

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI BİTKİ EKSTRELERİNİN İMMOBİLİZE STRES OLUŞTURULAN
SIÇANLAR ÜZERİNDEKİ ROLÜ**

İsmail KOYUNCU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2008**

Yrd. Doç. Dr. Yasin TLCE'nin danışmanlığında, İsmail KOYUNCU'nun hazırladığı "Bazı Bitki Ekstrelerinin İmmobilize Stres Oluşturulan Sıçanlar zerindeki Rolü" konulu bu çalışma 12.06.2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yasin TLCE

ye : Prof. Dr. Nihat DİLSİZ

ye : Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof. Dr. İbrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu çalışma HBAK tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 831

Not: Bu tezde kullanılan zgn veya başka kaynaktan yapılan bildirimlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
SİMGELER DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. Stres	7
2.1.1. Stresin tanımı ve kavramsal gelişimi	7
2.1.2. Stres kaynakları (Stresörler)	12
2.1.3. Stres belirti ve cevapları	15
2.1.4. Stres yanıtı başlatan ,düzenleyen sistemler	20
2.1.5. Stresin çeşitli yapılar üzerindeki etkileri	27
2.1.5.1. Stresin beyin üzerindeki etkileri	27
2.1.5.2. Stresin gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri	28
2.1.5.3. Stresin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri	29
2.1.5.4. Stresin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri	30
2.2. Serbest Radikaller	31
2.2.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri	32
2.2.1.1. Süperoksit anyon radikali	32
2.2.1.2. Hidrojen peroksit	33
2.2.1.3. Hidroksil radikali	33
2.2.1.4. Singlet oksijen	34
2.2.2. Serbest radikallerin kaynakları	35
2.2.3. Serbest radikallerin biyolojik etkileri	36
2.2.4. Vücudun antioksidan savunma sistemi	38
2.2.4.1. Enzimatik antioksidanlar	38
2.2.4.2. Nonenzimatik antioksidanlar	40
2.3. Stresin serbest radikaller ve hastalıklarla bağlantısı	42
2.4. Sedatif Bitkiler	43
2.4.1. Hypericum perforatum	44
2.4.2. Melissa officinalis	46
2.4.3. Valeriana officinalis	49
2.4.4. Passiflora incarnata	51
3. MATERYAL ve YÖNTEM	52
3.1. Materyal	52
3.1.1. Deney hayvanlarının yetiştirilmesi	52
3.1.2. Hayvanların deneye hazırlanması	52
3.1.3. Bitkilerin temini ve teşhisi	52
3.1.4. Çalışma için gerekli malzeme ve kimyasallar	53
3.2. Yöntem	54
3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması	54
3.2.2. Deneysel uygulamalar	55
3.2.2.1. İmmobilize (hareketsizlik) stres metodu	55
3.2.3. Dokuların alınması ve hazırlanması	57
3.2.4. Serum, mide ve beyin dokusunda MDA analizi	58
3.2.4.1. Stok standartın hazırlanması	58
3.2.5. Serum, mide ve beyin dokusunda GSH analizi	60
3.2.6. CAT ve GST enzim aktivitelerinin ölçümü	61
3.2.6.1. Dokuların katalaz enzim aktivitesinin ölçülmesi	61
3.2.6.2. Dokuların GST enzim aktivitesinin ölçümü	62

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	63
4.1. Araştırma Bulguları	63
4.1.1. Klinik sonuçlar.....	63
4.1.2. Ağırlık değişim takibi.....	65
4.1.3. Su tüketimi takibi.....	67
4.1.4. Yem tüketim takibi.....	68
4.1.5. Serbest radikal ve antioksidan parametreler.....	70
4.1.5.1. MDA sonuçları.....	70
4.1.5.2. Enzimatik antioksidan sonuçları.....	72
4.1.5.2.1. Katalaz sonuçları.....	72
4.1.5.2.2. GST (Glutatyon-S Transferaz)sonuçları.....	74
4.1.5.3. Enzimatik olmayan antioksidan sonuçları.....	76
4.1.5.3.1. GSH sonuçları.....	76
4.1.5.3.2. Diğer enzimatik olmayan antioksidan sonuçları.....	78
4.1.6. Biyokimyasal bulgular.....	81
4.1.6.1. Serum biyokimya analizleri.....	81
4.1.6.2. Lipid profilinin ve glikoz düzeyinin incelenmesi.....	89
4.1.6.3. Hormon analiz sonuçları.....	92
4.1.7. Hematolojik bulgular.....	95
4.2. Tartışma	101
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	115
KAYNAKLAR	120
ÖZGEÇMİŞ	130
ÖZET	131
SUMMARY	141

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

BAZI BİTKİ EKSTRELERİNİN İMMOBİLİZE STRES OLUŞTURULAN SIÇANLAR ÜZERİNDEKİ ROLÜ

İsmail KOYUNCU

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yasin TÜLÜCE

Yıl: 2008, Sayfa: 151

Strese bağlı birçok hastalık üzerinde etkili olan antistres ajanlar üzerindeki araştırmalar büyük önem kazanmaktadır. Çalışmamızda erkek wistar albino (250-350 g) ratlar kullanarak tekrarlanan immobilize stresin biyolojik etkileri ile *Passiflora incarnata*, *Melissa officinalis*, *Hypericum perforatum* ve *Valeriana officinalis* bitki ekstralarının anti stres ve antioksidan etkinliğini test ettik. Sıçanlar her grupta altı rat olmak üzere altı gruba ayrıldı; kontrol grubu (K), immobilize stres uygulanmış grup (S), immobilize stres uygulanıp H. perforatum ekstresi verilmiş grup (S/H), M. officinalis (S/M), V.officinalis (S/V), P. incarnata (S/P). Sıçanlara ardışık yedi gün boyunca günde 120 dakika subakut immobilize stres uygulandı. Bitki ekstresi verilen gruplara immobilize stres uygulanmadan, bir saat önce bitki ekstresi verildikten sonra stres uygulandı. Sıçanlar stres uygulamasından hemen sonra eter ile anestezi edilerek sakrifiye edildi. Abdomen ve toraks kesilerek açıldıktan sonra kalpten kan alındı. Alınan kanın bir kısmı 3000 rpm de15 dakika santrifüj edilerek serumu ayrıştırıldı. Serum; glikoz, trigliserit, kolesterol, alanin amino transferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), kreatin kinaz (CK), amilaz, gamma glutamil transferaz (GGT), alkalın fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), ürik asit, demir, magnezyum, bilirubin, albümin, total protein, kan üre azotu (BUN) parametreleri otoanalizör ile (Roche, Cobas Integra 400 plus) ve serum hormon parametreleri; kortizol, total troid T4, serbest T3 ve serbest T4 kitler kullanılarak otoanalizör (Roche, Immulite 2000) ile ölçüldü. Total kan kullanılarak eritrosit, lökosit, monosit, granülosit ve lenfosit sayıları hemogram cihazı (Abacus Junior) ile ölçüldü. Serum, beyin ve mide dokuları alınarak malondialdehit (MDA), redükte glutasyon (GSH), ölçüldü. Eritrosit, beyin ve mide dokularının süpernatantı alınarak glutasyon S-transferaz (GST) ve katalaz (CAT) analizleri yapıldı. Hayvanların ağırlık değişimi, su ve yem tüketimleri deney süresinden hayvanların kesimine kadar her gün gözlemlenerek kaydedildi. Çıkan sonuçlar istatistiksel olarak Mann-Whitney testine göre yorumlandı. Çalışmamız sonucunda; kortizol miktarı tüm stres gruplarında artış gösterdi. MDA miktarı stres grubuna ait serum, beyin ve mide dokularında artış gösterirken, S/M, S/H, S/V ve S/P gruplarında azaldı. GSH stres grubuna ait serum, beyin ve mide dokularında azalış gösterirken, S/M, S/H, S/V ve S/P gruplarında artış gösterdi. Katalaz ve GST seviyesi stres grubuna ait eritrosit, beyin ve mide dokularında azalış gösterirken, S/M, S/H, S/V ve S/P gruplarında artış gösterdi. Immobilize stres sonucu kontrol ile karşılaştırıldığında stres grubunda kilo kaybı, serum glikoz ve kortizol, total T4, serbest T3, T4 miktarında istatistiksel olarak belirgin bir artış gözlenirken, AST, ALT, ALP, CK, amilaz, LDH, trigliserit, total protein, BUN, kreatinin, kolestrol, LDL ve HDL azalış gözlemlendi. Ayrıca eritrosit, lökosit, monosit ve lenfosit sayısında belirgin azalma olduğu saptandı. Çalışmamız sonucunda *H. perforatum*, *M. officinalis*, *P. incarnata* ve *V. officinalis* bitki ekstralarının antistres (adaptogen) ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: Immobilize stres, Oksidatif stres, Sedatif bitkiler

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECT OF SOME PLANTS EXTRACTS IN IMMOBILIZED STRESS RATS

İsmail KOYUNCU

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Yasin TLCE
Year: 2008, Page 151

As stress is linked to many diseases, research on an effective anti stress agent (adaptogen) from plants has gained importance. In the present study, we have examined the biological effects of repeated immobilization stress and tested the hypothesis that extracts *Passiflora incarnata*, *Melissa officinalis*, *Hypericum perforatum* and *Valeriana officinalis* are anti-stress and antioxidants effect, using male wistar albino rats (250-350 g). Rats (N=6) were divided into the following six groups: control (C), immobilization stress (S), immobilization stress administration of *H. perforatum* (S/H), *M officinalis* (S/M), *V. officinalis* (S/V) and *P. incarnata* (S/P). Rats exposed to immobilization stress for 120 min for seven consecutive days in subacute stress, were intragastric with extracts for seven days, one hour prior to each exposure of stress. The rats were sacrificed immediately after stress under ether anaesthesia, the abdomen and thorax were cut open, and blood was collected through cardiac puncture. The blood was centrifuged at 3000 rpm-15 min the serum was separated. The serum was used to estimate glucose, triglycerides, cholesterol, alanin aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), gamma glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), amylase, cholesterol, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), uric acid, ferritin, magnesium, bilirubin, , albumin, total protein, blood urea nitrogen (BUN) using autoanalyzer (Roche, Cobas Integra 400 plus) and serum hormones parameters as cortisol, total thyroid T4, free T3 and free T4 using autoanalyzer (Roche, Immulite 2000) with their respective kits. Total blood was used to estimate erythrocyte, white blood cell, monocytes, granulocytes and lymphocytes number using autoanalyzer (Abacus Junior). Serum, brain and stomach were used for malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH). Erythrocyte, brain and stomach used for glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT) analyses. The body weight, water and fed consumption of the animals was determined at the beginning of the experiment, every day during the experiment, and 24 hour prior to decapitation. The results that came out were statistically interpreted according to Mann-Whitney test. As a result of our study, Plasma cortisol levels were increased in all stress groups. MDA levels were increased in serum, brain and stomach in stress group, but MDA levels decreased in the S/M, S/H, S/V and S/P groups. GSH levels were decreased serum, brain and stomach in stress groups but increased in the S/M, S/H, S/V and S/P groups. Catalase and GST activities were decreased in serum, brain and stomach in stress group but increased in the S/M, S/H, S/V and S/P groups. Results obtained showed that repeated immobilization stress resulted in significant inhibition in body weight gain, a significant increase in serum glucose, cortisol, total T3, free T3, T4 and decreased AST, ALT, ALP, CK, amylase, LDH, triglyceride, total protein, BUN, creatinin, cholestreol, LDL and HDL levels as compared with control groups. We observed a significant decrease in erythrocyte, white blood cell, monocytes and lymphocytes number in stress groups compared with control groups. On the basis of our result, it is concluded that the standardized extract of *H. perforatum L.*, *M. officinalis L.*, *P. Incarnate L.* and *V. officinalis L.* possesses a potent adaptogenic and antioxidants activity.

KEY WORDS: Immobilization stress, Oxidative stress, Sedative plants

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çalışmalarımın yönlendirilmesinde ve devam etmesinde her türlü desteğini benden esirgemeyen ve laboratuvar çalışmalarında titiz çalışma becerisini bana kazandıran değerli danışman hocam Prof. Dr. Nihat DİLSİZ'e tez çalışma fırsatı ile yetişmemde büyük emeği olan, kendisini tanıdığım günden itibaren sevgisini, anlayışını ve her türlü yardımını hiçbir zaman benden esirgemeyen, bildiği her şeyi bana öğretmeye çalışan danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Yasin TÛLÛCE'ye en içten saygı ve teşekkürlerimi arz ederim. Deneysel çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Yüksek Biyolog Erel SÛTPAK ve Biyolog Sinan SORAL'a tez sınavım için davetimizi kabul edip Elazığ'dan 'dan gelen Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ'a, sorularımı sabırla dinleyip cevaplayan Doç. Dr. Davut MUSA'ya, tezimde kullandığım bitkilerin teşhisinde yardımcı olan Prof. Dr. Vagif HATEMOV'a ve Biyoloji Bölümün'deki tüm akademik personele saygı ile teşekkür ediyorum. Ayrıca destekleri ile her zaman yanımda olan aileme, projemi kabul edip destek sağladığı için HÛBAK'a, zamanlarını ayırarak tez savunmamda bulunacak olan tüm katılımcılara şimdiden teşekkür ediyorum.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Genel adaptasyon sendromu	16
Şekil 2.2. Amigdala ve hipokampus arasındaki stres yolu	21
Şekil 4.1. Deney süresi boyunca gruplardaki yüzde ağırlık değişim grafiği	65
Şekil 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen ağırlık yüzdesi	66
Şekil 4.3. Deney süresi boyunca gruplardaki su tüketim değişimi	67
Şekil 4.4. Deney süresi boyunca gruplardaki günlük su tüketim değişimi	68
Şekil 4.5. Deney süresi boyunca gruplardaki günlük yem tüketim değişimi	69
Şekil 4.6. Deney süresi boyunca gruplardaki günlük yüzde yem tüketim değişimi.....	69
Şekil 4.7. Grupların serum MDA miktarları	70
Şekil 4.8. Grupların beyin MDA miktarları	71
Şekil 4.9. Grupların mide MDA miktarları	71
Şekil 4.10. Grupların eritrosit katalaz miktarları	72
Şekil 4.11. Grupların beyin katalaz miktarları	73
Şekil 4.12. Grupların mide katalaz miktarları	73
Şekil 4.13. Grupların eritrosit GST miktarları	74
Şekil 4.14. Grupların beyin GST miktarları	75
Şekil 4.15. Grupların mide GST miktarları.....	75
Şekil 4.16. Grupların serum GSH miktarları.....	76
Şekil 4.17. Grupların beyin GSH miktarları	77
Şekil 4.18. Grupların mide GSH miktarları.....	77
Şekil 4.19. Grupların plazma ürik asit miktarları	78
Şekil 4.20. Grupların total büliribin düzeyi	79
Şekil 4.21. Grupların albümin düzeyi	79
Şekil 4.22. Grupların ferritin düzeyi	80
Şekil 4.23. Grupların GGT düzeyi.....	82
Şekil 4.24. Grupların AST düzeyi.....	82
Şekil 4.25. Grupların ALT düzeyi.....	83
Şekil 4.26. Grupların ALP düzeyi.....	83
Şekil 4.27. Grupların CK düzeyi	84
Şekil 4.28. Grupların amilaz düzeyi.....	84
Şekil 4.29. Grupların laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi.....	85
Şekil 4.30. Grupların total protein düzeyi	85
Şekil 4.31. Grupların globülin düzeyi	86
Şekil 4.32. Grupların demir düzeyi.....	86
Şekil 4.33. Grupların demir bağlama kapasitesi düzeyi	87
Şekil 4.34. Grupların magnezyum düzeyi	87
Şekil 4.35. Grupların plazma BUN miktarları	88
Şekil 4.36. Grupların plazma kreatinin miktarları.....	88
Şekil 4.37. Grupların glukoz düzeyi.....	89
Şekil 4.38. Grupların kolesterol düzeyi	90
Şekil 4.39. Grupların trigliserit düzeyi.....	90
Şekil 4.40. Grupların HDL-kolesterol düzeyi.....	91
Şekil 4.41. Grupların LDL-kolesterol düzeyi	91
Şekil 4.42. Grupların plazma kortizol miktarları.....	92
Şekil 4.43. Grupların plazma serbest tiroid- 4 miktarları.....	93
Şekil 4.44. Grupların serbest tiroid-3 miktarları	93
Şekil 4.45. Grupların total tiroid-4 miktarları	94
Şekil 4.46. Grupların eritrosit oranları.....	95
Şekil 4.47. Grupların hemoglobin miktarları.....	96
Şekil 4.48. Grupların trombosit oranları.....	96
Şekil 4.49. Grupların akyuvar oranları.....	97
Şekil 4.50. Grupların lenfosit oranları.....	97
Şekil 4.51. Grupların granülosit oranları.....	98

Şekil 4.52. Grupların monosit oranları.....	98
Şekil 4.53. Grupların yüzde lenfosit oranları	99
Şekil 4.54. Grupların yüzde monosit oranları.....	99
Şekil 4.55. Grupların yüzde granülosit oranları.....	100

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri	35
Çizelge 2.2. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri.....	36
Çizelge 2.3. H. perforatum ekstresinin bileşenleri	46
Çizelge 2.4. M. officinalis ekstresinin bileşenleri	48
Çizelge 2.5. V. officinalis ekstresinin bileşenleri	50
Çizelge 2.6. P. incarnata ekstresinin bileşenleri	51
Çizelge 3.1. Kullanılan bitkilerin ekstraksiyon işlemleri	54
Çizelge 3.2. MDA analizi için stok solüsyondan çalışma standart solüsyonunun hazırlanması	58
Çizelge 3.3. MDA standart serisinin hazırlanması.....	59
Çizelge 3.4. GSH analizi için çalışma solüsyonu hazırlama	60
Çizelge 3.5. GSH standart serisinin hazırlanması.....	60
Çizelge 3.6. CAT enzimi aktivitesini ölçmek için çalışma reaktifi hazırlanması	61
Çizelge 3.7. GST ölçüm küvetine eklenen maddeler	62
Çizelge 4.1. Deney süresi boyunca gruptaki ağırlık değişimi	65
Çizelge 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen net ağırlık ve yüzdesi	66
Çizelge 4.3. Deney süresi boyunca gruptaki su tüketim değişimi	67
Çizelge 4.4. Deney süresi boyunca gruptaki yem tüketim değişimi	68
Çizelge 4.5. Serum, beyin ve mide dokularının MDA sonuçları	70
Çizelge 4.6. Serum, beyin ve mide dokularının katalaz sonuçları.....	72
Çizelge 4.7. Serum, beyin ve mide dokularının GST sonuçları.....	74
Çizelge 4.8. Serum, beyin ve mide dokularının GSH sonuçları.....	76
Çizelge 4.9. Serumdaki non-enzimatik antioksidan sonuçları	78
Çizelge 4.10. Serum biyokimya analizleri	81
Çizelge 4.11. Grupların glikoz düzeyi ve lipid profili	89
Çizelge 4.12. Hormon analizleri.....	92
Çizelge 4.13. Hematolojik parametreler	95

SİMGELER DİZİNİ

ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BUN	Kan üre azotu
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz enzimi
CREA	Kreatinin
Cu	Bakır
S	İmmobilize strese maruz bırakılmış grup
S/M	İmmobilize strese maruz bırakılmış ve <i>M. officinalis</i> ekstraktı uygulanan
S/P	İmmobilize strese maruz bırakılmış ve <i>P. incarnata</i> ekstraktı uygulanan
S/H	İmmobilize strese maruz bırakılmış ve <i>H. perforatum</i> ekstraktı uygulanan
S/V	İmmobilize strese maruz bırakılmış ve <i>V. officinalis</i> ekstraktı uygulanan
DAG	Diyaçil gliserol
DNA	Deoksiribonükleik asit
Fe	Demir
Fe-SOD	Demir içeren süperoksid dismutaz
GGT	γ -glutamil transferaz
GİP	Gastrik inhibitör polipeptid
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG-R	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon S transferaz
HDL-C	Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
HO ₂	Perhidroksil
K	Deneyisel çalışmalarda kontrol olarak kullanılan grup
K ⁺	Potasyum
KVH	Kardiyovasküler hastalık
LDL-C	Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
LPO	Lipid peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
Mn-SOD	Mangan ihtiva eden süperoksid dismutaz
NAD ⁺	Okside nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat redükte formu
NO	Nitrik oksit
NO ₂	Azot dioksit
O ₃	Ozon
OH	Hidroksil radikali
P	Fosfor
PKC	Protein kinaz
RCO	Dikarbonil bileşikleri
ROS	Reaktif oksijen metabolitleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SO ₂	Kükürt dioksit
SOD	Süperoksid dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri
TET	Tetraetoksipropan
TH	Total hidroperoksit
UV	Ultraviyole
VLDL-C	Çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZnCu-SOD	Çinko-Bakır ihtiva eden süperoksit dismutaz
α	Alfa

1. GİRİŞ

Günlük yaşamda hemen herkesin kullandığı bir kavram olan stres, son yıllarda üzerinde yapılan araştırmaların artmasına karşın insanoğlunun yaratıldığı günden beri varlığını hissettiren, çeşitli uyaranlar tarafından başlatılan ve vücudun homeostazisini sağlamayı, dolayısı ile yaşamayı sürdürmeyi hedefleyen bir seri otonom, nöroendokrin ve metabolik bir durumdur (Nijboer, 1999; Pektekin, 1999).

