gruplarına ait serum kolesterol düzeyleri sırasıyla; 127.20, 149.24 ve 141.89 mg/dL olarak ölçülmüştür. Serum kolesterol düzeyinin asetaminofen ile karaciğer hasarı oluşturulan grupta artış ( $P<0.001$ ) gösterdiği belirlenmiştir. Gruplara ait serum TP düzeyleri ise kontrol grubunda 5.38, asetaminofen



gurubunda 4.77 ve tedavi gurubunda 4.98 g/dL olarak tespit edilmiştir. Karaciğer hasarlı hayvanlarda serum TP düzeyinin önemli derecede ( $P<0.001$ ) düşüş gösterdiği görülmektedir. Çalışma bulgularımız karaciğer hasarında serum TP değerlerinin düştüğünü bildiren Murali et al.<sup>76</sup> ve Jain et al.<sup>60</sup>'nin çalışmaları ile uyumludur. Çalışma bulgularımız karaciğer hasarının neden olduğu, serum TG ve kolesterol düzeylerindeki artışı ve TP düzeylerindeki azalışı, ön tedavi olarak uygulanan betulinik asidin düzelttiğini göstermiştir. Çalışma bulgularımız, betulinik asidin karaciğer hasarlarında değişen serum parametreleri üzerinde düzeltici etkilerinin bulunduğunu bildiren çalışmalarla<sup>56, 57, 60</sup> uyumludur. Yine çalışmamızda karaciğer dokusunda TP düzeyi incelenen parametrelerden birisi olup, kontrol, asetaminofen ve tedavi gruplarında TP düzeyleri gruplara göre sırasıyla; 138.00, 125.26 ve 134.37 mg/g olarak tespit edilmiştir. Asetaminofen toksisitesine bağlı olarak serum TP düzeyinde olduğu gibi karaciğer dokusunda da TP düzeyinde azalış olduğu görülmektedir ( $P<0.05$ ). Betulinik asit ön tedavisinin asetaminofen kaynaklı hasara bağlı, karaciğer dokusu TP düzeyindeki bu azalışı önlediği tespit edilmiştir.

Asetaminofenle indüklenmiş karaciğer hasarında betulinik asidin lipid profilleriyle ilgili etkisine bakıldığında; karaciğer dokusunda incelenen parametrelerden kolesterol ve açıl gliserol oranlarının karaciğer hasarında artış gösterdiği, buna karşın serbest yağ asidi, fosfolipid ve triaçilgliserol oranlarının kontrole göre azaldığı tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Fosfolipidler fosfor içeren kompleks lipidler olup hücre membranlarının başlıca bileşenleridir. Özellikle serum fosfolipidlerin tanımı karaciğer hastalıklarının tanısında, önemli bir klinik testtir<sup>4</sup>. Betulinik asitle ön tedavinin karaciğer hasarına bağlı açıl gliserol oranında ki yükselişi ve fosfolipid oranında ki düşüşü önlediği gözlenmiştir. Bununla birlikte betulinik asit ön tedavisinin, karaciğer hasarına bağlı triaçil gliserol ve kolesterol oranlarında ki değişimleri önlemede anlamlı bir etkisinin olmadığı

ancak rakamsal olarak iyileşme sağladığı görülmüştür. Ayrıca asetaminofen uygulamasının ve betulinik asit ön tedavisinin karaciğer dokusunda kolesterol esterleri oranı üzerinde bir etki oluşturmadığı da tespit edilmiştir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarında AST, ALT ve ALP düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir. Karaciğer enzimlerinin betulinik asit uygulaması yapılan grupta düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Karaciğer hasarlı grupta lipid ve protein profillerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında olumsuz etkilendiği gözlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız betulinik asidin (25 mg/kg) karaciğer hasarı oluşturulan grupta lipid ve protein profillerinde gözlenen bu olumsuz etkileri iyileştirici etki gösterdiği söylenebilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında; asetaminofen kaynaklı karaciğer toksisitelerinde, betulinik asidin koruyucu ve karaciğer hasarına bağlı olumsuz etkileri giderici potansiyelinin bulunduğu, karaciğer toksisitelerinde tedaviye ve korunmaya yardımcı olarak kullanımının yararlı olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Hale AJ. The minute structure of the liver: a review. *Glasgow medical journal*, 1951, 32: 283.
2. Thorek P. Liver (Hepar). İçinde:*Anatomy in Surgery*, Springer, 1985: 514-533.
3. Granit D. Karaciğer Anatomi ve Fizyolojisi. *Turkiye Klinikleri Medical Oncology-Special Topics*, 2015, 8: 1-6.
4. Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T. *Klinik biyokimya*. 1. Baskı. Ankara, Medisan, 2000.
5. Kuntz E, Kuntz H-D. *Hepatology, Principles and practice: history, morphology, biochemistry, diagnostics, clinic, therapy*. Baskı. Springer Science & Business Media, 2006.
6. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. Baskı. Macmillan, 2005.
7. Uysal M, Gürdol F. *Biyokimya*. 4. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2006: 223-264.
8. Sasidharan S, Aravindran S, Latha LY, Vijenthil R, Saravanan D, Amutha S. In vitro antioxidant activity and hepatoprotective effects of *Lentinula edodes* against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Molecules*, 2010, 15: 4478-4489.
9. Alempijevic T, Zec S, Milosavljevic T. Drug-induced liver injury: Do we know everything? *World journal of hepatology*, 2017, 9: 491.
10. Bashir A, Mehta D. Liver Toxicity. İçinde:*StatPearls [Internet]*, StatPearls Publishing, 2018.
11. Holt M, Ju C. Drug-induced liver injury. İçinde:*Adverse Drug Reactions*, Springer, 2010: 3-27.