İçinde yaşadığımız çağın bir değişme ve bunalım çağı olduğu kuşkusuzdur. Bu değişimler toplumun her kesiminde önemli fiziksel ve ruhsal sorunlar yaratmaktadır. İnsanlar çalışma yaşamının getirdiği sınırlılıklarla birlikte öteki etkinliklerini dengeli bir biçimde yürütmek istemekte, bu istemi sonucunda yaptıkları işle kendi yeteneklerini de zorlamaktadır. Bu nedenle stres sözcüğü giderek günlük yaşamın ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Stres, sokaktaki adamdan üniversitedeki bilim adamına kadar, herkesin sıkça kullandığı ve aynı zamanda birçoklarının da yaşadığı psikolojik ve fizyolojik bir durumdur. Bugün özellikle değişim hızının şaşılacak düzeyde artması nedeniyle, insanların sürekli bir şeylerden kaçıyormuş korku ve kuşkusıyla hızlı hareket etme zorunluluğu duymaları, stresi gündelik yaşamın bir parçası haline getirmiştir (Tutar, 2000).

Sözlük anlamı olarak stres; 14. yüzyılda güçlük, sıkıntı, kötü talih anlamlarında; 17. yüzyılda felaket, bela dert, keder gibi anlamlarda kullanılmıştır. 18. ve 19. yüzyıllarda kavrama yüklenen anlam değişmiş güç, baskı, zor gibi anlamlarda durum ve objelere bağlı kişiye organa veya ruhsal yapıya yönelik zorlamalar olarak kullanılmıştır.

Toplumsal, ekonomik ve sosyal yönden hızlı değişikliklerin yaşandığı günümüzde stres; günlük hayatımıza daha çok girmekte ve gerek ruhsal gerekse fizyolojik sağlık yönünden bireyleri etkilemektedir. Verimlilik ve etkinlikle olan

ilişkisi nedeniyle stres, ekonomik açıdan da olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Aşırı yüksek derecedeki stres iş hayatında; işgörenin fiziksel ve zihinsel sistemini bozmaktadır. Hastalıkların çoğalması, iş kazalarının artması, işgücü kayıpları, sağlık giderlerinin çoğalması, kalifiye eleman kayıpları ödenen tazminatların artmasına neden olmaktadır. Amerika’da ve İngiltere’de yapılan araştırmalarda hastalıkların %75’i yönetilemeyen stres nedeniyle ortaya çıktığı gerçeğine ulaşılmıştır. Uluslararası raporlar da iş stresi ile ilgili maliyetlerin yükseldiğini göstermektedir. Birleşik Devletlerde, iş stresi ile bağlantılı ekonomik kayıpların yıllık 150 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (Maureen ve Anthony, 1996).

1976 yılında Amerikan Kalp Enstitüsünün yaptığı bir araştırmaya göre yalnızca strese bağlı kardiyovasküler hastalıkların Amerikan ekonomisine yıllık maliyeti 26.700 milyon dolar civarındadır. Yine strese bağlı kısa dönemli iş günü kayıpları sonucunda İngiliz sigorta şirketlerinin yıllık 55 milyon sterlin ödemede buldukları görülmüştür (Cooper, 1987). Belirtilen yaşam streslerinin sadece psikiyatrik bozukluklar değil, diyabet, kalp hastalıkları ve immün sistem bozuklukları gibi genel tıbbi durumlar içinde önemli bir risk etmeni oldukları gösterilmiştir (Felitti ve Nordenberg, 1998, Agid ve ark., 2000, Kendler ve ark., 2000). Birçok hastalığın oluşumunda erken yaşam stresleri yada halen devam etmekte olan streslerin rol oynadığını destekleyen bulgular saptanmıştır

Stresin bu tür etkilerinin yaygın olması da bireyleri; stresin ne olduğu, hangi koşullarda ortaya çıktığı ve ne tür sonuçlara neden olduğu gibi konularda araştırmalara yöneltmiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında özellikle; stresten kaynaklanan bazı duygusal, davranışsal ve fizyolojik belirtiler vurgulanmaktadır. Duygusal belirtiler olarak kaygı, kızgınlık, depresyon, düşünce karmaşıklığı ve benlik algısında azalma; davranışsal belirtiler olarak saldırganlık, obsesyonlar, madde bağımlılığı, uykusuzluk, ilişkilerden kaçınma; fizyolojik belirtiler olarak da alerjiler, anjin, astım, bel ağrısı, kanser, kalp-damar hastalıkları, diyabet, ishal, hipertansiyon, migren, kas gerilmeleri ve ülser gibi hastalıklar belirtilmektedir. Stresle ilgili olarak daha önce yapılmış olan çalışmaların çoğunda, stresin organlar üzerindeki etkileri morfolojik olarak değerlendirilmiştir (Matsuoka, ve ark., 1998).

Yapılan araştırmalar genellikle stresin davranışsal ve hormonal sonuçları üzerine odaklanmış olup etkili bir stres cevabının, doku hasarında önemli rolleri olduğu tespit edilmiştir (Liu ve ark., 1996).

Çeşitli, stres modelleri kullanılarak beyin, karaciğer, mide ve eritrositler başta olmak üzere stresin organizmaya etkileri ve doku hasarına neden olan mekanizmaları incelenmiştir (Ohno ve ark., 1991; Sosnowski ve ark., 1993). Deneysel olarak stres oluşturma yöntemleri arasında en sık kullanılanlar immobilizasyon, soğukta bırakma ve yüzdürme yöntemleridir (Brodie, 1962). Hayvanlardaki bu modellerin kullanımı ile insanlarda stres etiyolojisinin açıklanabileceği düşünülmüştür (Szabo ve Cho, 1988). Kullanılan stres modelleri içerisinde immobilize stres metodu; hareket kısıtlaması, saldırganlık, sıkıntı ve tükenmişlik hissi gibi hem psikolojik hem de fizyolojik strese neden olduğu için kolay ve kullanışlı stres modeli olarak kabul edilmektedir (Pare ve Glavin, 1986).

Literatürde stres ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunda immobilize stresin kortikosteron, serotonin, katekolamin gibi stres üzerinde rol oynayan hormonların sentezlenmesini artırdığı bunun sonucunda da lipit peroksidasyonunu indükleyerek doku hasarı meydana getirdiği görülmüştür (Baraboi, 1989).

Stresin diğer etkileri mast hücre degranülasyonu sonucu histamin açığa çıkması, hipermotilitenin gelişmesi, mukus tabakasının azalması ve gastrik mukozal kan akımının bozularak ülsere neden olmasıdır (Cho ve ark., 1992). Stresin canlı organizma üzerine olan hasar verici etkileri, oksidan üretimine katkısından kaynaklanmaktadır. Stresin indüklediği doku hasarı ile ilgili mekanizmalar, bazı çalışmalarda hormonlar ve lipit peroksidasyonu arasında ilişki kurularak açıklanmaya çalışılmıştır. Strese maruz kalan organizmalarda, plazma katekolamin düzeylerindeki artışa paralel olarak kan dolaşımındaki kortizol düzeyleri hücreleri normal yaşam faaliyetlerinin üzerinde enerji üretmeye yönelmektedir. Fazla enerji üretilmesi, mitokondrial elektron transport zincirindeki (ETS) reaksiyonların hızlanmasına ve buna bağlı olarak serbest radikal üretiminin otomatik bir şekilde artışına neden olur. Hızı artmış bir ETS oksijene daha fazla elektron yollar ve

dolayısıyla oksijenin bağlayamadığı elektron yüzdesi artmış olur (Freeman ve Crapo, 1982). Artan bu elektronlar vücuda zarar veren serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır.

Stres sırasında hipofiz, adrenal bezleri uyarır ve bunun sonucunda kortizol, epinefrin ve norepinefrinden oluşan stres hormonları üretilir. Bu tür hormonların sentezi de, serbest radikallerin daha çok oluşmasına neden olur. Strese maruz kalan organizmalarda, plazma katekolamin düzeylerindeki artışa paralel olarak doku hasarının meydana geldiği bilinmektedir. Katekolaminler stres sırasında meydana gelen lipid peroksidasyonunda önemli rol oynamaktadır. β reseptörlerinin agonistler tarafından indirgenmesi sonucu adenilat siklaz aktive olurken epinefrin oksidasyona uğrar. Epinefrinin oksidasyonu sonucu serbest radikaller oluşur. Bu mekanizma sonucunda da stres sırasında meydana gelen reaktif oksijen türlerine bir kaynak oluşturmaktadır (Jewet ve ark., 1989).

Stresin yarattığı olası mekanizmalardan birinin hidrojen peroksit oluşumu, hidroksil radikali ve süperoksit anyon radikali gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile indüklenen hücre membran lipitlerinin peroksidasyonu olduğu ileri sürülmektedir (Bachi ve ark., 1999). Serbest radikaller ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup çevrelerindeki atom ve moleküllere adeta saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına karşın radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikelidirler (Akkuş, 1995).

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Mates, 2000). Radikaller aerobik hücrelerin tüm fraksiyonlarında, metabolizma sırasında veya patolojik durumlarda birer yan ürün olarak meydana gelebilir ve hücrelerde tersinir ya da tersinmez değişikliklere neden olabilirler. Bu değişiklikler oksidasyon, fragmentasyon (parçalanma), agregasyon (disülfid bağlantısı, protein-protein bağlantısı, protein-lipid bağlantısı), protein aminoasitlerinin kopması şeklinde olur.

Bunun sonucunda ciddi hücre, doku ve/veya organ hasarı meydana gelebilir (Ames ve ark., 1993; Yanbeyi, 1999). Serbest oksijen radikalleri, stresin oluşturduğu doku hasarının patogeneğinde önemli rol oynarlar. Stres esnasında serbest oksijen radikallerinin dolaşımdaki düzeylerinin arttığı bunun efektif volümü azaltıp, vasküler geçirgenliği arttırarak gastrik mukozada ve çeşitli doku sistemlerde hasara neden olduğu gösterilmiştir (Hirota ve ark., 1990).

Stresle yakından ilişkili olan hormonların, strese bağlı olarak oksijen radikallerinin oluşumunu indükleyen formlara dönüşmeleri ve bunun sonucunda oksidatif hasarı meydana getiren zincirin halkalarında meydana gelen değişiklikler, pek çok patofizyolojik hastalığı da beraberinde getirmektedir. Aerobik organizmalar reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu toksisiteye karşı hem kimyasal hem de enzimatik korunma sistemlerine sahiptir (Çakır, 1997). Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir (Akkuş, 1995).

Etkilerini lokal oksijen konsantrasyonunu azaltarak, hidroksil radikallerini temizleyip LPO'nun başlamasını önleyerek, geçiş metal iyonlarını bağlayıp etkisizleştirerek, peroksitlerin alkol gibi nonradikal ürünlere dönüşümünde etkin rol oynayarak ve zincir reaksiyonlarına neden olan tüm radikallerle reaksiyona girip zinciri kırarak gösteren antioksidanlar; intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki grupta incelenirler. En belirgin özellikleri okside olan substratlara oranla çok daha az konsantrasyonlarda bile substratın oksidasyonunu geciktirmeleri ve inhibe etmeleridir (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Bu mekanizmalar normal biyokimyasal olaylar sırasında az miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilirler. Ancak stresle yakından ilişkili olan hormonların, strese bağlı olarak oksijen radikallerinin oluşumunu indükleyen formlara dönüşmeleri oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasına, antioksidan mekanizmaların tükenmesine ve sonuçta sitotoksik radikal etkinliğinin artmasına bağlı olarak hücre zedelenmesine ve ölümüne yol açar (Yanbeyi, 1999).

Stresin neden olduğu aşırı fizyolojik durumu ve oksidan/antioksidan dengenin korunması için; hem fizyolojik dengenin hem de oksidan/antioksidan dengenin korunmasını sağlayan yöntemlere başvurulmaktadır. Günümüzde bu tip etkiye sahip olan hem sedatif özellik gösteren hem de antioksidan içeriği fazla olan bitkilerin kullanımına gidilmektedir. Stres kaynaklanan bu tür rahatsızlıkların giderilmesi için sentetik kökenli ilaçların kullanılmasına ağırlık verilmiş ve bu ilaçların bağımlılık yapması, kişileri intihara sürüklemesi vb. olumsuz etkilerinin olduğu saptanmıştır. Bu da doğal kökenli sedatif (yatıştırıcı) etkili tıbbi bitkilere yönelimi hızlandırmıştır. Son zamanlarda *Valeriana officinalis L.* (kediotu), *Hypericum perforatum L.* (sarı kantaron), *Melissa officinalis L.* (oğulotu), *Passiflora incarnata L.* (mavi çarkıfelek), gibi bitkisel ilaçların, bu amaçla sıkça kullanıldığı görülmektedir.

Genelde stresle ilgili olarak yapılan çalışmalarda, stresin lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonuna olan etkileri araştırılmıştır. Doku, antioksidan enzim ve çeşitli stresörler arasındaki interaksiyonun en fazla hangi modelde oluştuğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır. Antioksidan savunma sistemini destekleyici madde kullanılmasının stres üzerindeki etkilerini inceleyen araştırmalara da rastlanılmıştır. Farklı bitki ekstrelerinin kullanıldığı bu çalışmada en çok hangi bitkinin antioksidan savunma sistemini desteklediğini ortaya çıkarmak önem kazanmaktadır. Bunun yanı sıra immobilize stres üzerine söz konusu bitkilerin sedatif bitkilerinin hormonal düzeyde elde edilen bulgularla belirlenmesi tez çalışmamızı farklı bir yönden tamamlamaktadır.

Bu çalışmada, immobilize (hareketsizlik) strese maruz kalmış sıçanlarda hematolojik, biyokimyasal, hormonal analizler ile kan, beyin ve mide dokusunda meydana gelen değişiklikler, oksidatif hasarın muhtemel oluş mekanizması, hasarı önlemede antioksidan ve sedatif özelliğine sahip olabileceğini düşündüğümüz *Valeriana officinalis L.* (kediotu), *Hypericum perforatum L.* (sarı kantaron), *Melissa officinalis L.* (oğulotu), *Passiflora incarnata L.* (mavi çarkıfelek) bitki ekstrelerinin etkinliği ve etki mekanizmaları tartışılacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Stres

2.1.1. Stresin tanımı ve kavramsal gelişimi

Stres kelimesi ile “kişinin fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik stres tepkileri” anlatılır. Stres kelimesinin ifade ettiği diğer anlam ise organizmanın dengesini bozabilecek etkenlerin tümüdür. Stres vericiler, fizyolojik (travma, sıcak, soğuk gibi), psikolojik (duygusal gerilimler, iç ve dış çatışmalar, eş problemleri) veya sosyal (çevre etkenleri, kültürel değişim v.b) içerikli olabilir. Geçmişten günümüze kadar stres terimi üzerine tanımlamalar çeşitli biçimlerde kullanılmıştır (Curtis, 2001).

Stres, Latince'den türemiş ve İngiliz dilinde kullanılan bir terimdir. Stres kelimesi mühendislik alanlarında da kullanılmaya gelmiştir (Baltaş, 1991). Stres Latince’de “estricia”, eski Fransızca’da “estrece” kelimelerinden gelir. İsim olarak birinci anlamı “zorlanma, gerilme ve baskıdır”. Kelime 17. yüzyılda “felaket, musibet bela, dert, keder, elem gibi anlamlar da kullanılmıştır. 18. ve 19. yüzyıllarda kavrama yüklenen anlam değişmiş ve “güç, baskı, zor” gibi anlamlarda objelere ve insanlara yönelik kullanılmıştır. 19. ve 20. yüzyıllarda “stress” ve “strain” kelimesi, sezgi yolu ile bedensel ve psikolojik hastalıkların sebebi olarak düşünülmüştür.

1842’de İngiliz hekim Thomas Curling, ağır bir yanık vakasında; 1867’de cerrah Albert Billreth, enfeksiyon sebebi ile yapılan önemli bir cerrahi müdahaleden sonra, strese ait belirtilerin ortaya çıktığını aktarmışlardır (Baltaş, 1991).

1878’de Claude Bernard, bütün hayati görevlerin, dış ortamın değişen şartları karşısında canlının iç vasatının belirli sınırlar için de sabit tutulması amacına yönelik olduğunu belirtmiştir. Araştırmacı, stresi organizmanın dengesini bozan uyarılar olarak tanımlamıştır. Alman fizyologu Pflüger’e göre stresin tanımı: hayatın

ihtiyaçlarını doyumak ve karşılamak için organizmanın zararlı etkenlerden kaçıp korunması olarak yorumlamıştır. 1880 yılında Belçika’da fizyolog Fredericq ise, stres yaşayan organizmanın zararlı etkenlere karşı tepkisi, bunun sonucunda organizmanın ya hastalanacağını ya da zararlı etkilerden kurtulacağını ileri sürmüştür (Köknel, 1990).

19. yüzyılda Amerikalı fizyolog Cannon “homeostasis” kavramını öne sürmüştür. Cannon’a göre homeostasis; organizmadaki sabit durumların çoğunlukla sürdürülmesini sağlayan koordine edilmiş fizyolojik işlemlerdir (Selye, 1991). Hastalık durumunu da, çeşitli iç ve dış sebeplerin etkisi ile bu dengenin bozulması olarak tanımlıyordu (Songar, 1990). Stresle ilgili kavramsal çalışmalar Cannon tarafından savaş-kaç tepkisinin tanımlanmasıyla başlamıştır (Taylor, 1991). Cannon’a göre organizma bir tehdit altında kaldığında beden aniden uyarılır, sempatik sinir sistemi ve endokrin sistem yoluyla güdülenir (Taylor, 1991). Birlikte ortaya konan bu fizyolojik tepki, organizmayı tehdit edici uyarıcıya hücum etmesi ya da uyarıcıdan kaçması için harekete geçirir; tepkiyi, işte bu nedenle savaş-kaç tepkisi olarak adlandırmıştır. Cannon organizmanın tehdit edici uyarıcıya anında tepki göstermesini mümkün kıldığı için savaş-kaç tepkisinin uyum sağlayıcı olduğuna işaret etmiştir. Cannon’a göre organizma özellikle kaçamaz ya da savaşamaz ve strese uzun süre maruz kalırsa, fizyolojik uyarılma durumu kesintisiz olarak ve azalmadan devam edeceği için sağlık sorunlarına zemin hazırlanacaktır. Cannon’dan güçlü bir şekilde etkilenen Selye; türü ne olursa olsun, stres yaratıcı koşulların tümünün temelde aynı fizyolojik tepki görüntüsünü ortaya çıkardığını gözlemiştir (Brannon, 1992).

Reilly’e göre, hastalık belirtileri vejetatif sinir sistemindeki azalma veya bozulma sonucu ortaya çıkar. Sempatik sistem, canlının tehdit altında olduğu durumlarda devreye girer. Kana bol miktarda adrenalin boşalır ve böylelikle iç organlarda vazokonstriksiyon olur. Kalp atışı hızlanmış, solunum durmuş, gastrointestinal faaliyet durdurulmuş, pupillalar genişlemiştir.

Hayatının son yıllarında Montreal Üniversitesi Deneysel Cerrahi Enstitüsü'nü yöneten Hans Selye, laboratuvar hayvanlarında sürdürdüğü deneyler de farklı ajanların nasıl aynı sonucu doğurduğunu laboratuvarında tetkik etmiştir. Selye 1925 yılında Prag Tıp fakültesinde öğrenci iken, düşündüklerini deneysel olarak araştırıyordu. Farelere çeşitli maddeleri zerk etmesi sonucunda aynı tipte (stereo-type syndrome) organ değişikliği oluşmuştur. Bu değişiklikler adrenal kortekste genişleme ve aşırı faaliyet, timus bezlerinde ve lenf düğümlerinde daralma, mide ülserinin ortaya çıkışıdır (Bidzinka, 1984). Daha sonra ki yıllarda Hans Selye hayvan deneylerine devam etmiştir. Soğuk, sıcak, travma gibi uyaranlarla aynı tip organ değişiklikleri olduğunu görmüştür. İlk kez 1936'da bütün çalışmalarının sonunda çeşitli ajanlarla ortaya çıkan aynı belirtileri tanımlamıştır. Bugün için bu aynı tipte belirtiler (stereo-type syndrome) uyarana bağlı olmayan stres belirtileri (non-specific stress syndrome) olarak tarif edilmiştir. 1950 yılında Hans Selye "adaptasyon sendromu" kavramını şöyle tarif ediyordu: Ajanlar organizmadaki hedef organa iki tür etki eder:

a) Spesifik Etkiler: Ajanın tabiatına bağlıdır. Örneğin TBC basili TBC yapar.

b) Non-spesifik, stereotipik stres reaksiyonu: Buna genel adaptasyon sendromu adı verilmektedir. (Katz ve Weine., 1990).

Selye'nin çok yaygın olarak kullanılan ve benimsenen bir tanıma göre stres, memnuniyet verici olup olmadığına bakılmaksızın, her türlü isteme bedeninin uyum sağlamak için gösterdiği yaygın tepkisidir (Pektekin, 1999). Selye'nin öne sürdüğüne göre organizma stres yaratıcı bir olayla karşılaştığında, eylemde bulunmak için harekete geçer. Tehdid nedeni ne olursa olsun birey aynı fizyolojik tepki örüntüsünü gösterecektir. Strese tekrar tekrar ya da uzun süre maruz kalma zamanla sistemin yıpranmasına yol açacaktır (Selye, 1991).

Stres iyi ya da kötü olabilir. Bazı durumlarda stres insan için faydalı da olabilmektedir. Böyle durumlar da stres insana ihtiyacı olan ekstra gücü ve uyanıklığı da vermektedir. Stresin bu iyi çeşidine eustress denir. Stres her zaman faydalı olmadığı gibi iyi yönlendirilemediği zamanda insan için zararlı olabilir. Çok zaman iyi yönlendirilmeyen bu stres durumu hastalıklara sebep olur. Bunların başında kardiyovasküler hastalıklar ile anksiyete bozuklukları gelmektedir. Stresin

kötü sonlanan şekline ise distress adı verilir. Zaten çoğu zaman halk arasında stres teriminin karşılığı olarak bu kötü sonlanan stres durumu, yani distress kullanılır. Selye, stresi, hoşla giden etmenlerin oluşturduğu “eustress” ve hoşla gitmeyen etmenlerin oluşturduğu “distress” diye ikiye ayırdı. Daha sonra klinik, fizyolojik, farmakolojik çeşitli sınıflamalar yapıldı. Bugün en sık kullanılan stres sınıflaması aşağıdaki gibidir:

1. Akut stres: Ani, ansızın karşılaşılan bir olay (örneğin bir saldırı gibi) ile birlikte gerçekleşir. İlk dört haftada ortaya çıkar ve 2 gün ile 4 hafta arasında sürer. Belirgin bir uyarılmışlık durumu vardır (korku, heyecan,).

2. Subakut stres: Bir dönem içerisinde yaşanan sıkıntılı yaşantı parçası ve birbirini başlatan bir dizi olumsuz olaylar ve yaşantılar sonucu ortaya çıkar (birini kaybetme, yas tutma, depresyona girme).

3. Kronikleşme sürecinde olan stres: Değişik aralıklarla sürekli stresli yaşantılara mecbur kalmaktır. Bu stres modelini oluşturan olaylar, belli zaman aralıklarında tekrarlanan olaylardır. Bu zaman aralıklarında stresör etkisini sürekli olarak gösterir.

4. Kronik stres: Hiç kesintisiz sürekli zorlanma ve ağır yük altında yaşamak zorunda kalmaktır. Bu sıralanan stresin boyutları ne kadar fazla ve sayıları ne kadar çoksa zararlı etkilerinin ortaya çıkma olasılığı da o kadar fazladır.

Lazarus, 1960 yılından itibaren stresi “İnsan ile içinde yaşadığı ortam arasındaki karşılıklı ilişkinin organizmada yarattığı tepki” olarak; 1974 yılında House “insanın alışlagelen davranış kalıplarının yetersiz kaldığı hallerde ortaya çıkan tepki” olarak; 1976 yılında Mandler ise “zararlı etkenlerin yarattığı tehlike ve bunun ortaya çıkışında organizmanın rolü” olarak tanımlar. 1984 yılında Hann ise stresi “ insanın içinde yaşadığı ortamı kötü olarak değerlendirmesi sonucu içine düştüğü durumun adı” olarak tarif etmiştir.

Stres kavramına ilişkin tanımlar alabildiğine çoğaltılabilir. Bütün bu tanımlara bakarak, stres kavramı “zararlı uyaran”, “zararlı uyarana karşı tepki”, “zararlı uyaran ile organizma arasındaki etkileşim” biçiminde tanımlanmaktadır. Kısacası stres, organizma için olumsuz ve sağlığı bozan bir durumdur. Günümüzde ise stres iki şekilde tanımlanmaktadır:

a) Biyokimyacılar, fizyologlar ve araştırmacılar “organizmaya zarar veren etkenler” olarak tarif ederler.

b) Günümüzde geçerli olan anlamıyla ise, zarar veren etkenlere karşı organizmada ortaya çıkan olumsuz değişiklikler ve tepkilerdir (Baltaş, 1991).

Akademik çalışmalarda stresin “psikolojik bir kavram” olarak da ele alınmasının sebepleri vardır. Bunlardan bir tanesi toplayıcı bir özelliğe sahip olmasıdır. Stres, “endişe, gerginlik, çatışma, duygusal çöküntü, ağır dış şartlar, benlik tehdidi, engellenme, güvenliğin tehdidi, uyarılma” yerine kullanılır. Bir diğer sebep ise stres kavramının, psikolojik olayların fizyolojik belirleyicilerini gösterme imkânı vermiş ve bu bağlantıların kurulmasını kolaylaştırmış olmasıdır (Baltaş, 1991).

Stresle ilgili üçüncü adım, insanla ilgili her alanda “alışılmamış etkenlerin” araştırılmasıdır. Alışılmamış çevre şartları alıştırmalarına önce askeri alanda başlanmıştır. Günümüzde buna uzay operasyonlarındaki çalışmalarda eklenmiştir. Stres ve bireysel psikolojik özelliklerin etkileşiminde kişilere bağlı önemli farklılıkların ortaya çıkması kaçınılmazdır. Aynı olaylar kişiden kişiye son derece farklı tepkilerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Stres meydana getiren dış ve iç şartların kesişme noktasını tanımak ve değerlendirmek için bazı kavramlar ortaya atılmıştır. Bunları bir arada ifade eden kavramları şöyle sıralayabiliriz: “Stres toleransı, ben kuvvetini engelleme toleransı, kişisel zedelenebilirlik gibi. Kişilerde tehdidin türüne bağlı olarak eşikler oluşur. Kişilerin psikolojik açıdan farklı stres vericilere karşı, farklı zedelenebilirlik düzeylerine sahip olduğunu unutmamak gerekir.

2.1.2. Stres kaynakları (Stresörler)

Bireyde stres oluşturan etmenler “Stresörler” diye tanımlanmaktadır. Stresörler, organizmada yapısal ve kimyasal değişikliklere neden olan etmenlerdir. Strese karşı oluşan uyum cevabı, organizmanın sürekli olarak stresörlerin karşısında homeostazi yeniden kurmak için işbirliği içerisine girmesini kapsayan davranışsal ve fizyolojik işlemleri içerir (Selye, 1991).

Stres; stresörler ve stres cevapları olarak değerlendirilir. Stresör bireyi tehdit eden ya da ona meydan okuyan durumlara verilen isimdir. Bunlar stresin kaynağı olup çok zaman yeni bir duruma karar verme, evlenme veya tabii afetler tarafından oluşturulur. Dolayısıyla insana zorlayıcı etki yapan her türlü stimulus bir stresördür. Stres kaynağı olan stresörler üç değişik olaydan kaynaklanırlar. Bunlar günlük olaylar (daily hassles), hayatın belli safhalarında olan major hayat olayları ve katastrofik durumlardır (deprem gibi tabii afetler). Ayrıca hayatın değişik alanlarında (okul, iş, aile gibi) spesifik tipte stresörlerde olmaktadır. Strese neden olan etkenler;

1. Fiziksel ve sosyal: Travma, şiddetli egzersiz, gürültü, Birey çevre ilişkisi/çatışması, ısı, nem, çevre kirliliği, yiyecek kısıtlanması ve cerrahi girişimler gibi.

2. Psikolojik: Fiziksel ve sosyal etmenlerin sonucu olarak ya da kendiliğinden ortaya çıkan, genellikle yinelenen etmenler, hayal kırıklığı, izolasyon gibi.

Fiziksel ve sosyal stres kaynakları: Strese yol açan birçok çevre faktörü vardır. Fakat fiziki çevre, çoğu zaman bu faktörlerden biri olarak algılanmaz. Bu nedenle de strese bağlı olarak gözlenen belirtilerin ana nedeninin fiziki çevre olduğu anlaşılmayabilir. Bireyin yaşadığı genel çevre ile ilgili stres kaynakları, iş hayatı dışındaki stres kaynaklarıdır. Bunları şu şekilde sıralamak mümkündür (Wachna, 1997);

- a) Aile sorunları
- b) Tek düzelik
- c) Ekonomik sorunlar

- d) Sosyal ve kültürel değişmeler
- e) İşin bulunduğu kentte yaşanan ulaşım sorunları
- f) Teknolojik gelişmeler.

Toplum yapısındaki değişmeler de kişiler üzerinde stres yaratmaktadır. Çok kısa bir sürede geleneksel toplum yapısından çağdaş bir topluma dönüşme zorunluluğu bireyler üzerinde zorlanma yaratarak çeşitli uyum sorunlarına yol açmaktadır. Sosyal ve kültürel stres kaynaklarının, diyet, iklim, kalıtım, din, toplumsal sınıf, aşırı kalabalık ve yalıtılmış duygusu gibi faktörlerden etkilendiği ileri sürülmüştür. Bunların tamamı kültür ve coğrafi yapıya göre değişmektedir (Nijboer., 1999). Amerikalı ünlü yönetim ve işletme uzmanı Karl Albrecht insanlara neler olduğunu belirleyebilmek için beş değişim alanı üzerinde durmuştur. Yazara göre bu beş alan, çağımızdaki tüm önemli değişimleri kapsamasa da bu yüzyılın “stres çağı” haline gelmesinin temel nedenini oluştururlar. Bu beş önemli değişim alanı şunlardır (Wachna,1997):

- a-Kırsal yaşamdan kentsel yaşama geçiş
- b-Durağanlıktan hareketliliğe geçiş
- c-Kendine yeterlilikten tüketim ekonomisine geçiş
- d-Kapalı sistemden açık sisteme geçiş
- e-Bedensel aktiflikten hareketsizliğe geçiş.

Psikolojik stres kaynakları: İnsanların stres kaynakları, çoğu kez onların kişiliklerini ortaya çıkaran huyları, mizaçları, karakterleri ve yetenekleri olabilir. Yani stresin kaynağı bizzat bireyin kendi kişiliği olabilir. Kişileri etkileyen olaylar değil, olaylara verdikleri anlamlardır (Baird, 1991; Baltaş, 2004). İnsanların iki farklı kişilik profili şeklinde sınıflandığı görülmektedir. Bunlar A tipi ve B tipi kişilik. Fredman ve Rosenman A tipi kişiliği “en az zamanda en çok işi, gerekirse diğer kişilere karşı çıkararak yapmaya çalışan kavgacı insanlar” olarak tanımlarlar. B tipi kişilik profiline sahip kişiler ise sabırlı ve işi bitirmek için zaman baskısı duymazlar. A tipi kişiliğe sahip olanların daha fazla stres yaşadıkları görülmüştür (Taylor, 2003).

Tip A davranış görüntüsünün sempatik sinir sistemi aktivasyonunu ve kardiyovasküler tepkiselliği artırdığı düşünülmektedir. Ayrıca yüksek düzeyde stres

yaşayan A tipi kişilikli diyabetlilerde kan şekeri kontrolünün stres altındaki B tipi kişilikli diyabetlilere kıyasla daha kötü olduğu öne sürülmektedir. Çünkü A tipi bireyler kişisel kontrol tehdidine daha fazla tepki gösterirler; bu durumla başa çıkmak için aktif ve ekseri stresli çaba sarf etmeyi gerektirir; böylece sempatik sinir sistemi faaliyeti ve ona bağlı olarak glukoz düzeyi artar. Hayat boyu insanların stres yaşamalarına neden olan pek çok faktör vardır. Bir faktörün stres yaratıcı olabilmesi için bazı özelliklere sahip olmaları gerekir:

1. Değişim ve uyum: İnsan, yaşamında düzen, süreklilik ve öngörülebilirlik olmasını tercih eder. Bu yüzden yaşamda değişikliğe yol açabilecek iyi ya da kötü bir olay strese yol açar. Her değişim uyum yapmayı gerektirir. Yaşanabilecek stresin oranı, olayın kişinin yaşamında yol açacağı değişimin miktarı ile belirlenebilir.

2. Baskı: Baskı, davranışın hızını arttırmak, yoğunlaştırmak ya da yönünü değiştirmek gerektiğinde veya yüksek standartta performans göstermek zorunluluğu hissedildiğinde ortaya çıkar. Baskı iki kaynaktan oluşur. Kişisel mükemmellik sınırlarına ulaşmak için kişi kendisini zorladığında ortaya çıkan içsel baskı ya da diğer insanlardan gelen istek ve beklentiler yapıcı ya da yıkıcı olduğunda ortaya çıkan dışsal baskı.

3. Engellenme: Bir şeyler ya da birileri kişinin amacına ulaşmasını önlediğinde engellenme ortaya çıkar. Bu gibi durumlarda kişiler ya ulaşılamayan amaçlarından vazgeçerek yeni amaçlar belirlerler ya da amaçlarına ulaşabilmek için yollarındaki engelleri kaldırmaya çalışırlar.

4. Çatışma: Aynı anda iki ya da daha fazla uyuşmayan istek, fırsat, gereksinim ya da amaçla karşılaşıldığında çatışma ortaya çıkar.

2.1.3. Stres belirti ve cevapları

Aslında fizikten ithal edilen bu terimi Hans Selye davranış bilimlerine sokmuş ve gerek psikolojik gerekse somatik zorlanmalar için stres kelimesini kullanmıştır. Claude Bernard bütün hayatî işlevlerin, dış ortamın değişen şartları karşısında canlının iç ortamının belli sınırlar içerisinde sabit tutulması amacına yönelik olduğunu ifade etmiş, daha sonraları Cannon buna homeostazis adını vermiştir. Ona göre, bu iç dengeler durumunun bozulması hastalık denen tabloya yol açıyordu. Homeostazis sınırını aşmadıkça ve fizyolojik sınırları çok zorlamadıkça, organizmanın dengesini belli değerler içerisinde tutmak için göstereceği dalgalanmalar normal savunma tepkileridir.

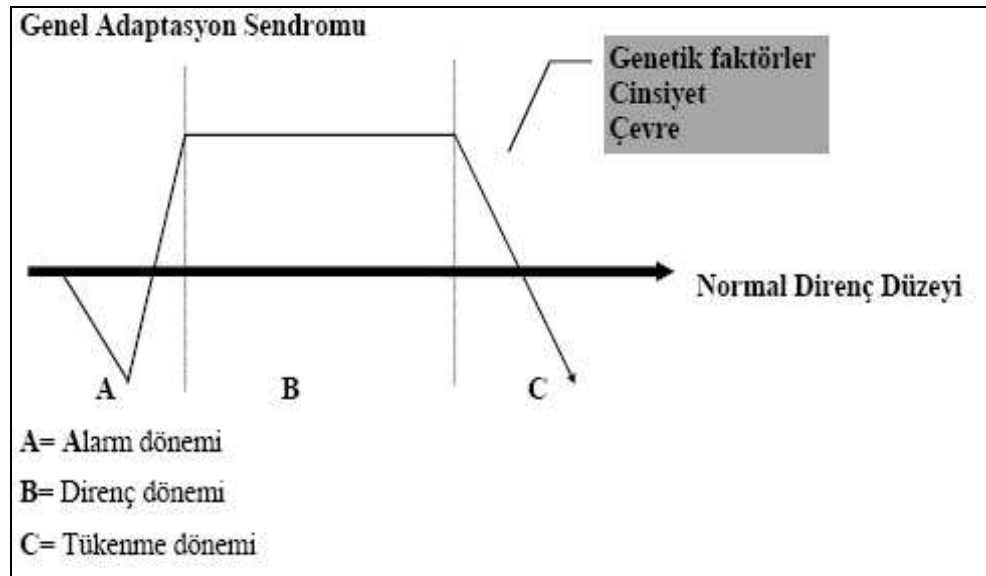
Çevre şartları hayatı tehdit edecek şiddetteyse; vücudun bütün imkanları yardıma çağrılır ve süratli, kütleli bir cevap ortaya çıkar ki, sempatik sinir sistemi aktive olmuştur; bol miktarda adrenalin deşarjı sonucunda viseral ve kütanöz vazokonstriksiyon, kalp ve iskelet adalelerinde kanlanma artışı, taşikardi, kan basıncında yükselme, piloereksiyon (tüylerin diken diken olması), kan şekerinde yükselme, midriyazis (göz bebeklerinin genişlemesi) gibi değişiklikler olur.

İster dövüşecek ister kaçacak olunuz, iç organlarınızın yaralanması durumunda fazla kan kaybetmemeleri, adalelerin bol kanla beslenmesi için rezervlerin bunlara yöneltilmesi, etrafta olan bitenlerin azami derecede görülebilmesi için göz bebeklerinizin büyümesi, artan enerji ihtiyacını karşılamak için gereken yakıtın (glukoz) temini gibi fizyolojik değişikliklerin hepsinin organizmayı savaş veya kaç veya kork prensibine (fight or flight or fright principle) göre hazırlanır.

Birey ne tür stresörle karşı karşıya kalırsa kalsın, hoşta giden, gitmeyen bu etmene yanıt verme durumundadır. Bu yanıt, Selye tarafından “genel adaptasyon sendromu (GAS)”ya da “biyolojik stres sendromu” olarak tarif edilmiştir. Stres etmenin GAS’ı harekete geçiren etkisi non-spesifik bir etkidir. Bunun dışında her stres etmeninin kendine özgü bir de spesifik etkisi vardır. GAS oluşumunda bu spesifik etki de işin içine girer. Selye bu gözlemlerine dayanarak “Genel Uyum Sendromu” kavramını ortaya atmış ve normal fizyolojik mekanizmaları bozan,

hastalıkların oluşumunu tetikleyen stres süresince organizmada bazı değişikliklerin olduğunu ileri sürmüştür (Selye, 1991). Selye organizmanın türü ne olursa olsun, fiziksel veya duygusal stresin tedavisi yapılmadığında stresin her zaman enfeksiyona, diğer birçok hastalığa ve sonunda da ölüme yol açtığını ortaya koymuştur. Selye'nin ortaya koyduğu stres tepkisi veya literatürde bilindiği şekliyle “genel uyum sendromu” birbiriyle karmaşık ilişkiler içinde bulunan sinirsel, hormonal ve metabolik mekanizmaları içeren belirgin bir sıra ve yapıya sahiptir.