12. Yu Y-c, Mao Y-m, Chen C-w, Chen J-j, Chen J, Cong W-m, Ding Y, Duan Z-p, Fu Q-c, Guo X-y. CSH guidelines for the diagnosis and treatment of drug-induced liver injury. *Hepatology international*, 2017, 11: 221-241.
13. Holubek WJ, Kalman S, Hoffman RS. Acetaminophen-induced acute liver failure: Results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology*, 2006, 43: 880-880.
14. Andrade RJ, Lucena MI, Fernández MC, Pelaez G, Pachkoria K, García-Ruiz E, García-Muñoz B, González-Grande R, Pizarro A, Durán JA. Drug-induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology*, 2005, 129: 512-521.
15. Pauli-Magnus C, Meier PJ. Hepatobiliary transporters and drug-induced cholestasis. *Hepatology*, 2006, 44: 778-787.
16. Ye H, Nelson LJ, del Moral MG, Martínez-Naves E, Cubero FJ. Dissecting the molecular pathophysiology of drug-induced liver injury. *World journal of gastroenterology*, 2018, 24: 1373.
17. Zhang X, Ouyang J, Thung SN. Histopathologic manifestations of drug-induced hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2013, 17: 547-564.
18. García LR, Ruigomez A, Jick H. A review of epidemiologic research on drug-induced acute liver injury using the general practice research data base in the United Kingdom. *Pharmacotherapy*, 1997, 17: 721-728.
19. Katarey D, Verma S. Drug-induced liver injury. *Clinical Medicine*, 2016, 16: s104-s109.
20. Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, Larrey D, Molokhia M, Takikawa H, Hunt CM, Wilke R, Avigan M, Kaplowitz N. Case definition and phenotype

- standardization in drug-induced liver injury. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2011, 89: 806-815.
21. Gayam V, Khalid M, Shrestha B, Hossain MR, Dahal S, Garlapati P, Gill A, Mandal AK, Sangha R. Drug-Induced Liver Injury: An Institutional Case Series and Review of Literature. *Journal of investigative medicine high impact case reports*, 2018, 6: 2324709618761754.
  22. Klotz U. Paracetamol (acetaminophen)—a popular and widely used nonopioid analgesic. *Arzneimittelforschung*, 2012, 62: 355-359.
  23. Lancaster EM, Hiatt JR, Zarrinpar A. Acetaminophen hepatotoxicity: an updated review. *Archives of toxicology*, 2015, 89: 193-199.
  24. Morse H. Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 1878, 11: 232-233.
  25. Mattia A, Coluzzi F. What anesthesiologists should know about paracetamol (acetaminophen). *Minerva Anestesiol*, 2009, 75: 644-653.
  26. Yan M, Huo Y, Yin S, Hu H. Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox biology*, 2018, 17: 274-283.
  27. Schilling A, Corey R, Leonard M, Eghtesad B. Acetaminophen: old drug, new warnings. *Cleveland Clinic journal of medicine*, 2010, 77: 19-27.
  28. Chun LJ, Tong MJ, Busuttil RW, Hiatt JR. Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *Journal of clinical gastroenterology*, 2009, 43: 342-349.
  29. Bunchorntavakul C, Reddy KR. Acetaminophen-related hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2013, 17: 587-607.