“Genel Adaptasyon Sendromu” 3 dönemden oluşur



Şekil 2.1. Genel adaptasyon sendromu

1. Alarm dönemi: Alarm tepkisi bedenin, fiziksel ya da psikolojik tehlikenin uzaklaştırılması gerektiğini hissetmesiyle başlar (Morri, 2002). Başlangıç cevabı olan “savaş ya da kaç cevabını hazırlamak için otonom sinir sisteminin aktive edilmesiyle beden strese cevap vermek için harekete geçer (Curtis, 2001). Bedenin stres etmeni ile karşılaşması ile hipotalamo- hipofizer sistem ve otonom sempatik sistem uyarılır. Etmen çok güçlü ise birey birkaç saat/gün içinde ölebilir. Stresin alarm dönemi sırasında organizmanın verdiği fizyolojik tepkiler şöyle sıralanabilir (Atkinson ve ark., 1999);

- Depolanmış yağ ve şeker kana karışır, gerekli olan enerji için hammadde oluşur,
- Solunum sayısı artar, daha fazla oksijen sağlanır,
- Kanda alyuvarlar artar, beyne ve kaslara daha fazla oksijen taşınır,
- Kalp vuruş sayısı artar ve kan basıncı yükselir, gerekli bölgelere kan takviyesi yapılır.
- Kan pıhtılaşma mekanizması harekete geçer, yaralanmaya karşı önlem alınır,
- Eller, ayaklar, deriye yakın bölgelerdeki kan, beyin ve gövde kaslarına doğru gider. Böylece kol ve bacaklarda ortaya çıkabilecek bir yaralanma durumunda daha az kan kaybı olması sağlanmaya çalışılır. Kan iç organlardan iskelet kaslarına doğru çevrilir, beden eyleme hazırlanır,
- Kas gerilimi artar, kuvvet gerektiren işlere hazırlanılır,
- Vücudun doğal acı gidericileri olan endorfinler salgılanır,
- Sindirim yavaşlar veya durur, kan beyne ve kaslara yönelir,
- Göz bebekleri büyür ve daha fazla ışık algılanmasını sağlar,
- Bağırsak ve idrar torbası kasları, kaçma durumunda vücudu hafifletmek için gevşer,
- Terleme artarak vücudun aşırı ısınması önlenir,
- Bütün duyumlar artar, dış ortamlardan daha fazla haberdar olma sağlanır,
- Hipofiz bezi uyarılır, iç salgı sisteminin faaliyetleri devreye girer.

Bütün bunların sonucunda ise bireyin fark edebildikleri şunlardır (Baltaş, 2000);

- Nabızda artış,
- Terlemede artış,
- Kasılmış bir mide,
- Gergin kaslar,
- Kalbin hızlı hızlı çarpışı,
- Nefeste daralma,
- Dişlerin gıcırdatılması, çenenin kasılması,
- Konsantrasyon güçlüğü,
- Aşırı tedirginlik,
- Duyguların yoğunlaşması.

Organizmayı tehdit eden durumlarda bu tepkilerin çok önemli işlevleri vardır. Acil durumlarla başa çıkmada kişiye bunlar yardımcı olurlar. Organizma alarm dönemini oluşturma yeteneğine sahip zararlı etkene maruz kalmaya devam ederse ya uyum dönemi ya da direnç dönemi ortaya çıkar. Yani alarm dönemi sürekli devam etmez. Eğer yaşamı tehdit edecek nitelikte şiddetli stresörlerle karşılaşma sürekli olursa ilk saatler ya da günlerde alarm döneminde hayvan ölmektedir. Eğer organizma yaşarsa başlangıç tepkisini muhakkak direnç dönemini izler (Selye, 1991). Alarm döneminden sonra beden bu etmene uyum göstermeye çalışır ve ikinci dönem, direnç dönem başlar.

2. Direnç dönemi: Bu dönemde organizma stresöre uyum sağlar. Bu uyumun sürmesi stresin şiddetine ve kişinin stresle başa çıkma biçimine bağlıdır. Bu dönemde hem doğrudan hem de savunucu başa çıkma teknikleri daha yoğun biçimde kullanılır. Çabalar stresi azaltmada başarılı olursa daha normal bir hale dönülür. Eğer stres aşırı ya da uzun süreliyse işe yaramadığı bilinse bile umutsuzca uygun olmayan başa çıkma tekniklerine başvurulur. Bu durum gerçekleştiğinde biyolojik ve duygusal kaynaklar giderek tükenir ve psikolojik ve fizyolojik yıpranma daha belirgin hale gelir.

Selye'ye göre bu ikinci dönem alarm döneminde görülenlerden oldukça farklıdır. Alarm döneminde kan plazmasında azalma (hemokonsantrasyon), kanda klorür miktarında ileri derecede azalma ve genel doku yıkımı (katabolizma) vardır. Hâlbuki direnç döneminde kanda plazma hacminde artma (hemodilüzyon), kanda klorürün yüksek olması, normal beden ağırlığına geri dönüş ve genel dokuda yapıcı metabolizma (anabolizma) devrededir. Alarm dönemi sırasında artmış olan doku katabolizmasına karşı direnç dönemi anaboliktir. Stres etmeni varlığını sürdürmesine karşı, beden normalin üstünde dirençli durumdadır. Direnç dönemi etmenin gücüne, beden adaptasyon yeteneğine ve enerjisine bağlıdır. Stres etmeni sürdüğü sürece adaptasyon sürüp gidemez. Yiyecek tüketiminde pek değişiklik olmadığı için salt kalorik enerji olarak tanımlanamayan adaptasyon enerjisinin tükenmesi ile üçüncü dönem başlar. Eğer zararlı etmene maruz kalma hala yüksek düzeyde devam ederse elde edilen uyum kaybolur ve hayvan 3. döneme yani tükenme dönemine girer.

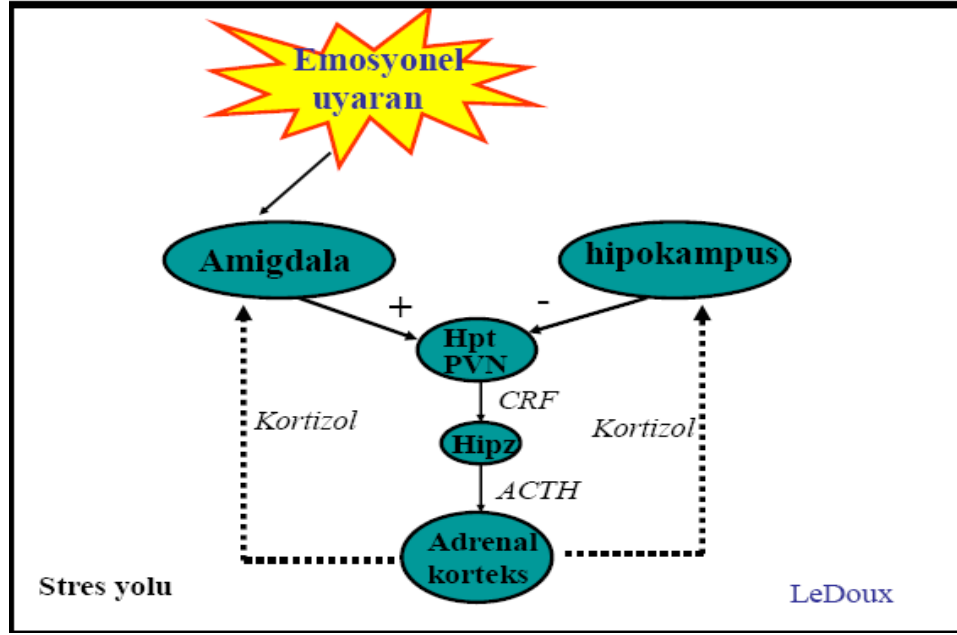
3. Tükenme dönemi: Umutsuz bir çabayla stresi kontrol altına almak için giderek daha etkisizleşen savunma mekanizmalarına başvurulur. Bazı insanlar bu evrede gerçekte bağlarını koparır ve duygusal ve davranışsal bozukluk belirtileri gösterirler. Bazılarında ise dikkati toplama güçlüğü, sinirlilik, erteleme ve hiçbir şeyin anlamı olmadığı, hiçbir şeyin değmediği inancını da içeren “tükenmişlik” belirtileri görülür. Bazıları da stresin yarattığı tükenme hissiyle başa çıkabilmek için alkol ya da uyuşturucu madde kullanabilirler (Nijboer ve ark., 1999). Bu dönemde organizmanın dayanma gücü tükenir, bozukluklar ortaya çıkar. Otonom sinir sisteminin parasempatik bölümü aktive edilir. Normalde parasempatik bölüm sempatik bölümle dengeyi sürdürmeye yardımcı olacak şekilde çalışır. Fakat bu dönemdeki sorun sempatik bölümün aktivitesinin aşırı düzeyde artmış olması nedeniyle parasempatik sinir sisteminin aktivitesinin bunun karşısında çok düşük düzeyde kalmasıdır. Sonuçta tükenme oluşur, bu da ruhsal ya da bedensel hastalık hatta ölümle sonuçlanabilir (Pektekin, 1999).

Alarm reaksiyonu yeniden belirir. Adaptasyon enerjisi tamamen tükenmiş ise ölüm, değilse stres hastalıkları oluşur. Direnç evresinde birey stresörle adaptasyonunu sağlayıp denge durumuna geri dönmeye çaba harcamaktadır. Stresörler bireyin üstesinden gelemeyeceği kadar artınca, birey kendisi için kaynak bulamaz ve hakim olamaz bu aşamada tükenme meydana gelir. Vücut mekanizmalarında kırılma ve kopukluklara neden olur (Özkan, 1993). Selye stres düzeyinin sürmesinin bedenin içsel işlevselliğini bozan, kalıcı nörolojik ve hormonal değişiklikler ortaya çıkardığına inanır. Bu da, ülser, kolitis ülseroza, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalık, hipertiroidizm ve bronşial astımı kapsayan adaptasyon hastalıklarına sebep olur (Curtis, 2001).

2.1.4. Stres yanıtı başlatan ve düzenleyen sistemler

Stres yanıtı organizmanın strese karşı oluşturduğu, homeostaziyi; stresörlerin bozucu etkilerini nötralize etmek için koordine edilmiş olan davranışsal, endokrin ve otonom bileşenlerden meydana gelir. Stres mekanizması; sempatik sinir sistemi ve hipofiz bezi aktivitesini uyarma yoluyla yani nöroendokrin ve hormonal yollarla (psikofizyolojik mekanizmalar) düzenlenir. Stres cevabında beyin ana merkezdir ve bu kompleks işlem serebral korteks, limbik sistem, talamus, hipotalamus, pitüiter bez ve retiküler aktive edici sistemin etkileşimiyle ortaya çıkar. Serebral korteks biliş, tetikte olma ve odaklanmış dikkatte rol alırken, limbik sistem stresin emosyonel komponentinde rol alır. Talamus, duyuşal girdinin (input) alınması ve dağıtılmasında önemli bir merkezdir. Hipotalamus ise endokrin ve otonomik sinir sistemi cevabını koordine eder (Porth, 1998).

Nöroendokrin cevapta kortikotropin salgılatıcı faktör (CRF) ve otonomik sinir sisteminin sempatik kısmını regüle eden lokus seruleus (LC)-norepinefrin (NE) yolağı önemlidir. Hipotalamustan salgılanan CRF strese karşı bir dizi adaptif fizyolojik ve davranışsal cevabı harekete geçirir. Anterior pitüiter hormonlar CRF'nin kontrolü altındadır fakat çevresel sinyaller, uyku ritmi gibi suprahipotalamik uyarılardan da etkilenirler (Porth, 1998). CRF etkisiyle pitüiter bezden salgılanan adrenokortikotropik hormon (ACTH) adrenallerden glukokortikoid salıverilmesine neden olur ve bu hormon da beyne geri dönerek stres cevabında etkili rol oynar. Stres sırasında amigdala ve diğer beyin bölgeleri, hipotalamik nöronları uyararak, hipofizdeki terminallerden kortikotropin salıcı faktörün (CRF) salınmasına yol açarlar. Buda hipofizdeki ACTH salınmasını uyararak, adrenal bezlerden kortizol salınmasını arttırır. Kortizol kan yoluyla bütün vücuda yayılır ve beyinde özellikle hipokampustaki reseptörlere bağlanır. Hipokampustaki reseptörler, yeterli miktarda kortizol ile bağlandığında, hipotalamus üzerinde negatif feedback etkisi yaparak, CRF salınmasını inhibe eder. Bu yolla hipokampus, kortizolu belli seviyede tutarak, amigdalanın tetiklediği stres cevabını regüle eder. Amigdala ve hipokampus arasındaki stres yolu şekilde şematize edilmiştir.



Şekil 2.2. Amigdala ve hipokampus arasındaki stres yolu (LeDoux 2002)

Kısaca stres cevabı, tehlike ile mücadele etmek için bedenin imkânlarını seferber etmekte kullanılan faydalı bir araçtır. Eğer stres uzun sürerse, sonuçları ciddi olabilir. Vücutta bir takım istenmeyen durumlar görülebilir. Ancak hipokampus yeterli oranda işlev görebiliyorsa, stres reaksiyonu durdurulabilir. Ancak uzamış stres, hipokampusun işlevlerini de bozabilir (Davidson ve Irwin, 1999). Stres sistemi, diğer merkezi sinir sisteminin (MSS) bileşenleri ile de etkileşim içindedir. Bu MSS bileşenleri içinde, mezokortikolimbik dopaminerjik sistem, amigdala, hipokampus, arcuatenucleus ve proopiomelanokortin (POMC) nöronal sistemi bulunmaktadır.

Strese karşı nöroendokrin cevap sadece hipotalamik-pituitar-adrenokortikal ekseninde görülmekle kalmaz, sempatik-adrenomedullar sistemde de değişiklikler olarak, adrenal medulladan katekolaminler salgılanır. Büyüme hormonu, prolaktin, insülin ve testesteron gibi diğer hormonların salgılanmasında ve opioid sentezinde de artış olur (opioid artışı, sempatik hiperaktiviteye bağlı katekolamin salgılanmasını sınırlayıcı etki de bulunabilir). Akut stres ve anksiyete durumlarında frontal lobda kanlanma artışının yanı sıra, lokus seruleustan bol miktarda NA deşarjı, DA ve 5-HT miktarlarında artma görülür. Gerek uyku gerekse ağrının önemli bir nöromedyatörü olan 5-HT'deki bu değişiklikler sonucu uyku ve nosisepsiyonda (ağrı oluşturabilecek uyaranlara karşı, sinir sistemi içinde oluşturulan aktivite) bozulmalar ortaya çıkar.

Stres, homeostatik dengeyi bozmaya yeltenen fizyolojik veya psikolojik şartların, sebep olduğu vücut değişiklikleridir. Canlı organizmasının stres etmeni ile ilk karşılaştığında görülen değişikliklerin başlamasına neden olan “Mediatör” diğer deyişte alarm sinyallerinin çaldırıcısının ne olduğu bilinmemektedir. Bu, belki stresörün bazı dokuları etkilemesi, bazı sistemleri uyarması sonucu oluşan metabolik yan ürünler, ya da yaşamsal değeri olan bazı maddelerin kaybıdır. Stresör ajan vücutta sinirsel veya hormonal yollardan biri ile genelleştirilen bir reaksiyon meydana getirir;

1. Duyu organlarından gelen sinir demetleri, talamusta birleşir. Talamus, bir tehlike uyarısı yaptıkları zaman, (korku merkezi olan) amigdalayı ve stres tepkisini hareket geçiren beyin sapını etkinleştirir.

2. Beyin sapı, tüm organlara, kaslara ve damarlara bilgi taşıyan sempatik sinir sistemini uyarır. Çok kısa bir süre sonra sinir uçları, kimi sistemlere canlandırıcı etki yapan, kimilerinin çalışmasını yavaşlatan noradrenalin hormonu "dökmeye" başlar.

3. Böbreküstü bezi, stres hormonlarının önemli bir bölümünü salgılar (kortizol gibi). Sempatik sinir sisteminin uyarısıyla böbreküstü bezindeki adrenal medulla bölgesi, adrenalin ve noradrenalin hormonlarını salgılamaya başlar. Bu hormonlar, beden hücrelerinde iki farklı tür alıcıya bağlanırlar. Organdaki alıcı türlerinin "alfa" ya da "beta" oluşuna göre, organın etkinliğini azaltıcı ya da artırıcı etki yaparlar.

4. Sinir sistemiyle organlar arasındaki koordinasyonu sağlayan hipotalamusun uyarılmasıyla, bedenin stres tepkisinin en önemli bölümü başlar. Hipotalamustaki sinir hücreleri, "Kortikotropin Salgılayıcı Faktör" adı verilen (corticotrophinreleasingfactor, kısaca CRF) adlı hormonu salgılar. CRF, kanla hipofiz bezine taşınır; buradan çıkan uyarıcı hormonlar, kanla böbreküstü bezine gider ve daha fazla kortizol üretimi için burayı uyarır. Kortizol kana karışır; kandaki miktarı belli bir düzeye ulaştığında, hipotalamusu, CRF üretimini durdurması için uyarır. CRF üretimi durunca, kandaki kortizol miktarı da azalır. Bir süre sonra noradrenalin düzeyi de düşer; beden rahatlar.

5. Mide ve kalp gibi düz kaslardan oluşan organlara adrenalin ve noradrenalin yalnızca kortizol varsa, onunla birlikte etki eder. Stres hormonları, organları yüksek uyarılmışlık durumunda tutar. Kalp atışları hızlanır, beyne, akciğerlere, karaciğere, kalbe daha fazla kan gider. Beden hücreleri insüline daha az tepki gösterir. Böylece, kandaki şeker miktarı normalden fazla olur; beyne enerji desteği yapılır. Stres tepkisi sırasında kaslar da şeker yerine yağ depolarını yakmaya başlarlar. Sindirim sistemindeki organların enerji gereksinimleri düşer. Açlık, susuzluk ve cinsellik dürtüleri bastırılır.

6. Akut stres, bağışıklık sisteminde fagositleri etkinleştirir. Sitokinlerin (bağışıklık sistemi hücreleri arasında aracılık yapan hücreler) etkisi noradrenalinle güçlenir. 30-60 dakika sonra kortizolün etkisiyle tekrar frenlenir.

Stres Hormonlarının salgı mekanizmaları ve fizyolojik etkileri:

Hipotalamustan salgılanan kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF), hipofiz ön lobundan ACTH salgılatır. Sürekli olarak az miktarda salgılanan ACTH'ın stressör etkisi ile salınımı yaklaşık 20 kat artar ve bu hormonun etkisi ile böbreküstü bezi korteksinden kortizol salınımında artış olur. Glukokortikoidler ise glukoneojenezisi arttırarak karaciğerde glikojen ve kanda şeker yoğunluğunu yükseltir. Ayrıca hipofizden salgılanan STH (Somatotropik Hormon) da adrenal kortekse tesir ederek mineralokortikoid salınmasını arttırır. Buda organizmada sodyum tutulmasına ve potasyum kaybına sebep olur (Yurdakoş, 2001). Stres sırasında vücutta birçok hormonal değişiklik ortaya çıkmaktadır.

Adrenal korteks ve kortizol: Adrenal korteks kapsülden medüllaya doğru sıralanan ve Zona Glomeruloza, Zona Fasikülata ve Zona Retikülaris olarak adlandırılan 3 tabakadan oluşur. Adrenal korteks steroidlerin yarısını kortizol oluşturur. Kalan yarımın büyük bir bölümü adrenal androjenlerdir. Mineralokortikoidler küçük bir miktarda bulunurlar. Adrenal korteks başlıca iki sistemin kontrolü ile fonksiyonunu yürütür. Bunlardan biri mineralokortikoid sekresyonunda etkin olan renin-anjiotensin sistemi, diğeri ise hipotalamohipofizer, CRH-ACTH etkinliğidir. Renin-anjiotensin sistemi aldosteron salgılanmasında dominant etkiye sahiptir.

Ağrı, travma, hipoksi, soğuk, hipoglisemi, psikolojik stimuluslar, cerrahi girişim, pirojenler, kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH)'un salınmasını uyarırlar. Portal sistemle adenohipofize ulaşan CRH ve onunla beraber artmış olabilen ADH'un etkisiyle ACTH salınması artar. ACTH, sistemik dolaşım ile adrenal kortekse ulaşarak steroid sentezini uyarır. Bu etki ile salınması sağlanan kortizol, sistemik dolaşımda yeterli düzeye erişince ACTH ve CRH salınması baskılanır. Bu negatif "Feed back" mekanizması kortizol düzeyindeki değişikliklerle çabuk, mutlak kortizol düzeyi ile yavaş olarak işler (Yurdakoş, 2001). Adrenal korteks stresli uyarıya CRH artması ve bunun hipofiz den ACTH'yı arttırması ve bunun sonucu glukokortikoid salgısının artması ile cevap verir. İnsanlarda yapılan çalışmalar, strese kortizol cevabının kişiler arasında farklılıklar gösterdiğini bildirmiştir. Bir kısım kişilerde, kortizolde canlı artış gösterirken, diğerleri ise çok az ya da hiç cevap vermemiştir.

Kortizolun fizyolojik etkileri: 1- Glikojenoliz artar.

2- Karaciğer dışında protein yapımını azaltır, yıkımını arttırır. Karaciğere ise aminoasitlerin girişini kolaylaştırır. Karaciğere giren bu aminoasitler glikoneogenez ve protein yapımında kullanılır.

3- Yağ depolarından yağ asitlerini mobilize eder.

4- Yüksek dozlarda, lökosit diapedezini azaltarak iltihabı bloke eder.

5- Eosinofil, lenfosit sayısını azaltırken eritrosit sayısını arttırır. Lenfoid dokuda atrofiye neden olup, immunoglobulin miktarını azaltır.

6- Histamin miktarını azaltır, alerjik iltihaplar bloke olur.

7- Kardiovasküler sistem: Kan basıncını arttırır. Bu etkisini damarların adrenaline duyarlılığını ve karaciğerde angiotensin yapımını arttırarak gösterir.

8- Gastrointestinal sistem: Hipersekresyon, hiperasidite oluşur.

9- Mental aktiviteyi arttırır

Böbrek üstü medullası ve adrenalini: Böbrek üstü medullasından salgılanan katekolaminler adrenerjik sinir uçlarında da yapılır. Noradrenalini adrenaline çeviren enzim medullada yüksek konsantrasyonda olduğundan adrenalini sentezinin önemli bölümü burada olur. Noradrenalinin etkisi daha fazla alfa reseptörler üzerinden periferik dolaşımdadır. Adrenalini ise beta 1 ve beta 2 reseptörler üzerinden

metabolizma ve kalp üzerine etkilidir. Beta 1 kalbin uyarılması ve lipolizden, beta 2 ise bronkodilatasyon sorumludur. Stres etmeni ile uyarılan otonom sempatik sistem, böbrek üstü bezi medullasından adrenalin salgılanmasını artırır.

Adrenalinin fizyolojik etkileri: 1- Kardiovasküler sisteme etkileri: Kalp kasının kasılma gücü, kasılma ve iletim hızları adrenalinle artar.

2- Bronkodilatasyona neden olur.

3- Böbrekler: Vasokonstriksiyona bağlı olarak glomerüler filtrat azalır ve reninangiotensin sistemi aktive olur, aldosteron arttığından vücutta tuz ve su tutulur.

4- Glikojenolizi hızlandırır.

5- Yağ dokularından yağ asitlerini mobilize eder.

6- Beden ısısı artar.

7- Solunum derinliği ve hızı artar.

8- Pupiller dilatasyon olur.

9- Mental aktivite artar

10- Yüzeysel deri damarlarında vasokonstriksiyona yol açar

Endorfinler: Endorfinler, stresli uyarıya cevapta ve diğer hormonların strese cevabını değiştirmede önemli rol oynar. Beta-Endorfin; insanlarda ACTH ve kortizol seviyesini baskılar. Hipofiz bezi, Beta-LPH ve Endorfin için önemli bir kaynaktır. Gerek Endorfin gerekse enkefalinler, spinal kordda yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. Periventriküler alanın uyarılması, analjezi husule getirir. Beyin ventrikülüne endorfin tatbikide analjeziye sebep olur (Roserm, 1985). Stres cevaplarının altında yatan artmış Beta-Endorfin aktivitesinin hipofizden mi, yoksa merkezi sinir sisteminden mi geldiği bilinmemektedir. Artmış Beta-Endorfin salgısı, kapiller akım ile retrograd (geriye doğru) olarak taşınıp, kan bariyerini geçerek beyin veya spinal sıvıya ulaştırılıyor olabilir. Değişik olarak artmış aktivite, limbik yapıları yansıtan arkuat nukleusun da ki Beta-Endorfin nöronlarında ortaya çıkabilir. Bazı psikolojik durumlarda her iki kombinasyonda sorumlu olabilir (Balcıoğlu ve Savrun, 2005).

Büyüme Hormonu (GH, STH): Doğumdan pubertenin tamamlanmasına kadar çocukların büyümesinde etkili en önemli hormondur. STH hayat boyunca

vücut anabolizmasının denetiminde rol oynayabilir. Büyüme hormonu, stresli uyarılara oldukça fazla cevap veren bir hormondur. STH'daki yükselmeler cerrahi, kardiyak kateterizasyon, elektroşok tedavisi, gastroskopi, fizik egzersiz ve sadece psikolojik tabiattaki uyarılar ile ortaya çıkar. GH'un salgısını uyaran diğer fizyolojik uyarılar egzersiz, şiddet, yorucu egzersizler yapmak, ağrı veya anksiyete uyaran performans testleridir (Koloğlu, 1984). Fizik ve psikolojik uyarılara kortizol ve GH cevapları arasındaki farklılık, denetimlerdeki mekanizmaların ayrı olduğunu düşündürür. Birçok durumda, kortizol salgısında belirgin bir artış olmadıkça, GH yükselmesi gerçekleşmez. Ancak kortizolün artması, GH'da herhangi bir yükselme olmaksızın da ortaya çıkabilir (Tuncer ve ark., 1989).

Prolaktin (PRL): PRL'in başlıca etkisi süt içindeki laktablumin, kazein, yağ ve karbonhidrat ve diğer maddelerin sentezini uyarmaktır. PRL reseptörleri meme hücrelerinden başka karaciğer ve böbreklerde de tespit edilmiştir. Normal PRL düzeyleri erkeklerde 15 ng/ml, kadınlarda 20 ng/ml'yi aşmaz. PRL seviyeleri menopozdan sonra azalır. Gebelik sırasında hormon düzeyleri devamlı yükselerek, hemen doğumdan önceki dönemde 150-200 ng/ml'ye çıkar. Bu hormonun yarı ömrü yaklaşık 50 dakika civarındadır (Balcıoğlu ve Savrun, 2005)

Rahatsız edici uyarılara prolaktin cevabı üzerinde yapılan çalışmalar fazla değildir. Prolaktin paraşüt atlamalarında, hareket hastalıklarında ve sınavları takiben yükselir. GH'da olduğu gibi, prolaktinin de kortizol ve katekolaminlerin artmış cevaplarına ulaşabilmesi için çok daha şiddetli uyarılara ihtiyacı varmış gibi görünmektedir. Sözlü imtihan stresinin prolaktin üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, bir grup tıp öğrencisinde, sözlü sınav sırasında prolaktin salgısında yükselme tespit edilmiştir (Tallis, 1993).

Testosteron: Kortizol, katekolaminler, GH ve prolaktinin tersine, stresli uyarıları takiben testosteron seviyeleri düşer, fakat mekanizması bilinmemektedir. Başlangıçtaki kanıtlar, glukortikoidlerin hipofiz LH salgısını baskıladığını, fakat genelde dolaşan LH' da bir değişiklik bulunmadığını düşündürmektedir. Kortizol belki de direkt olarak testiküler steroidogenezisi inhibe etmektedir. Hayvanlarda yapılan çalışmalar da erkek maymun ve şebeklerde başarılı bir kavgadan sonra, hem

kortizol hem de testosteron artar, hâlbuki stresli uyarıyı takiben testosteron düşer, kortizol ise artar. Bu çalışmalar sözü edilen bu iki hormonun regülasyonun bir birinden bağımsız olduğunu düşündürmüştür (Levines, 1993).

2.1.5. Stresin çeşitli yapılar üzerindeki etkileri

2.1.5.1. Stresin beyin üzerindeki etkileri

Günlük yaşamın bir parçası olan stres bizi pek çok yönden etkiler ve bazı fizyolojik ve davranışsal tepkilere yol açar. Beynimiz bu tepkilerin koordinasyonunu sağlarken bir yandan da stresin etkisiyle değişime uğrar. Hayvan ve insan çalışmaları, stresin beyin çeşitli bölgelerinde geri dönüşlü veya geri dönüşsüz olarak değişikliklere neden olduğunu göstermiştir (Sapolsky, 1992; Sapolsky, 1995; Lupien ve McEwen, 1997). En çok etkilenen bölgeler hipokampus, amigdala ve prefrontal korteks gibi görünmektedir. Beynin üzerinde en fazla çalışılmış kısmı olan hipokampus uzamış strese karşılık atrofi bulguları göstermektedir (Stamp ve Herbert 2001; Lin ve ark., 2002; Vyas ve ark., 2002; Joels ve ark., 2004; Fuchs ve ark., 2004; Buwalda ve ark., 2005).

Bu nöroplastik değişim en fazla glukokortikoidler olmak üzere noradrenalin, glutamat, serotonin ve başka pek çok çalışılmış veya henüz çalışılmamış molekülün etkisiyle, uyum içinde gerçekleşmektedir. Bu süreçte tüm bu moleküller birbirlerini etkileyerek nöronlarda ve glial hücrelerde değişime yol açmaktadır (McEwen, 2000). Bu adaptif plastisite (uyum) hayvan ve insanlarda stres kaynaklarının öğrenilmesi ve baş edilmesi açısından önemlidir ve muhtemelen bedenin bu streslerden en az zararı görmesini amaçlamaktadır. Ancak, erken yaşam stresleri ve uzun süreli stresle de bu adaptif mekanizma çeşitli psikiyatrik ve fiziksel hastalıklara zemin hazırlayabilmektedir. Erken yaşam streslerinin beyin gelişimini etkilediği ve erişkinlikte de bunun devam ettiği gösterilmiştir (Owen ve ark 2005; Karten ve ark., 2005). Bu, psikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinin anlaşılması ve tedavi edilebilmesi ve hatta önlenmesi için önemli bir gelişmedir. Stresin beyine etkisi

daha çok hayvanlar üzerinde çalışılmıştır ancak, hastalıklara odaklanan insan çalışmaları da bulunmaktadır.

Yapılan araştırmalar, uzamış stresin hipokampustaki dendritleri büzdüğü ve sonuçta da hipokampusta hücre ölümüne sebebiyet verdiği gösterilmiştir. Buna bağlı olarak da hipokampusa bağlı fonksiyonları, örneğin açık belleği ciddi şekilde bozmaktadır. Dendritlerin büzülmesi daha çok hipokampusun CA3 bölgesinde görülürken, Dentat firusta nörogenesis durur. Bu iki durum stres ve kortizolü yükselten diğer durumlarda hipokampusun volümünün azalmasını izah edebilir. Stres sadece hipokampusu değil, prefrontal'ın fonksiyonlarını da bozar. Örneğin depresyonda yakın hafıza bozulur, dikkat dağınık, karar verme, plan yapma ve idari fonksiyonlar bozulur.

2.1.5.2. Stresin gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri

Stres, gastrointestinal sistemin özellikle fonksiyonel hastalıklarına predispozisyon (yatkınlık) yaratan, onları hızlandıran ve bazen de kronikleştiren bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Yaşam içinde stresin ortadan kalkması pratik olarak mümkün olmadığından, onunla başa çıkma yollarının geliştirilmesi gerekmektedir. Bunu kendi imkânlarıyla yapamayan kişilerin bir kısmında FGEH dediğimiz, gastroenteroloji polikliniklerine başvuran ve izlenen hastaların yarısından fazlasında bulunan hastalık grubu ortaya çıkmaktadır. FGEH, hastanın yaşam kalitesini ciddi olarak bozmakta ve çalışma performansını düşürmektedir (Şentürk, 2005).

Gastroenterolojide FGEH içinde, 6 kategori içinde 24 hastalık tanımlaması yer almaktadır. Bu kategoriler: Özofajeal, gastro düodenal, barsak, biliyer, anorektal ve karın ağrısı tarzındadır. FGEH tanımlaması için 1 yıl içinde en az toplam 12 hafta süresince hastalıkla ilgili yakınmaların bulunması ve standart tanı yöntemleriyle gösterilebilir bir organik anormallik bulunmaması veya bulunanların yakınmalarla ilişkisinin olmadığı düşünülmesi gerekir. FGEH arasında en sık rastlanan ve en çok araştırılanlar: İrritabl barsak sendromu (IBS), fonksiyonel dispepsi, fonksiyonel

konstipasyon ve fonksiyonel özofagus hastalıklarıdır. Bu hastalıkların stres ile ilişkili oldukları büyük ölçüde ortaya konulmuştur.(Altın, 1990)

Stres en çok etkilenen organlardan birisi olan midede, çok çeşitli biyolojik ve psikososyal durumlar, ülser oluşumunu artırırlar. Stres esnasında gastrik asit sekresyonu artar, gastrik motilite ve vaskularizasyon bozulur (Lau ve Lam, 1992). Uzun süreli anksiyete ve stresin, gastrik mukozal lezyonlar oluşturduğunu ve emosyonel stresin kronik ülserle birliktelik gösterdiğini belirten pek çok araştırma vardır. Stres ülserinin etiopatogenezinde, mukozal iskemi, asiditede artış, safra reflüsü gibi çeşitli etkenler mevcuttur (Cheung, 1991). Stresin diğer etkileri mast hücre degranülasyonu sonucu histamin açığa çıkması, hipermotilitenin gelişmesi, mukus tabakasının azalması ve gastrik mukozal kan akımının bozulmasıdır (Cho ve ark., 1992). Stres ülseri oluşumunda mukozal iskeminin kritik faktör olduğu ve mukozal hasarın bu nedenle geliştiği belirtilmektedir (Guth, 1972).

2.1.5.3. Stresin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri

Günümüzde koroner kalp hastalığı (KKH) toplum sağlığı yönünden en önemli sağlık problemlerinin başında gelmektedir. Gözlemsel çalışmalar psikososyal faktörlerin KKH seyrini güçlü olarak etkilediğini ortaya koymuştur (Rozanski ve ark., 2005) . Psikososyal faktörlerden iki temel grup olarak tanımlayabileceğimiz “emosyonel stres” ve “kronik stres” in ateroskleroza hızlandırdığı ve kardiyak olay gelişiminde etkisi olduğu gösterilmiştir (Rozanski ve ark., 1999; Lesperance ve ark., 2002).

Emosyonel faktörler; majör depresyon ve anksiyete gibi affektif (duygusal) bozukluklar ile saldırganlık ve öfkeyi içermektedir. Kronik stres faktörleri; düşük sosyal destek, düşük sosyoekonomik statü, iş stresi, evlilik stresi, ve “care-giver” (örn. hemşirelik) stresi olarak tanımlanabilir. Kronik stresi yaratabilecek birçok farklı olumsuz yaşam tarzının kardiyak olaylar üzerindeki olumsuz etkisi değerlendirilmiştir. Kronik stres ve emosyonel bozukluklar kardiyolojide son yıllarda büyük önem kazanan psikososyal risk faktörleri olarak dikkat çekmektedir. Psikososyal risk faktörleri ile birlikte sağlıksız yaşam tarzı alışkanlıklarının

değiştirilmesi konusu ile ilgili olarak kardiyolojide “behavioral cardiolgy” olarak adlandırılan yeni bir alan güncel kardiyoloji pratiğinin bir parçası olarak tanımlanmaya başlanmıştır. Son yıllarda psikososyal faktörlerin ateroskleroz gelişimi ve kardiyak olay riskini artırmada rol oynayan patofizyolojik mekanizmaların aydınlatılması ile ilgili önemli ilerlemeler sağlanmıştır (Pehlivanoglu, 2005).

Emosyonel bozukluk ve kronik stres sempatik sinir sistemi ve HPA aksı üzerinde belirgin etkiler oluştururlar. Bunların sonucunda plazma norepinefrin seviyelerinde artış ve hiperkortizolemi gözlenir. Özellikle depresyon hastalarında yapılan klinik çalışmalarda, bu etkilerin hastalarda hipertansiyon, taşikardi, endotel disfonksiyonu, otonom sinir sistemi disfonksiyonu, inflamasyon (CRP, interlökin-6, tümör nekrozis faktör düzeylerinde artış), trombosit aktivasyonu gibi kardiyovasküler sistemi olumsuz olarak etkilediği gözlenmiştir (Carney ve ark., 2005). Bu sonuçlar özellikle kronik stres durumundaki bir bireyde akut stresin akut kardiyak olay gelişim riskini artırabileceği bildirilmiştir.

2.1.5.4. Stresin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri

Bağışıklık sistemi ve merkezi sinir sistemi (MSS) arasında hormonlar, peptidler ve nörotransmitterler aracılığı ile doğrudan bir etkileşim vardır. Bağışıklık sistemiyle ilişkili hastalıklara ruhsal stresin ve major depresyonun etkileri birçok çalışmada araştırılmıştır (Stein ve ark, 1991; Seidel ve ark, 1995). Bu çalışmalardaki ortak görüş stres ve depresyonun bağışıklık sistemi üzerine olumsuz etki gösterdiği yönündedir (Glaser ve ark, 1992; Seidel ve ark., 1996). Bağışıklık sisteminde ortaya çıkan değişikliklerin stresin akut ya da kronik oluşuna göre farklılık gösterebileceği bildirilmektedir (Miller ve ark, 1993; Miller, 1998). Deneysel çalışmalarda, stresi izleyen bağışıklık sistemi baskılanmasının depresyondakine benzer olduğu dikkat çekmektedir. Örneğin, mitojene azalmış lenfosit yanıtı, NK hücre sitotoksitesisi ve nötrofil fagositozu deneysel hayvan modellerinde bildirilmiştir. İlmli ve akut stres, bazı bağışıklık sistemi işlevlerini artırmakta iken kronik ve şiddetli stres hücrel bağışıklık işlevlerini baskılamaktadır.

Stres ve depresyon lökosit ve nötrofil miktarında artışa ve lenfosit miktarında azalmaya neden olur. İnsan çalışmalarında, uzay yolculuğu yapanlarda lenfosit proliferasyonu baskılanmakta ve lökosit ve nötrofilleri artırmakta iken, acı çeken,

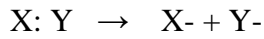
yakınlarını kaybeden veya boşanan kişilerde (kronik travmatik yaşantılar) hücrel bağışıklık işlevlerinde azalma gösterilmiştir (Maes ve ark.,1995).

Hücrel işlevlerdeki değişiklikler gibi, akut faz protein konsantrasyonlarındaki değişikliklerde depresyona eşlik eder. Fiziksel ve ruhsal stresten sonra plazma IL-1 (interlökin-1), IL-1A, IL-6, IL-6R ve TNF- α düzeylerinde artış bildirilmiştir (Maes, 1995). Bu değişiklikler şiddetli ve kontrol edilemeyen bağışıklık yanıtını akla getirmektedir. Böylece stres yanıtı sırasında görülen sitokin yapımı artışına benzer inflamatuvar yanıtlar oluşmaktadır.

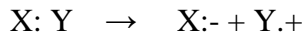
2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikal; birçok fizyolojik veya patolojik prosesde üretilen, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektronu bulunan herhangi bir atom veya molekülden ibarettir. Bir bileşik, bir elektron kaybederek veya bir elektron alarak serbest radikal oluşabilir. Serbest radikaller homolitik bağ yıkımı ile de oluşabilmektedirler. Homolitik parçalanmada kovalent bağ simetrik olarak ayrılır ve ortaya çıkan iki parçada da tek bir elektron kalır ve serbest radikal oluşur. Serbest radikaller pozitif veya negatif yüklü veya nötral olabilirler. Serbest radikallerin oluşumu aşağıda gösterilmiştir.

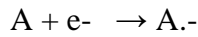
1. Homolitik ayrılma ile radikal oluşumu



2. Heterolitik ayrılma ile iyon oluşumu



3. Elektron transferi ile radikal oluşumu



Şekil 2.3. Serbest radikal oluşumu (Stahl ve ark. 2002)

Serbest radikaller ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup, çevrelerindeki atom ve moleküllere adeta saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça

tehlikelidirler. Serbest radikaller, ortaklanmamış elektronunun belirtilmesi amacıyla üst kısımlarına yazılan bir nokta (x.) ile gösterilirler (Akkuş, 1995; Dikici, 1999). Biyolojik sistemlerde önemli serbest radikallerin çoğu oksijene dayanır. Hücreler hasta ve yaşlı olduğu zaman fazla miktarda serbest radikal üretirler

2.2.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşmuş radikallerdir (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995). Oksijen atomunun dış yörüngesini oluşturan p orbitalinde iki elektron eksik olmasından ötürü 'diradikal' olarak değerlendirilir. Bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen metabolizmada en son suya indirgenirken, kısmi olarak indirgenmesi ile de çok sayıda reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Dikici, 1999). Serbest oksijen radikalleri, çok kısa ömürlü ve kuvvetli oksidan nitelikli oksijen radikalleridir. Bu radikaller; süperoksit radikali, hidroksil radikali, singlet oksijen(delta singlet oksijen, sigma singlet oksijen), hidroperoksi radikalidir. Bunlara ilaveten H_2O_2 radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür.

2.2.1.1. Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali, $O_2^{\cdot-}$), iki elektron alması ile de peroksi anyonu O_2^- oluşur (Çakır, 1997). Hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali süperoksit radikalidir. Serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\cdot-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir (Yanbeyi, 1999). Hücresel ortamlarda üretilen süperoksit, indirgeyici ya da oksitleyici olarak davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom c'ye veya

bir radikale verirse tekrar oksijene oksitlenir. Oksijenden daha oksitleyici olan süperoksit anyonu bir elektron daha alırsa peroksi anyonuna indirgenir.