30. Michaut A, Moreau C, Robin MA, Fromenty B. Acetaminophen-induced liver injury in obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Liver International*, 2014, 34: e171-e179.
31. Lee WM. Drug-induced acute liver failure. *Clinics in liver disease*, 2013, 17: 575-586.
32. Jaeschke H, McGill MR, Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug metabolism reviews*, 2012, 44: 88-106.
33. Qiu Y, Benet LZ, Burlingame AL. Identification of the hepatic protein targets of reactive metabolites of acetaminophen in vivo in mice using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Journal of biological chemistry*, 1998, 273: 17940-17953.
34. Chen C, Krausz KW, Shah YM, Idle JR, Gonzalez FJ. Serum metabolomics reveals irreversible inhibition of fatty acid  $\beta$ -oxidation through the suppression of PPAR $\alpha$  activation as a contributing mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Chemical research in toxicology*, 2009, 22: 699-707.
35. Bhattacharyya S, Pence L, Beger R, Chaudhuri S, McCullough S, Yan K, Simpson P, Hennings L, Hinson J, James L. Acylcarnitine profiles in acetaminophen toxicity in the mouse: comparison to toxicity, metabolism and hepatocyte regeneration. *Metabolites*, 2013, 3: 606-622.
36. Flekhter O, Nigmatullina L, Baltina L, Karachurina L, Galin F, Zarudii F, Tolstikov G, Boreko E, Pavlova N, Nikolaeva S. Synthesis of betulonic acid from betulin extract and study of the antiviral and antiulcer activity of some related terpenoids. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2002, 36: 484-487.

37. Yogeewari P, Sriram D. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties. *Current medicinal chemistry*, 2005, 12: 657-666.
38. Ríos JL, Manez S. New pharmacological opportunities for betulinic acid. *Planta medica*, 2018, 84: 8-19.
39. Ekman R. The suberin monomers and triterpenoids from the outer bark of *Betula verrucosa* Ehrh. *Holzforschung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, 1983, 37: 205-211.
40. Szuster-Ciesielska A, Kandefér-Szerszeń M. Protective effects of betulin and betulinic acid against ethanol-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Pharmacol Rep*, 2005, 57: 588.
41. Suksamrarn S, Panseeta P, Kunchanawatta S, Distaporn T, Ruktasing S, Suksamrarn A. Ceanothane-and lupane-type triterpenes with antiplasmodial and antimycobacterial activities from *Ziziphus cambodiana*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 2006, 54: 535-537.
42. Eiznhamer D, Xu Z. Betulinic acid: a promising anticancer candidate. *IDrugs: the investigational drugs journal*, 2004, 7: 359-373.
43. Laszczyk M, Jäger S, Simon-Haarhaus B, Scheffler A, Schempp CM. Physical, chemical and pharmacological characterization of a new oleogel-forming triterpene extract from the outer bark of birch (*betulae cortex*). *Planta medica*, 2006, 72: 1389-1395.
44. Liu J. Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives. *Journal of ethnopharmacology*, 2005, 100: 92-94.
45. Alakurtti S, Mäkelä T, Koskimies S, Yli-Kauhaluoma J. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin. *European journal of pharmaceutical sciences*, 2006, 29: 1-13.



46. Fujioka T, Kashiwada Y, Kilkuskie RE, Cosentino LM, Ballas LM, Jiang JB, Janzen WP, Chen I-S, Lee K-H. Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzigium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids. *Journal of natural products*, 1994, 57: 243-247.
47. Pavlova N, Savinova O, Nikolaeva S, Boreko E, Flekhter O. Antiviral activity of betulin, betulinic and betulonic acids against some enveloped and non-enveloped viruses. *Fitoterapia*, 2003, 74: 489-492.
48. del Carmen Recio M, Giner RM, Manez S, Gueho J, Julien H, Hostettmann K, Rios J. Investigations on the steroidal anti-inflammatory activity of triterpenoids from *Diospyros leucomelas*. *Planta medica*, 1995, 61: 9-12.
49. Fulda S. Betulinic acid: a natural product with anticancer activity. *Molecular nutrition & food research*, 2009, 53: 140-146.
50. Cichewicz RH, Kouzi SA. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. *Medicinal research reviews*, 2004, 24: 90-114.
51. Astudillo L, Rodriguez JA, Schmeda-Hirschmann G. Gastroprotective activity of oleanolic acid derivatives on experimentally induced gastric lesions in rats and mice. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 2002, 54: 583-588.
52. Liu J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of ethnopharmacology*, 1995, 49: 57-68.
53. Udeani GO, Zhao GM, Geun Shin Y, Cooke BP, Graham J, Beecher CW, Kinghorn AD, Pezzuto JM. Pharmacokinetics and tissue distribution of betulinic acid in CD-1 mice 1. *Biopharmaceutics & drug disposition*, 1999, 20: 379-383.