2.2.1.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

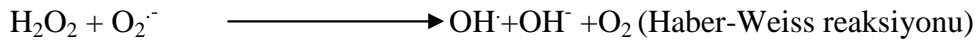
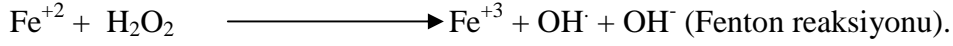
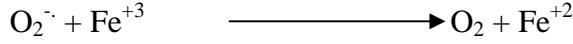
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) oluşturur (Akkuş, 1995; Fırat, 1997). H_2O_2 , süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu sonucu ortaya çıkar. İki süperoksit molekülü iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir. H_2O_2 , membranlardan geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

2.2.1.3. Hidroksil radikali ($OH\cdot$)

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali ($OH\cdot$) canlılarda iyonlaştırıcı radyasyonun etkisiyle sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması ile oluşabilir. Hidroksil radikalının en etkili radikal olmasının nedeni hücre nükleusundaki membran bariyerleri kolayca geçmesi ve mutajenik olarak DNA'yı etkilemesidir. Bu nedenle in vivo oluşan bir $OH\cdot$ radikali hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur. Nonradikal biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır (Akkuş, 1995, Yanbeyi, 1999).

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss

reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe^{+3} katalizörlüğünde çok hızlı oluşur (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



Biyolojik sistemlerdeki en reaktif tür olan OH^\cdot , ortamda rastladığı her biyomolekülle müthiş bir hızla tepkimeye girer. Bu nedenle 10^{-9} saniyeden daha kısa bir ömre sahiptir. Hidroksil radikalının başlıca tepkimeleri elektron transfer tepkimeleri, hidrojen çıkarma tepkimeleri ve katılma tepkimeleridir. OH^\cdot 'nin seçtiği başlıca hedefler elektronca zengin bileşiklerdir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidlerde başlatılan radikal tepkimelerde binlerce farklı ara ürünler oluşabilir (Akkuş 1995). Bir hidroksil radikali, yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperokside çevirebilir. Bu oluşan hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar ve hücrenin kollabe olmasına neden olur. Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak toksik ve reaktif olan aldehitler de oluşabilir. Bunlardan en önemlilerden biri de MDA'dır (Uysal, 1998; Dikici, 1999).

2.2.1.4. Singlet oksijen (1O_2)

Singlet oksijenin ortaklanmamış elektronu yoktur. Bu sebeple radikal değildir. Oksijenin yüksek enerjili bir formu olan singlet oksijende (1O_2) spin kısıtlaması olmadığından reaktivitesi çok yüksektir. Aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde verip oksijene geri dönüşebildiğinden, oluşumu kemilüminesans ölçümü ile takip edilebilir. Vücutta, pigmentlerin oksijenli ortamda ışığı absorplamasıyla, hidroperoksitlerin metal varlığındaki yıkım tepkimelerinde ya da kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında oluşabilir. Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. (Kılınç ve Kılınç 2002; Akkuş 1995).

2.2.2. Serbest radikal kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri sırasında gelebildiği gibi, organizmada bazı yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın radyasyon gibi dış etkenlere maruz bırakılmasıyla da meydana gelebilir (Yanbeyi, 1999). Bu nedenle serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olarak ikiye ayrılmaktadır (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Çizelge 2.1. Hücredeki serbest oksijen radikali kaynakları (Cross ve ark.,1987)

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
-Mitokondriyal elektron transport zinciri -Kloroplast elektron transport zinciri -Oksidan enzimler: Ksantin oksidaz İndolamin dioksijenaz Triptofan dioksijenaz Galaktoz oksidaz Siklooksijenaz Lipooksijenaz Mono aminooksidaz -Fagositik hücreler Nötrofiller Monosit ve makrofajlar Eozinofiller Endotelyal hücreler -Oto-oksidasyon reaksiyonları (Fe^{+2} , epinefrin)	-İlaç oksidasyonları (Ör.Parasetamol, CCl_4) -İyonize radyasyon -Güneş ışığı -X- ışınları -UV- ışınları -Isı şoku -Glutasyonu okside eden maddeler -Ortam havası -Sigara dumanı -Ozon -Kükürtdioksit -Egzoz gazları

Endojen serbest radikal kaynakları: Normal metabolizma sırasında çeşitli basamaklarda serbest radikal yapısına sahip ara ürünler meydana gelmektedir. Metabolik sürecin ilerleyebilmesi için bu bileşiklerin ara ürün olarak oluşmaları kaçınılmazdır (Fırat, 1997).

Ekzojen serbest radikal kaynakları: Organizmanın doğasından kaynaklanmayan, sadece dış etkenlerin varlığında oluşan reaksiyonlar sonucunda da serbest radikaller açığa çıkabilir. Bunlar şu şekilde sıralanabilir;

- Antineoplastik ajanlar
- Radyasyon
- Alışkanlık yapan maddeler: Alkol ve uyuşturucular.

- Çevresel ajanlar: Ksenobiyotikler (Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar).

2.2.3. Serbest radikallerin biyolojik etkileri

Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşme özelliği göstererek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Gutteridge, 1995; Yanbeyi, 1997; Dikici, 1999).

Çizelge 2.2. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri (Yanbeyi, 1999)

Doymamış yağlar	-Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon -Lipidlerde çapraz bağlanmalar -Organel ve hücrelerde çapraz bağlanmalar
Karbonhidratlar	-Polisakkaritlerin depolimerizasyonu
Nükleik asit bazları	-Hidroksilasyonlar -Mutasyonlar, kimyasal modifikasyonlar -Şekerlerde benzer reaksiyonlar
Kükürtlü amino asitler	-Protein denatürasyonu ve çaprazlanma -Enzimlerde inhibisyon
Proteinler	-Peptid zincirlerinde kopma -Denatürasyon
Nükleik asitler	-Tek ve çift iplikçik kırılmaları -Proteinlerde çapraz bağlar -Baz içermeyen bölgeler
Hyaluronik asit	-Sinovyal sıvı akışkanlığında değişme

Serbest radikallerin membran lipidleri üzerine etkileri: Serbest radikallerin en belirgin etkileri, lipid peroksidasyonuna neden olarak birçok hastalık komplikasyonlarının ortaya çıkmasında ve progresyonunda rol oynamalarıdır. Tüm büyük biyomoleküller serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat en hassas olanlar lipidlerdir (Yanbeyi 1999). Hücre zarı su içermediğinden hidroksil radikalının (OH) başlıca hedefi yağ asitleridir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu, zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne neden olabilir. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı, geri dönüşümsüzdür. Lipit peroksidasyonu,

membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan $\cdot\text{OH}$ radikalinin membran fosfolipitlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur (Kılınç ve Kılınç 2002; Yanbeyi 1999).

Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girebilir ve bundan dolayı genotoksik ve karsinojenik bir etki gösterir. MDA ölçümü ile LPO'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücre olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden difüze olup hasarı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir.

Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri: Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde parçalanma, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu (çökeltme) meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobini oluşturur (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri: Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler

fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonunun, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak çökelmelerine sebep olduğu gibi bazal membran kalınlaşmasına ve sonuçta katarakt, mikroanjiopati gelişimine de sebep oldukları ileri sürülmektedir (Yanbeyi, 1999).

Serbest radikallerin Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri: İyonize edici radyasyona bağlı hücre ölümünün başlıca nedeni nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyonudur. Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksisite ile sonuçlanır (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Yanbeyi, 1999).

2.2.4. Vücutun antioksidan savunma sistemi

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir (Akkuş, 1995; Dikici, 1999). Antioksidanlar, hem direkt hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonlarının istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. (Akkuş, 1995; Mates, 2000). Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler. Antioksidan savunma enzimatik veya nonenzimatik olarak gerçekleşebilir. İlk ve temel antioksidan savunma, enzimatik olarak yapılmaktadır. En önemli intrasellüler enzimlerin; SOD, GSH-Px, glutatyon redüktaz (GSSG-R) ve katalaz (KAT) olduğu bilinmektedir. Sonraki savunma hattı ise ekstrasellüler nonenzimatik antioksidanlar tarafından oluşturulur. Bunlar; vitamin E, vitamin C, β -karoten, transferrin, seruloplazmin, albumin, haptogloblin gibi bileşiklerdir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Bast ve ark., 1997; Yanbeyi, 1999).

2.2.4.1. Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD): Antioksidan enzimlerden en önemlisi olan SOD (EC 1.15.1.1), hepatositlerin, eritrositlerin ve beyin hücrelerinin mitokondri matriksinde bulunur. Kararlı bir yapıya sahiptir. $O_2^{\cdot-}$ 'i H_2O_2 'ye dönüştüren

reaksiyonu katalizler (Armstrong, 1998). Antioksidan savunmanın ilk basamağı süperoksidin H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen süperoksit dismutaz enzimidir (Gonzales ve ark., 1984; Cerutti ve ark., 1988; Wheeler, 1990; Çakır, 1997). SOD aerobik hücrelerde oksijen radikalinin zararına karşı intrasellüler savunmada büyük rol oynar. SOD'un aktivitesinde yaşlanmaya bağlı olarak bir azalma olmaktadır (Çakır, 1997).

Katalaz (CAT): Katalaz (EC 1.11.1.6), tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler (Tudhope, 1967; Palmer, 1990; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

Aktivitesi daha çok karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde etkilidir. Bağ doku ise enzim aktivitesinin en düşük olduğu bölgedir. Katalaz, SOD'ın süperoksit radikallerinden oluşturduğu H_2O_2 ile metabolik yollardan oluşan H_2O_2 gerektiği oranda indirgeyerek suya dönüştürür. Toksik etkiye sahip H_2O_2 'in fazlalığı katalazın yanında peroksidazla detoksifiye edilmektedir. Oksidatif strese karşı savunmada, antioksidan sistemin öncelikli bir enzimi olan katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) primer antioksidan savunma sistemini oluşturmaktadır.

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px): Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir (EC 1.11.1.9). Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 85000 Dalton'dur. Birbirinin aynı dört altbirimden oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999). GSH-Px, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (Necheles ve ark., 1968; Michiels ve ark., 1994; Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999). Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px membranın peroksidasyonuna karşı

korunmasını sağlar (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

Glutasyon S transferaz (GST): Selenyuma bağlı olmayan GSH-Px(EC 2.5.1.18) olarak adlandırılır. Membran LPO'nu yalnızca fosfolipaz A2'nin varlığında inhibe eder. Öncelikle araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum bağımsız GSH peroksidaz gibi aktivite göstererek antioksidan etki gösterir (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999).



Glutasyon S-transferazlar (GST) katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Bunlar hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri üstlenirler (Akkuş, 1995).

2.2.4.2. Nonenzimatik antioksidanlar

Glutasyon (GSH): İndirgenmiş (redükte) glutasyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup, aktif bir sülfidril (-SH) grubuna sahiptir. Vücuttaki GSH'ın büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki aşamada sentezlenebilen bir tripeptittir (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999). Vücutta enzimatik olmayan önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Beutler, 1984 Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999). GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu sağlar. Ayrıca proteinlerdeki sülfidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (Akkuş 1995).

Vitamin E (α -tokoferol): E vitamini dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasıdır (Akkuş, 1995; Çakır, 1997; Yanbeyi, 1999). E vitamini özellikle yağlı bitkilerde

bulduğundan, temel görevi bitkilerdeki yağları oksidatif hasarlardan (yağların bozulması) korumaktır.

Vitamin C (askorbik asit): C vitamini (askorbik asit) bir ketolaktondur. L-askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit gibi iki aktif formu olan askorbik asit iyi bir redüktandır. Redükleyici bir ajan ve radikal süpürücü olarak askorbik asit, reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etki sağlar (Yanbeyi, 1999).

Karotenler: Doğada yaygın olarak bulunan ve hücreleri korumada önemli görevleri olan pigmentlerdir (Yanbeyi, 1999).

Flavonoidler: Lipidlerde çözünen antioksidanlar sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir (Dikici, 1999).

Ürat (ürik asit): Süperoksit, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler. Normal plazma konsantrasyonunda antioksidan etki gösterir (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Bilirubin: Hem proteinlerinin yıkım ürünü olan bilirubin aynı zamanda çok efektif bir lipid antioksidandır. Bilirubinin mikromolar konsantrasyonlarda dahi peroksil radikalini yakaladığı ve zincir kıran antioksidan olarak davrandığı gösterilmiştir (Gutteridge, 1995; Krinsky, 1988; Fırat, 1997).

Albumin: Plazmanın zincir kırıcı antioksidan aktivitesine yol açan plazma sülfidril gruplarının major komponentidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Avcı, 2001).

Seruloplazmin: Hem doku homojenatları, hem de basit lipid emilsiyonlarında güçlü bir serbest radikal inhibitörüdür (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Transferin: Dolaşımdaki serbest demiri bağlar (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Melatonin: En zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran, günümüze kadar bilinen en güçlü antioksidandır (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Sistein: Süperoksit ve hidroksil radikallerinin toplayıcısıdır (Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

Ubikinonlar: Solunum zincirindeki redoks taşıyıcılığının yanında, oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile etkileşerek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin hasar görmesini engeller (Yalçın, 1998).

2.3. Stresin Serbest Radikal ve Hastalıklarla Bağlantısı

Çağımızın sorunu olan stres pek çok hastalığa zemin hazırlayan önemli bir faktördür. Stres hormonları diye adlandırdığımız adrenalinin ve kortizolün salgılanmasındaki artış ve bu iki hormonun genel fizyolojik etkileri ile beden direnç döneminde stres etmeni ile başa çıkmaya çalışır. Birey yaşam süreci içinde pek çok kez genel adaptasyon sendromunun ilk iki dönemine girebilir. Eğer stres etmeni çok güçlü ise ya da çok uzun bir süreyi kapsamışsa diğer bir deyişle beden direnç döneminde stres etmeni ile başa çıkamaz ise organizma direnç döneminden tükenme dönemine girer ve psikosomatik hastalıklar ya da ölüm gerçekleşir. Organizmada direnç dönemini sonlandırıp tükenme dönemini başlatan ise stres hormonlarının organizma üstündeki uzamış etkileridir. Stresin canlı organizma üzerine olan hasar verici etkileri, oksidan üretimine katkısından kaynaklanmaktadır. Stresin indüklediği doku hasarı ile ilgili mekanizmalar, bazı çalışmalarda hormonlar ve lipit peroksidasyonu arasında ilişki kurularak açıklanmaya çalışılmıştır. Strese maruz kalan organizmalarda, plazma katekolamin düzeylerindeki artışa paralel olarak, doku hasarının meydana geldiği bilinmektedir. Epinefrinin oksidasyonu sonucu serbest radikaller oluşur. Bu mekanizma sonucunda da, stres sırasında meydana gelen reaktif oksijen türlerine bir kaynak oluşturmaktadır (Jewet ve ark., 1989).

Oksidatif stres, oksidan oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar yönünde bozulması olarak açıklanabilir. Oksidatif stres; yaşlanma, kanser, kalp hastalıkları, diyabet ve diyabetin komplikasyonları başta olmak üzere pek çok patolojik durumun ve de yaşlanmanın patogenezi ile yakından ilişkilidir. Serbest radikaller pek çok hastalık sürecinde önemli rol oynarlar. Miyokardiyal enfarktüs, diyabet, kanser, katarakt, romatoid artrit, infertilite, solunum, sinir ve üriner sistem hastalıkları ile stres ve yaşlanma sürecinde antioksidan enzim düzeylerinde önemli değişiklikler ve lipit peroksidasyonunda artış, birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Akkuş, 1995). Uyum hastalıkları olarak da anılan ve strese bağlı olarak görülen çeşitli hastalıklar vardır. En yaygın stres hastalıkları mide ve üst bağırsakta peptik ülserler, yüksek kan basıncı, kalp sorunları ve sinirsel bozukluklardır.

Stresin hem humoral ve hem de hücrel immün sistemi etkileyerek, immün sistemi baskılayabildiği gösterilmiştir, stresin lenfosit proliferasyonu ve killer hücrelerin aktivitesini yavaşlattığı gösterilmiştir ve bu yoldan da değişik hastalıklara neden olabileceği kesindir. Mekanizma çok açık olmamakla birlikte beyin ve immün sistem ilişkilerine dayandığı düşünülmektedir. Beyin ve immün sistem otonomik sinir sistemi ve hipofiz aracılığıyla, nöroendokrin yolla ve çift yönlü olarak bağlıdır. Nöropeptidlerin nörotransmitter ve nöromodülatör olarak rol oynadığı sanılmaktadır. Nöropeptidler aynı zamanda immün sistem üzerinde de önemli etkilere sahiptir (Koptagel, 1991). Laube ve arkadaşları; akut stresin havayollarında (bronş, bronşiol) otonom sinir sistemi üzerinden, kronik stresin ise immün sistem üzerinden etki ettiğini ileri sürmüşlerdir (Laube, 2003). Kronik stresin büyük ölçüde sorumlu tutulduğu 7 kardinal hastalık tanımlanmıştır;

- Bronşial Astma
- Nörodermatitis (Döküntülü bir cilt hastalığı)
- Romatoid Artrit (Eklem Hastalığı)
- Hipertansiyon
- Ülseratif Kolitis (Barsak Hastalığı)
- Ülser (Mide Hastalığı)
- Treotoksikoz (Troit Hastalığı)

2.4. Sedatif Bitkiler

Bütün dünyada bitkilerle tedavi önemi gittikçe artan popüler bir bilim dalıdır. Geçmişte olduğu gibi günümüzde de çağdaş tedavinin yanında, insanlar doğaya dönüp şifalı bitkileri değişik rahatsızlıkların giderilmesinde geleneksel halk ilacı olarak kullanmayı yaygın bir şekilde sürdürmektedir (Miller, 1987). Strese bağlı yavaş bir şekilde ilerleyen hastalıklar ve depresyon özellikle hızlı koşuşturmalı bir yaşam ortamına sahip kentsel alanlarda son 30-40 yıldır yüksek bir oranda artış göstermektedir (Andrews ve ark., 2000). Günümüzde bu hastalıkların her ne kadar tedavisi olsa da bu tedaviler yetersiz kalmaktadır.

Stres tedavisinde çoğunlukla anti depresif ya da uyutucu-teskin edici ajanlar kullanılmaktadır. Tedavide kullanılan psikofarmakolojik ajanlar çeşitli

dezavantajlara ve hastalıklara neden olmaktadır. Akut stresli durumlarda psiko aktif ilaçların yüksek dozda kullanıldığı ya da kötü bir şekilde kullanıldığı ve bunu kullanan kişilerin kendinden geçtiği için savunmasız bir hal aldığını gösteren olaylarda belirgin bir artış olduğu gözlenmektedir. Bundan dolayı bu ilaçların aşırı stres durumlarında normal dozda kullanılması gerekirken bu ilaçları kullanan kişiler az stresli durumlarda dahi bu ilaçları kısa sürede iyi bir duruma gelmek için yüksek dozda kullanmaktadır. Bunun sonucunda da çeşitli psikolojik ve fizyolojik anormal durumlar ortaya çıkmaktadır (Robert ve Fawzy, 1989).

Stres altındaki hastalarını stresin neden olduğu hastalık risklerine karşı korumak amacıyla; güvenilir doğal ürünlerin kullanılması ideal bir tercih olarak algılanmaktadır. Kullanılan doğal kaynaklar arasında tıbbi bitkilerin strese bağlı sağlık sorunların tedavisinde kullanışlı olabileceği kanıtlanmıştır (Zahoor ve ark., 2003). Youdim ve Joseph (2001) yaşa bağlı meydana gelen nörolojik disfonksiyonlarda diyet ile alınan bileşikler ve fitokimyasalların tedavici özelliği olduğunu vurgulamışlardır.

Modern çağ, modern yaşam alanları ve teknolojiye görülen baş döndürücü gelişmeler yaşantımıza hiç kuşkusuz bir takım kolaylıklar kazandırmıştır. Ancak huzursuzluk, stres, uyku düzensizliği, bedensel ve zihinsel yorgunluk gibi rahatsızlıkları hayatın bir parçası haline getirmiştir. Bu tür rahatsızlıkların giderilmesi için sentetik kökenli ilaçların kullanılmasına ağırlık verilmiş ve bu ilaçların bağımlılık yapması, kişileri intihara sürüklemesi vb. olumsuz etkilerinin olduğu saptanmıştır. Bu da doğal kökenli sedatif (yatıştırıcı) etkili tıbbi bitkilere yönelimi hızlandırmıştır. Son zamanlarda *Valeriana officinalis* (kediotu), *Hypericum perforatum* (sarı kantaron), *Melissa officinalis* (oğulotu), *Passiflora incarnata* (mavi çarkıfelek), gibi drogların, bu amaçla sıkça kullanıldığı görülmektedir.