54. Jäger S, Laszczyk M, Scheffler A. A preliminary pharmacokinetic study of betulin, the main pentacyclic triterpene from extract of outer bark of birch (*Betulae alba cortex*). *Molecules*, 2008, 13: 3224-3235.
55. Jäger S, Winkler K, Pfüller U, Scheffler A. Solubility studies of oleanolic acid and betulinic acid in aqueous solutions and plant extracts of *Viscum album L.* *Planta medica*, 2007, 73: 157-162.
56. Yi J, Xia W, Wu J, Yuan L, Wu J, Tu D, Fang J, Tan Z. Betulinic acid prevents alcohol-induced liver damage by improving the antioxidant system in mice. *Journal of veterinary science*, 2014, 15: 141-148.
57. Quan HY, Kim SJ, Jo HK, Kim GW, Chung SH. Betulinic acid alleviates non-alcoholic fatty liver by inhibiting SREBP1 activity via the AMPK–mTOR–SREBP signaling pathway. *Biochemical pharmacology*, 2013, 85: 1330-1340.
58. Zheng ZW, Song SZ, Wu YL, Lian LH, Wan Y, Nan JX. Betulinic acid prevention of d-galactosamine/lipopolysaccharide liver toxicity is triggered by activation of Bcl-2 and antioxidant mechanisms. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 2011, 63: 572-578.
59. Yi J, Zhu R, Wu J, Wu J, Xia W, Zhu L, Jiang W, Xiang S, Tan Z. In vivo protective effect of betulinic acid on dexamethasone induced thymocyte apoptosis by reducing oxidative stress. *Pharmacological Reports*, 2016, 68: 95-100.
60. Jain M, Kapadia R, Jadeja RN, Thounaojam MC, Devkar RV, Mishra S. Hepatoprotective potential of *Tecomella undulata* stem bark is partially due to the presence of betulinic acid. *Journal of ethnopharmacology*, 2012, 143: 194-200.
61. Jauchem JR, Waligora JM, Conkin J, Horrigan DJ, Johnson PC. Physiology of blood biochemical factors in humans resistant and susceptible to formation of venous gas emboli during decompression. 1986, 55: 68-73.

62. Hassan NS, Mahran NA, Tawfik SF, Borai IH. Oxidative Stress markers, 8-isoprostane & advanced oxidation protein products (AOPPs), in Acute Myocardial Infarction patients with acute Hyperglycemia.
63. Kaynar O, Ileriturk M, Hayirli AJJ-JoPC-MT. Evaluation of computational modifications in HPTLC with Gel analysis software and flatbed scanner for lipid separation. 2013, 26: 202-208.
64. Hara A, Radin NS. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical biochemistry*, 1978, 90: 420-426.
65. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJJJobc. Protein measurement with the Folin phenol reagent. 1951, 193: 265-275.
66. Spss I. IBM SPSS statistics for Windows, version 20.0. *New York: IBM Corp*, 2011, 440.
67. Abirami A, Nagarani G, Siddhuraju P. Hepatoprotective effect of leaf extracts from *Citrus hystrix* and *C. maxima* against paracetamol induced liver injury in rats. *Food science and human wellness*, 2015, 4: 35-41.
68. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007, 39: 44-84.
69. Gagliano N, Grizzi F, Annoni G. Mechanisms of aging and liver functions. *Digestive diseases*, 2007, 25: 118-123.
70. Kelava T, Čavar I, Čulo F. Influence of small doses of various drug vehicles on acetaminophen-induced liver injury. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 2010, 88: 960-967.
71. NB C, Chittam K, Patil V. Hepatoprotective Activity of Cassia fistula Seeds against Paracetamol-Induced Hepatic Injury in rats. 2009.