2.4.1. *Hypericum perforatum* L.

Kantaronun (*Hypericum perforatum* L., Eng. St. John's Wort) etkinliği hakkında birçok çalışma mevcuttur. Kantaron Avrupa'da pek çok patoloj tarafından harici ve dahili olarak kullanılan geleneksel bir tıbbi bitkidir. Son yirmi yılda, bazı

kantaron ekstraktlarının hafif ve orta şiddetteki depresyonun tedavisindeki etkinliği ispat edilmiş ve bu yüzden kantaron ekstraktları antidepresan olarak hem Avrupa'da hem de A.B.D. de kullanılmaktadır. Son yıllarda, kantaronun aktif bileşeni olan hiperisinin etkisini ortaya koyan çeşitli çalışmalar nedeniyle, potansiyel antikanserojen ajan olarak hiperisine ilgi artmıştır.

Türkiye'de yöresel olarak Binbirdelik otu, Kan otu, Kılıç otu, Mayasıl otu, Yara otu, Kuzu kıran ve İngiltere'de St. John's wort adıyla bilinen *Hypericum perforatum* L., Hypericaceae familyasına dahil ve Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Amerika Birleşik Devletlerinde yetişen çok yıllık bir ottur. Geleneksel tıpta antidepresan tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Merck Index, 2003). Çeşitli Avrupa ülkelerinde fitoterapi sahasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. *Hypericum perforatum* veya St. John bitkisi, 30-90 cm yüksekliğinde altın sarısı çiçeklere sahip çok yıllık bir bitkidir. Bugün hypericum ekstraktları hafif ve orta şiddetteki depresyon tedavisinde kullanılmaktadır.

Günlük doz 1-2 mg hiperisin içeren 500 mg ekstrattır. Ağız yoluyla verilen bu dozdaki hiperisin, deri fototoksitesine yol açmaz. Çeşitli klinik çalışmalar göstermiştir ki, kantaron bilinen sentetik antidepresanlar kadar etkilidir. Hafif ve orta şiddetteki depresyon tedavisinde kantaron ekstraktlarının kullanımı üzerinde çeşitli yayınlar yapılmıştır (Linde ve ark, 1996; Bombardelli ve Morgzonna, 1995). Kantaronun antidepresan etkisine içerdiği flavonoidlerin de önemli katkısının olduğu rapor edilmiştir (Butterweck ve ark, 2000). *H. perforatum*; klorojenik asit, birçok flavonoidler, naftodiantronlar ve floroqlukinoller gibi biyolojik aktiviteye sahip birçok bileşikler içermektedir (Bilia ve ark, 2002)

Kantaron ekstraktlarının antidepresan ve antiviral aktivitelerinin (Tang ve ark., 1990; Hudson ve ark., 2003) görülmesinden sonra, hiperisin ve pseudohiperisinin mümkün olduğu kadar saf halde elde edilmesi için bu farmasötik potansiyelin araştırılması yapıldı. Stojanovic ve ark., *Hypericum* türlerinin n-alkanlar ve yağ asitlerini araştırmışlardır. n-alkanlar petrol eteriyle ekstrakte edilmiş, silikajel kolonda temizlenmiş ve ince tabaka kromatografisiyle teşhis edilmişlerdir (Stojanovic ve ark., 1998). En yüksek (%68.8-88.6) oranda bulunan n-alkandır. Yağ

asitleri arasında sırasıyla en yüksek oranda palmitik asit, oleik asit, lignoserik asit (24:0) ve erusik asit (22:1, cis-13) bulunmaktadır. Kantaron herbal drugların bileşenleri ve yüzde oranları Tablo 2.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. *H. perforatum* ekstresinin bileşenleri

Naphtodianthrone türevleri	Hiperisin, Psödohiperisin Protohiperisin, Protopösodohiperisin
Flavonoller	Hiperosid Rutin Quersitin İzoquercitrin quersitrin
Biflavonlar	Biapigenin Amentoflavon
Floroglucinol türevleri	Hyperforin, adhiperforin ve bazı türevleri
Ksantonlar	
Fenolik asitler	Kafeik asit, Klorogenik Asit, Ferulik Asit, Hiperfolin, P- Kumarik Asit, P-Hidroksibenzoik Asit, Vanillik asit
Uçucu yağ	Yüksek n-alkanlar
Steroller	β -sitosterol
Vitaminler	C vitamini A vitamini

2.4.2. *Melissa officinalis* L.

Lamiacea familyasından olan oğulotu (*Melissa officinalis* L.) önemli tıbbi bitki türlerinden birisidir. *Melissa officinalis*’in yaprak, tüy ve kaliksin dış şekillerine göre yurdumuzda üç alttürü bulunmaktadır. Yaygın olarak kullanılan limon kokulu *M. officinalis* subsp. *officinalis*’dir. Günümüzde dünyanın birçok ülkesinde çeşitli sanayi dallarında (tıp, parfümeri, kozmetik ve gıda vb) kullanılmaktadır.

Oğulotunda % 0.01 ile 0.25 arasında uçucu yağ bulunur. Bu uçucu yağın ana bileşenleri %39 citronellal, %33 citral (citronellol, linalol) ve geraniol’dur. Geleneksel olarak yaygın bir şekilde sakinleştirici, spazm giderici ve antibakteriyel olarak kullanılmaktadır. Birçok klinik araştırma sonuçları, oğulotu uçucu yağının

Alzheimer hastalığının tedavisinde, serbest radikallerinin olumsuz etkilerine karşı antioksidan ve tümör oluşumunu engelleyen ajan olarak kullanılabilceğini, ayrıca bağışıklık sistemi ve stres üzerine de olumlu etkilerinin olduğunu göstermiştir.(Cohen ve ark., 1994). Antimikrobiyal etkisi sayesinde, gıda sanayinde gıdaların bozulmasına neden olan mayaların gelişimini önleyici etkisi bulunmuştur. Diğer güncel kullanım alanı ise uçucu yağındaki hidrosol nedeniyle parfümeri ve kozmetik sanayidir.

Melisa otunun kimyasal bileşiminde flavonoidler (luteolin-7-glukozid, ramnazin), polifenolikler (kafeik asit, protokafeküik asit, rosmarinik asit), taninler, terpenler (sital, sitronellal, linalol, sitronellol, geraniol, nerol), triterpenik asitler (pomolik asit, ursolik asit) ve uçucu yağlar bulunmaktadır.

Araştırma materyali olarak seçilen *Melissa officinalis L. subsp. officinalis* bitkilerinin taze ve kurutulmuş yaprakları (Folium Melissa) infüzyon halinde kullanıldığında yatıştırıcı, midevi, gaz söktürücü, ateş düşürücü, terletici ve antiseptik etkilere sahiptir. Bunun yanında baş ağrılarının, uykusuzluğun, menopoz ile ilgili problemlerin giderilmesinde, depresyonda, soğuk algınlığında da kullanılmaktadır. Bitkinin çok değişik bakteri ve virüslere karşı (parainfluenza dahil) antibakteriyal ve antiviral aktivite gösterdiği ortaya çıkmıştır.

Çizelge 2.4. *Melisa officinalis* ekstresinin bileşenleri (Dr. Duke's (2008) Phytochemical and Ethnobotanical Databases)

Etken Madde	Bitki kısmı	Miktar (ppm)
(+)-Sitronellal	Dal veYaprak	975
1,2-Humulın-Epoksıd	Dal veYaprak	0.1
1-Octen-3-Ol	Dal veYaprak	50
10-(Alpha)-Kadinol	Tüm Bitki	8
2z,4e,6e-Allofarnisin	Dal veYaprak	0.1
3-Oktanól	Dal veYaprak	8
3-Oktanón	Dal veYaprak	15
3e,6e-Alpha-Farnesin	Dal veYaprak	40
Alpha-Kadinin	Dal veYaprak	0.1
Alpha-Kadinol	Dal veYaprak	120
Alpha-Kopain	Dal veYaprak	120
Alpha-Kubebin	Dal veYaprak	38
Alpha-Humulın	Dal veYaprak	80
Alpha-Murolin	Dal veYaprak	24
Beta-Babonin	Dal veYaprak	48
Beta-Karyofilin	Dal veYaprak	870
Beta-Karyofilin-Epoksıd-I	Dal veYaprak	8
Beta- Karyofilin-Epoksıd-II	Dal veYaprak	40
Beta-Kubebin	Dal veYaprak	24
Beta-Kurkumin	Dal veYaprak	
Beta-Elemin	Dal veYaprak	32
Beta-Guain	Dal veYaprak	0.1
Bisiklogerma krin	Dal veYaprak	8
Kadına-1,4-Dien	Dal veYaprak	0.1
Kaffeic-Asid	Tüm Bitki	2100
Karyofilin-Oksid	Tüm Bitki	225
Katekin-Tannin	Dal veYaprak	50000
Katekin	Tüm Bitki	50000
Khlorogenik-Asid	Dal veYaprak	19000
Cis-3-Hexen-1-Ol	Dal veYaprak	2
Cis-Osimin	Dal veYaprak	24
Cis-Rose-Oksid	Dal veYaprak	8
Sitral-A	Dal veYaprak	700
Sitral-B	Dal veYaprak	900
Sitronellal	Dal veYaprak	2900
Sitronellik-Asid	Dal veYaprak	24
Sitronellik-Asid-Metil-Ester	Dal veYaprak	145

2.4.3. *Valeriana officinalis* L.

Kediotu (*Valeriana officinalis*); 1.5-2 m boyunda, çiçekleri beyaz veya açık-pembe renkli, çok yıllık ve otsu bir bitkidir. Kediotu; bitkisinin toprak altında kalan yapısı (yani rizomları) 5 cm uzunluğunda ve 2-3 cm çapındadır. Rizomların çevresinde 2-3 mm kalınlığında ve 10 cm uzunluğunda kökler bulunur. Köklerin üzeri sarımsı-esmer bir kabukla kaplıdır. Kediotu köklerinin; baharatlı bir lezzeti olup, kendisine has şiddetli ve özel bir kokusu vardır.

Bitki, bileşiminde bulunan valerianik asitin salgıladığı bulandırıcı koku sayesinde özellikle erkek kedileri kendine çeker Bu kokudan kediler çok hoşlanırlar. Hatta bazen kediler bu bitkinin köklerini çıkartır. Bu nedenle; botanik bahçelerinde (Avustralya ve Yeni Zelanda) yetiştirilen bu bitkiler, bir tel kafes ile korunmaya alınır. Aslında bitkiye "Kediotu" isminin verilmesinin asıl nedeni de budur.

Kediotu'nun sonbahar aylarında topraktan sökülen kökleri, yıkanarak toprak kalıntılarından temizlenir. Kesilmek suretiyle parçalar haline getirilir ve temiz bir zemine serilerek kurutulur. Kediotu'nun kurutulmuş kök ve rizomlarında; actinidin, chatinidin, nişasta, valerien asidi, isovalerien asidi, eterli alkaloidler, uçucu yağ (0.5-2), şeker ve tanen bulunmaktadır. Uçucu yağ (% 0.7-1.7), iridoitler valepotriatlar, valtrat, acevaltrat, dihidrovaltrat, valerosidat), alkolitler (valerin, chatin) bulunur. Uçucuyağında; valerianikasit, valerenon, valerenal, hidroksivaleria nikasit ve bornilasetat bulunur. Valeripotriatlardan dolayı sedatif, valerianikasit'ten dolayı da gevşetici ve rahatlatıcıdır. Bitkinin köklerine özel kokuyu veren madde, uçucu yağ içinde bulunan valerianik asittir.

Taze köklerde valepotriat ismi verilen bir grup etken madde vardır. İçlerinde en önemlisi valtrat olup, Kediotu (*V. officinalis*) köklerinde 0.5-1 oranında bulunmaktadır. Kuzey Anadolu dağların da (Zigana dağlarında) yetişen *V. alliariifolia* köklerinde 2.5, Güney ve Batı Anadolu da yaygın bir şekilde görülen *V. dioscoridis* köklerinde ise 0.3-0.5 oranlarında valtrat olduğu tespit edilmiştir. Uykusuzluk, huzursuzluk, nevrastenî, histerî, sinîrsel tansiyon, adet gecikmeleri,

migren, hipertroidden ileri gelen kalp çarpıntıları, sinirsel bulantı gibi rahatsızlıklarda etkili bir bitkisel drogdur

Çizelge 2.5. *V. officinalis* ekstresinin bileşenleri (Dr. Duke's (2008) Phytochemical and Ethnobotanical Databases)

Etken Madde	Bitki Kısım	Miktar ppm
Alfa-Elaeostearic-Asid	Bitki yağı	446000
Alfa-Terpinol	Yaprak	75400
Alfa-Tokoferol	Çiçek	221
Beta-Caryofilin	Yaprak	13600
Beta-Fellandrin	Yaprak	1400
Borneol-Ascetat	Yaprak	335900
Bornil-İsovalerat	Kök	9780
Kafeik-Asid	Kök	5800
Kalsiyum	Kök	42000
Kapronic-Asid	Kök	204000
Karyofilin	Kök	76000
D-Limonin	Yaprak	55000
Gamma-Linolenik-Asid	Tüm bitki	62000
Geraniol	Kök	120
Homoasevaltrat	Kök	300
Demir	Kök	48
Izovalerianik-Asid	Kök	200000
Linoleik-Asid	Kök	165000
Magnezyum	Kök	3180
Manganez	Kök	5.6
N-Butil-Valerat	Yaprak	24600
Niasin	Kök	52
Oleik-Asid	Tüm bitki	3000
Palmitik-Asid	Kök	83000
Fosfor	Kök	330
Potasyum	Kök	10300
Protein	Kök	86000
Raffinoz	Kök	30000
Riboflavin	Kök	1.2
Sakkaroz	Tüm bitki	50000
Selenyum	Kök	4.4
Sodyum	Kök	230
Thiamin	Kök	1.6
Valerenonik-Asid	Kök	1400
Valtrate	Kök	18000

2.4.4. *Passiflora incarnata* L.

Anayurdu tropikal Amerikadır. Oradan dünyaya yayılmış 400 kadar türü vardır. Ülkemizde bazı yerlerde süs bitkisi olarak kimi türleri yetiştirilmektedir. Bunlardan sadece *Passiflora incarnata*'nın çay, tentür ve natürel ilaçları yapılır.

Çarkıfelek bitkisi harmin, harmol, harman ve passiflora adı verilen alkaloidleri: flavon, glisosit ve sterol adlı diğer maddeleri içerir. Bazı türlerinin meyveleri çiğ olarak yenebildiği gibi, içki ve şerbet yapımında da yararlanır. Kişinin yaşadığı gerginlik ve endişelilik hallerini giderir. Sınırları yatıştırarak, sinirsel ve kronik uykusuzlukları giderir. Parkinson hastalığı ve isteri gibi durumlarda sinirsel nöbetleri gidericidir. Zona hastalığı gibi sinir ağrılarında da yatıştırıcı etkilidir.

Çizelge 2.6. *P. incarnata* ekstresinin bileşenleri (Dr. Duke's (2008) Phytochemical and Ethnobotanical Databases)

Etken Madde	Bitki kısmı	Miktar (ppm)
Alkoloid	Dal	100
Askorbik-Asid	Çiçek	11
Beta-karoten	Çiçek	5.3
Kalsiyum	Çiçek	506
Kalsium	Meyve	140
Beta-Karoten	Çiçek	5.3
Kalsiyum	Çiçek	506
Karbohidrat	Meyve	210000
Krom	Çiçek	0.3
Kobalt	Çiçek	1
Flavonoid	Bitkinin tamamı	15000
Ginosardin	Yaprak	100
Harman	Bitkinin tamamı	120
Harmin	Dal	70
Demir	Meyve	16
Magnezyum	Çiçek	2500
Maltol	Dal	500
Manganez	Çiçek	2.1
Niasin	Çiçek	95
Fosfor	Çiçek	3700
Potasyum	Çiçek	20000
Fosfor	Meyve	3700
Protein	Çiçek	120000
Riboflavin	Çiçek	0.5
Sodyum	Çiçek	50

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deney hayvanlarının yetiştirilmesi

Çalışmalar, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi deney hayvanları ünitesinde yetiştirilip üretilen Wistar albino tipi laboratuvar sıçanları ile yapıldı. Çalışmada ortalama ağırlıkları 250-300 gram olan erkek sıçanlar kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar standart sıçan yemi ile beslendi, su ise serbest olarak verildi. Sıçanlar çalışmaya maruz bırakılmadan önce, 20 gün yeni ortama adapte olmaları sağlandı.

3.1.2. Hayvanların deneye hazırlanması

Her kafese altı sıçan konularak, penceresinde havalandırma tertibatı bulunan, sıcaklığı 22 °C'de sabit tutulmaya çalışılan ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde özel olarak hazırlanmış odada deneysel uygulamaya kadar beslenme tarzları değiştirilmeden tutuldu. Çalışmaya alınacak ve kontrol gurubunu oluşturacak sıçanların hormon dengesi; daha stabil bir yapıya sahip olduğu için, stres modelinde erkek sıçanlar kullanılmıştır. Böylelikle dişi sıçanların östrus döngüsünde görülen steroid seviyesindeki değişimden sakınılmış oldu (Yan, 2000).

3.1.3. Bitkilerin temini ve teşhisi

Hypericum perforatum L. (Kantaron), Haziran-Ağustos aylarında Şanlıurfa Osmanbey kampüs alanından toplanarak toprak üstü kısımları gölgede kurutularak deney zamanına kadar muhafaza edildi. *Melissa officinalis L.* (Oğul otu) ve *Valeriana officinalis L.* (Kedi otu) Şanlıurfa'daki aktarlardan tüm bitki şeklinde alınarak, teşhisi yapıldıktan sonra *Melissa officinalis* yaprakları, *Valeriana officinalis* ise kökleri alınarak ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. *Passiflora incarnata L.* 'Passiflora' ticari adıyla (Sandoz ilaç A.Ş) sıvı ekstresi eczaneden temin edildi.

3.1.4. Çalışma için gerekli malzeme ve kimyasallar

Kullanılan cihaz ve malzemeler

Benmari (GLF 1086)
Bıçaklı homojenizatör (Heidolph, Silent Crusher M)
Buz yapma makinesi (Hoshizaki, FM-120EE)
Derin dondurucu (Sanyo, MDF 592)
Distile su cihazı (Barnstead, easypure UV/UF)
Hassas terazi (Precisa, 262 SMA-FR)
Filtre kağıdı (Watman)
Kaba terazi
Manyetik karıştırıcı (Precisa, Heating stirrer SH-3A)
Otoanalizör (Roche, Cobas Integra 400 plus)
Parçalayıcı robot (Sinbo)
pH metre (Thomas, Cyberscan 2500)
Pipetler (Eppendorf)
Rotary evaporatör (Heidolph, Laborata 4002)
Liyofilize cihazı (Tel star Cryodos)
Santrifüj (Hettich, Mikro 22 R)
Spektroflorometre (Jasco, FP 6300)
Spektrofotometre (Shimadzu, UV-1700)
Ultrasonikatör (Bandelin, UW 2070)
Vorteks (Stuart Scientific)
Mikro plate okuyucu (Molecular devices, Spectramax M5)

Kullanılan kimyasallar

CDNB
GSH
GSSG
Heparin
Hidrojen peroksit
MDA

Metanol
 OPA
 PBS
 SDS
 TBA
 TET

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Çalışmada kullanılacak bitki kısımları toz haline getirildi. Toz haline getirilen bitkilerin ağırlıkları alınarak ayrı cam şişelere konuldu ve üzerlerine Çizelge 3.1’de görüldüğü gibi çeşitli oranlarda etanol ve distile su eklenerek 24 saat 40 °C’de tutulduktan sonra filtre kağıdı (Whatman, grade 1) yardımıyla süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Süzüntü, Rotary evaporatör (Heidolph, Laborata 4002) ve Liyofilize cihazı (Tel Star Cryodos) yardımıyla, kullanılan etanolün tamamı ve suyun bir kısmı uzaklaştırılarak, bir miktar su içerisinde çözülmüş bitki ekstraktları elde edildi.