72. Hussain L, Ikram J, Rehman K, Tariq M, Ibrahim M, Akash MSH. Hepatoprotective effects of *Malva sylvestris* L. against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Turkish Journal of Biology*, 2014, 38: 396-402.
73. Aktaş Ö, Eskiocak S, Özgün GS, Yalçın Ö, Süt N. Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda L-karnitinin etkisi. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 2013, 38.
74. Turgut HC, Erden İA, Akıncı SB, Sarıcaoğlu F, Önder S, Kılınç K, Başer HC, Aypar Ü. Asetaminofen'in Neden Olduğu Hepatotoksisitede Karvakrol'ün Etkisinin Değerlendirilmesi ve N-Asetil Sistein ile Karşılaştırılması. *Anestezi Dergisi*, 2014, 22: 13-17.
75. ZakiPHD HF. Potential protective effect of honey against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Archives Iranian Med*, 2012, 15: 674.
76. Murali A, Ashok P, Madhavan V. Effect of *Smilax zeylanica* roots and rhizomes in paracetamol induced hepatotoxicity. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 2012, 9.
77. Darbar S, Bhattacharya A, Chattopadhyay S. Antihepatoprotective potential of Livina, a polyherbal preparation on paracetamol induced hepatotoxicity: A comparison with silymarin. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 2011, 4: 72-77.
78. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical biochemistry*, 2004, 37: 112-119.
79. Aksit H, Bildik A. Determination of DNA damage in experimental liver intoxication and role of N-acetyl cysteine. *Cell biochemistry and biophysics*, 2014, 70: 1119-1125.

80. Hismiogullari S, Hismiogullari A, Sunay F, Paksoy S, Can M, Aksit H, Karaca O, Yavuz O. The protective effect of curcumin on carbon tetrachloride induced liver damage. *Revue Méd. Vét*, 2014, 165: 194-200.



## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<b>Adı Soyadı:</b> Gülşah Bektaş <b>Doğum tarihi:</b> 24 Temmuz 1986 <b>Doğum Yeri:</b> Aziziye/ Erzurum <b>Medeni Hali:</b> Bekâr <b>Uyruğu:</b> T.C. <b>Adres:</b> Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi <b>Tel:</b> 0546 488 78 14 <b>Faks:</b> - <b>E-mail:</b> <a href="mailto:gulsah.bektas1609@hotmail.com">gulsah.bektas1609@hotmail.com</a>
Eğitim
<b>Lise:</b> Ziya Gökalp Lisesi <b>Lisans:</b> Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya (2013) <b>Yüksek lisans:</b> Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enst. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı (2019) <b>Doktora:</b> -
Yabancı Dil Bilgisi
<b>İngilizce:</b> Orta <b>Almanca:</b> - <b>Rusça:</b> -
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler
Kayak, Tiyatro Doğa ve kültürel geziler

## EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

**T.C.**  
**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU**

Yüksek Lisans Tezi olarak *Doç.Dr. Güler YENİCE* danışmanlığında sunulan “KARACIĞER HASARI OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA BETULİNİK ASİT UYGULAMASININ PROTEİN VE LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİ” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	0	15
Genel Bilgiler	1	30
Materyal ve Metod	19	35
Bulgular	8	10
Tartışma	1	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 19/09/2019

**Öğrenci Adı-Soyadı**

**İmza**

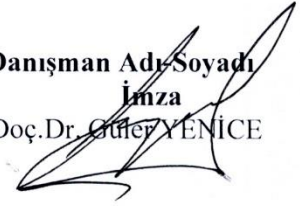
Gülşah BEKTAŞ



**Danışman Adı-Soyadı**

**İmza**

Doç.Dr. Güler YENİCE



\* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve ..... sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve ..... sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

## EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 75296309-050.01.04-E.1900138464  
Konu : HADYEK Kararı.

02.05.2019

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 29.04.2019 tarihli ve 36643897-000-E.1900135257 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 30.04.2019 tarih ve 5 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 93 no'lu kararı ile sözkonusu tez çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ  
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum  
Tel: +90 442 2317222  
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#/birim=veteriner-fakultesi>

Kep Adresi: [atauni@hs01.kep.tr](mailto:atauni@hs01.kep.tr)

Bilgi: Mehmet KOCA  
Faks: +90 442 2317244  
E-Posta: [vctfak@atauni.edu.tr](mailto:vctfak@atauni.edu.tr)





**TOPLANTI TARİHİ** : 30.04.2019

**TOPLANTI SAYISI** : 5

**KARAR N0 93:** Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Zootečni ve Hayvan Besleme Bölümü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Güler YENİCE'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Karaciğer Hasarı Oluşturulmuş Sıçanlarda Betulinik Asit Uygulamasının Protein ve Lipid Profili Üzerine Etkileri**” isimli tez çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 29.04.2019 tarih ve 36643897-000-E.1900135257 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen tez çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesinin, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