Çizelge 3.1. Kullanılan bitkilerin ekstraksiyon işlemleri

Bitkinin Latince adı	Bitkinin Türkçe adı	Alınan bitki miktarı(g)	Eklenen etanol (ml)	Eklenen su (ml)	Süzüntü (ml)	Evaporasyon sonrası kalan miktar (ml)	Ekstrakt yoğunluğu (mg/ml)
<i>Hypericum perforatum</i>	Kantaron	50	250	50	200	50	90
<i>Melissa officinalis</i>	Oğul otu	50	250	50	190	45	20
<i>Valeriana officinalis</i>	Kedi otu	100	250	50	150	45	91
<i>Passiflora incarnata</i> *	Mavi çarkıfelek	-	-	-	-	-	-

* *Passiflora incarnata*, önceden belli bir konsantrasyonda hazırlandığı için bu aşamalardan geçirilmedi.

Evaporasyon sonrası kalan bitki özütlerinin özkütleleri hesaplandıktan sonra, %1’lik gum arabic ile süspansiyon edildi.

3.2.2. Deneysel uygulamalar

Yedi günlük deney süresi içinde, tüm grupların günlük yem ve su tüketimleri ile vücut ağırlıklarındaki değişiklikler kaydedildi. Sıçanlar, her birinde 6'şar hayvan olmak üzere 6 eşit gruba ayrıldılar.

1. **Grup:** Kontrol grubu (**K**) (n= 6)
2. **Grup:** Stres grubu (**S**) (n= 6)
3. **Grup:** S+ *Hypericum perforatum* L. (**S/H**). (n= 6)
4. **Grup:** S+ *Melissa officinalis* L. (**S/M**) (n= 6)
5. **Grup:** S+ *Valeriana officinalis* L. (**S/V**). (n=6)
6. **Grup:** S+ *Passiflora incarnata* L. (**S/P**). (n=6)

İmmobilize strese maruz bırakılacak sıçanlara her gün, deneyin başlangıcından bir saat önce gavaj yöntemiyle ekstrakt verildiği için, kontrol ve stres gruplarındaki sıçanlara da, her gün aynı sürede gavaj yöntemiyle su verildi. Böylece, immobilize stres ile diğer gruplar arasında ekstrakt verilmesi sonucu oluşabilecek ek stres faktörünün ortadan kaldırılmış olabileceği düşünüldü.

3.2.2.1. İmmobilize (hareketsizlik) stres metodu

İmmobilize stres; hareket kısıtlaması sonucunda saldırganlık benzeri davranış bozukluklarına sebebiyet verdiği için hem fizyolojik hem de psikolojik strese neden olmaktadır. İmmobilize stres yönteminin hem bu tip özelliklere sahip olması hem de kolay ve kullanışlı olması nedeniyle araştırmacılar tarafından kullanılan en iyi stres modeli olarak kabul edilmektedir (Pare ve ark., 1986; Singh ve ark., 1993; Ramanova ve ark., 1994; Cordellini ve ark., 2006). İmmobilize stres metodu Torres ve ark. (2004) yöntemlerine göre uygulandı. İmmobilize stres metodunda kullanılan "plastik rodent sabitleyici" modifiye edilerek hazırlanan akrilik plastik tüp (4.5 cm çapında, 12 cm uzunluğunda) kullanılarak tasarlanan stres düzeneği içinde hayvanların tek olarak tutulmasıyla immobilize stres oluşturuldu. İmmobilize stres; deney süresi boyunca her gün 9.00 ile 11.00 saatleri arasında 2 saat olarak uygulandı. Çalışmada kullanılan sıçanlar nokturnal (gece aktif hayvanlar) canlı oldukları için

plazma kortizol düzeyi sabah düşük seviyededir. Stres sırasında da hormon artışı gözlemlendiğinden bu saatler tercih edildi (Olivenza ve ark., 2000).

Literatürde geçen önceki çalışmalara bakıldığında her gün 1 saat olmak üzere 7 gün immobilize stres uygulaması subakut her gün 6 saat olmak üzere 21 gün immobilize stres uygulaması kronik sınıfta değerlendirilir (Tariq ve ark., 2002; Torres ve ark., 2004). Bu çalışmalar incelendiğinde günlük hayatta insanların karşılaştığı strese en yakın ve en zarar verici olan stresin belli bir süre ardı ardına tekrarlanan stresin olduğu ve stresin ana belirteçlerinden olan kortizol seviyesinin maksimum seviyeye stresin 2. saatinde ulaştığı (Yan ve ark., 2000) tespit edildiğinden, stres uygulama süresi; Nadeem ve ark. (2005) çalışmalarını dikkate alarak günlük 2 saat olmak üzere 7 gün boyunca uygulandı.

Deney sırasında oluşabilecek ek stres faktörlerini minimum seviyede tutmak amacıyla; deney ortamının ısısı, gürültü oranı deney süresince sabit tutulmaya çalışıldı. Stres esnasındayken sıçanlara su ve yem verilmedi, stres süresi bittikten sonra kendi kafeslerine alınarak yem ve suları verilmeye başlandı.

1.Grup; Kontrol grubu: 6 adet erkek sıçandan oluşan bu grup deneyin başlangıcında diğer gruplarla aynı ortamda tutuldular. Gruplar arasında oluşabilecek ek stres faktörlerini ortadan kaldırmak amacıyla bu guruba 1 ml su gavaj yöntemiyle verildi.

2.Grup; Stres grubu: Bu gruptaki sıçanlara 1 ml su gavaj yöntemiyle verildikten 1 saat sonra deney düzeneğine alınarak, 7 gün boyunca 2 saatlik immobilize strese maruz bırakıldı.

3.Grup; S+*Hypericum perforatum* L. grubu: Bu gruptaki sıçanlara *H. perforatum* ekstraktı dozağı 100 mg/kg olacak şekilde %1' ilk gum arabic ile süspansiyon edilip 1 ml olarak gavaj yöntemiyle verildikten 1 saat sonra, deney düzeneğine alınarak, 7 gün boyunca 2 saatlik immobilize strese maruz bırakıldı.

4.Grup; S+ *Melissa officinalis L. grubu:* Bu gruptaki sıçanlara *M. officinalis* ekstraktı dozajı 100 mg/kg olacak şekilde %1'lik gum arabic ile süspanse edilip 1 ml olarak gavaj yöntemiyle verildikten 1 saat sonra, deney düzeneğine alınarak 2 saatlik immobilize strese maruz bırakıldı.

5.Grup; S+ *Valeriana officinalis L. grubu:* Bu gruptaki sıçanlara *V. officinalis* ekstraktı dozajı 100 mg/kg olacak şekilde %1'lik gum arabic ile süspanse edilip 1 ml olarak gavaj yöntemiyle verildikten 1 saat sonra, deney düzeneğine alınarak, 7 gün boyunca 2 saatlik immobilize strese maruz bırakıldı.

6. Grup; S+ *Passiflora incarnata L. grubu:* Bu gruptaki sıçanlara hazır *P. incarnata* ekstraktı dozajı 100 mg/kg olacak şekilde %1'lik gum arabic ile süspanse edilip 1 ml olarak gavaj yöntemiyle verildikten 1 saat sonra, deney düzeneğine alınarak, 7 gün boyunca 2 saatlik immobilize strese maruz bırakıldı.

3.2.3. Dokuların alınması ve hazırlanması

DeneySEL sürecinin son gününde stres uygulaması biter bitmez sıçanlar deney tüpü içerisindeyken eter anestezisine tabi tutularak dokuları alındı. Kan dokusu periton zarı kesildikten sonra enjektör yardımıyla kalbin sol ventrikülüne girilerek yaklaşık 10 cc kan alındı. Çalışmada kullanılacak analizin türüne uygun tüplere konuldu. Alınan kanların bir kısmı plazma elde etmek için hemen bir EDTA'lı tüpe boşaltılarak hafifçe altüst edildi. Kanların diğer bir kısmı da hormon ve biyokimyasal analizler için gerekli olan serumu elde etmek için silikon jelli tüpe alındı. Alınan kanlar 15 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek plazma ve serum kısımları yeni bir tüpe transfer edildi. Alınan plazma ve serumlar çalışılmak üzere -80 °C'de tutuldu. Kalan eritrosit süspanسیونunun üzerine hematokrit 35 olacak şekilde %0,9 NaCl eklenerek tekrar 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant pipet yardımıyla alınarak atıldı. Yıkama işlemi 3 defa tekrarlandıktan sonra, elde edilen eritrosit paketlerinden çalışmada kullanılmak üzere yeterli miktar alınarak -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Hemogram için kanlar EDTA'lı tüplere katılarak aynı gün analiz yapılması için 3 saat +4 °C'de muhafaza edildi.

Alınan dokular fizyolojik serumda yıkandı. Dokuların bir kısmı histolojik kesitler için hazırlanan formaldehit (100 ml % Formaldehit+ 6.5 g Na₂HPO₄ + 900 ml H₂O) içerisine alınarak oda sıcaklığında diğer kısmı ise diğer analizlerde kullanılmak üzere yeterli miktarda alınarak -80 °C 'de muhafaza edilmiştir.

3.2.4. Serum, mide ve beyin dokusunda MDA analizi

Ağırlıkları alınan beyin ve mide dokularının üzerine 1/15 olacak şekilde homojenat buffer eklenerek bıçaklı homojenizatör yardımıyla 20.000 rpm hızda 20 saniye buzlu bir tüp içerisinde homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantları yeni tüplere aktarıldı. Gerekli analizler yapılmaya kadar -80 °C'de bekletildi.

3.2.4.1. Stok standardın hazırlanması

Birinci çalışma solüsyonu (W₁): 4.05 M konsantrasyonlu orijinal stok malondialdehit (MDA, Sigma) solüsyonundan 2,47 µl alınarak 997,53 µl bidistile saf suda direkt ışık temasından korunarak seyreltildi.

İkinci çalışma solüsyonu (W₂): Birinci çalışma solüsyonundan 10 µl alınıp 990 µl bidistile saf su ilave edilerek vortekslendi.

Üçüncü çalışma solüsyonu (W₃): İkinci çalışma solüsyonundan 10 µl alınarak üzerine 990 µl bidistile saf su eklendi.

Çizelge 3.2. Stok solüsyondan çalışma standart solüsyonunun hazırlanması

Standartlar	MDA (µl)	n(H ₂ O) (µl)	Konsantrasyon (nmol)
W ₁	2.47	997.53	10.000
W ₂	10	990	100
W ₃	10	990	1

Çizelge 3.3. MDA standart serisinin hazırlanması

Standart No	n(H ₂ O) (µl)	W ₃ (µl)	Konsantrasyon (nmol)
0	100	-	0.0
1	90	10	0.1
2	80	20	0.2
3	60	40	0.4
4	20	80	0.8
5	-	100	1.0

Çalışma (W₃) standardı (Çizelge 3.2) hazırlandıktan sonra standart serisi için tüpler hazırlanarak daha önce hazırlanıp dondurulmuş doku süpernatantları çıkartılarak buz kabında erimeleri sağlandı. Bundan sonra standart serisindeki (Çizelge 3.3) her bir tüpe ve örnek tüplerine sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı:

1. Örnek ve standartların her birinden 100'er µl alınarak üzerlerine sırasıyla aşağıdaki solüsyonlar ilave edildikten sonra 20 saniye vorteksenerek +97 °C'deki benmaride 45 dakika inkübe edildi.

- Örnek ve standartların her birinden.....100 µl
- SDS (%8.1).....200 µl
- TBA (8 mg TBA 1 ml metanolde çözüldü).....200 µl
- Asetik asit.....200 µl
- nH₂O.....300 µl
- Toplam.....1000 µl

2. Örnekler soğutulduktan sonra 3.000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi.

3. Santrifüjden sonra süpernatantan yaklaşık 300 µl alınıp mikrolpaka okuyucu (Molecular devices, Spectramax M5), eksitasyon 525 nm ve emisyon 560 nm'de absorbans değerleri okundu.

4. Konsantrasyonları bilinen standartlar sırasıyla okunarak, madde miktarı (x) ve absorbans (y) olacak şekilde lineer bir standart grafiği oluşturuldu. Excel programı kullanılarak oluşan standart eğrisi grafiğinin denklemini bulundu. Buradan madde miktarını temsil eden x yalnız bırakılarak okunan absorbanslar tek tek denkleme yerine konularak gerçek madde miktarı nmol cinsinden tespit edildi.

3.2.5. Serum, mide ve beyin dokusunda GSH analizi

Stok solusyonu: 3.073 mg indirgenmiş GSH (Sigma) 10 ml saf suda çözülerek 1 mM'lık stok solusyonu hazırlanmış oldu.

Çalışma solusyonu: Stok solusyondan 100 µl alındı. Üzerine 900 µl saf su ilave edilip (direkt ışıktan sakınarak) iyice vortekslenerek 100 µM konsantrasyonlu çalışma solusyonu hazırlandı.

Çizelge 3.4. GSH analizi için çalışma solusyonu hazırlama

Standart	1 mM stok GSH(µl)	nH ₂ O (µl)	Konsantrasyon (µM)
W ₁	100	900	100 µM (100 nmol)

Çizelge 3.5. GSH standart serisinin hazırlanması

Standart No	nH ₂ O (µl)	W ₁ (µl)	Konsantrasyon(nmol)	Diğer solusyolar
0	100	0	0	900
1	99	1	0.1	900
2	98	2	0.2	900
3	96	4	0.4	900
4	92	8	0.8	900
5	84	16	1.6	900
6	68	32	3.2	900

Standartlar; standart no 6'ya kadar artan konsantrasyonlarda hazırlandıktan sonra analiz edilecek numuneler -70 °C'den çıkarılıp erimeleri sağlandıktan sonra buz kabına alındılar. Homojenize edilen doku örneklerinin üzerine toplam hacmin 1/10'u olacak şekilde %60'lık perklorik asit ilave edilerek 6000 rpm/10 dakika santrifüj edildikten sonra GSH analizi için süpernatantlar alındı. Serum örnekleri ise herhangi bir ön işlem uygulanmadan analize alındılar. Sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı:

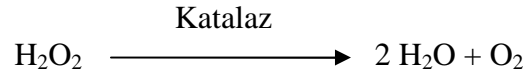
Örnek veya standart100 µl
 GSH buffer890 µl
 OPA10 µl

Eklendikten sonra tüm örnekler 2-3 saniye vortekslendikten sonra oda ısısında 5-6 dakika, direkt ışık etkisinden korunarak bekletildikten sonra mikrolaka okuyucu (Molecular devices, Spectramax M5) dalga boyu eksitasyon 345 nm ve emisyon 425 nm’de okunarak absorbans değerleri kaydedildi. Okunan standartlardan elde edilen standart eğri formülünde değerler yerine konularak numunemizdeki madde miktarları hesaplanmıştır.

3.2.6. CAT ve GST enzim aktivitelerinin ölçümü

3.2.6.1. Dokuların katalaz (CAT) enzim aktivitesinin ölçülmesi

Daha önce hazırlanmış olan doku süpernatantları taze hazırlanan çalışma reaktifi ile birlikte 1/1 oranında spektrofotometre semi mikro kuvars küvete konularak 240 nm’de H₂O₂’nin tüketilme esasına dayanan metoda göre katalaz enzim aktivitesi ölçülmüştür. Katalaz, reaksiyon aşağıda görüldüğü gibi H₂O₂’in suya ve moleküler oksijene ayrılmasını katalizler.



Çizelge 3.6. CAT enzimi aktivitesini ölçmek için çalışma reaktifi hazırlanması

Eklenen madde	İçerikteki miktarı
H ₂ O ₂ (40 mM)	34 µl
KH ₂ PO ₄ (50 mM)	0,17 g
n(H ₂ O) ile son hacim tamamlandı	25 ml
pH	7.0

Çalışma reaktifi taze olarak çizelge 3.6’de gösterildiği gibi hazırlandı. Spektrofotometre, dalga boyu 240 nm’ye ayarlanarak distile su ile sıfırlandı. Sonra küvete 500 µl çalışma reaktifi konularak üzerine 500 µl süpernatant eklendi ve küvet alt üst edilerek çözeltilerin karışması sağlanarak zaman kaybedilmeden okuma yuvasına konuldu. Her 15 saniyede bir azalan absorbans kaydedilerek üç dakika sonunda okuma bitirildi. Absorbans değerleri kaydedilerek aktivite, EU/ml eritrosit cinsinden hesaplandı.

3.2.6.2. Dokuların glutatyon S transferaz (GST) enzim aktivitesinin ölçümü

340 nm dalga boyunda spektrofotometrede 15 saniye aralıklarla 3 dakika boyunca değişen absorbansların kaydedilmesi ve hesaplanmasıyla bulundu.

-Ölçümün yapılması:

Çizelge 3.7. GST ölçüm küvetine eklenen maddeler

Eklenen madde	Miktarı
PBS (0,1 M)	1080 µl
CDNB (30 mM)	40 µl
GSH (30 mM)	40 µl
Numune	40 µl

Çizelge 3.7'deki maddeler aynı miktar ve sıralamaya göre zaman geçirmeden ölçüm küvetine konuldular. Numune eklendikten sonra hızlı bir şekilde altüst edilerek dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometreye bırakıldı. 3 dakika boyunca kaydedilen değerler ile oluşturulan grafiğin lineer olan kısmı kullanılarak GST enzim aktivitesi (EU) hesaplandı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA**4.1. Araştırma Bulguları**

Kontrol grubu, stres uygulanmış grup ve stres uygulanarak gınaşırı sabah 8-9.00 saatlerinde 7 gün boyunca çeşitli bitki ekstresi uygulanan grupların beyin, mide ve kan dokusunda bulunan indirgenmiş glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) miktarları mikroplate okuyucu (Molecular devices, Spectramax M5) yardımıyla ölçülüp kaydedildi. Ayrıca eritrosit, beyin ve mide katalaz (CAT) ve glutatyon S transferaz (GST) aktiviteleri spektrofotometre (Shimadzu, UV-1700) yardımıyla, serum lipit parametreleri, biyokimyasal parametreleri otoanalizör (Roche, Cobas Integra 400 plus) yardımıyla, serum hormon testleri otoanalizör (Immulite 2000) , hematolojik parametreler ise otomatik hemogram (Abacus juniour) cihazıyla ölçüldü. Çalışma süresi boyunca gruplarda gözlemlenebilen değişiklikler (hareketlilik, yemlere ilgi, su tüketimi vb.), her gün 08.00- 11.00 saatleri arasında yem, su tüketimleri ve ağırlıkları alınarak tablolar halinde kaydedildi.

4.1.1. Klinik sonuçlar

Kontrol grubu strese tabi tutulmadığından yem ve su tüketiminde anormal durumlar gözlenmedi. Stres uygulama döneminde (9-11 saatleri arasında) genel bir uyuşukluk durumu gözlemlendi. Ağırlık ölçümü sırasında bu uyuşuk davranışlarda azalma meydana gelirken işlemden 30 dk sonra aynı davranışlar tekrar gözlemlenmeye başlandı. Bu gruba; gruplar arasındaki ek stres faktörlerini önlemek amacıyla gavaj yöntemiyle 1 ml su verildi. Su verme işleminde direnme durumu söz konusuydu fakat sonraki işlemlerde alışma durumu gerçekleştiğinden direnme dönemi sona erdi.

Stres grubu ilk ekstrakt verme işleminde diğer gruplara benzer davranışlar gösterdi, fakat diğer gruplar sonraki ekstrakt verme işlemlerinde direnme hareketleri göstermezken, stres grubu direnme hareketlerini çalışmanın sonuna kadar devam ettirdi. Deney düzeneğindeyken diğer gruplar ilk 5. ile 20. dakikalar arasında uyum sağlayıp agresif hareketlerde bulunmazken, stres gurubunda agresif davranışlar stresin 50. ile 60. dakikalarına kadar devam etti. Stres gurubunda adaptasyon süresine kadar düzenekten çıkmaya çalışma, kemirme, düzeneğin içerisinde dönme, aşırı soluk alıp verme gibi agresif davranışlar gözlenirken diğer gruplarda (S/H, S/M, S/P, S/V) bahsedilen davranışların bir kısmı kısmi olarak ilk 10 dk içerisinde gerçekleşti.

Stres grubunda diyare, idrar miktarında artış, aşırı terleme gibi durumlar gözlemlendi. Sıçanlar stres düzeneğinden kafeslerine konulduğunda ilk dakikalarda kafes ortamını tanımaya yönelik koşuşturma ve ortamı araştırmaya benzer davranışlarda buldukları gözlemlendi. Stres düzeneğinde iki saatlik açlık ve susuzluk durumuna rağmen sıçanlar kafeslerine konulduğunda yem ve su tüketme davranışı göstermediler. Kafese alışma döneminden sonra ekstremitelerin (kol, bacak) hareket ettirilmesi ve bunun sonunda yem ve su tüketmeyerek dinlenme fazına geçtikleri gözlemlendi.

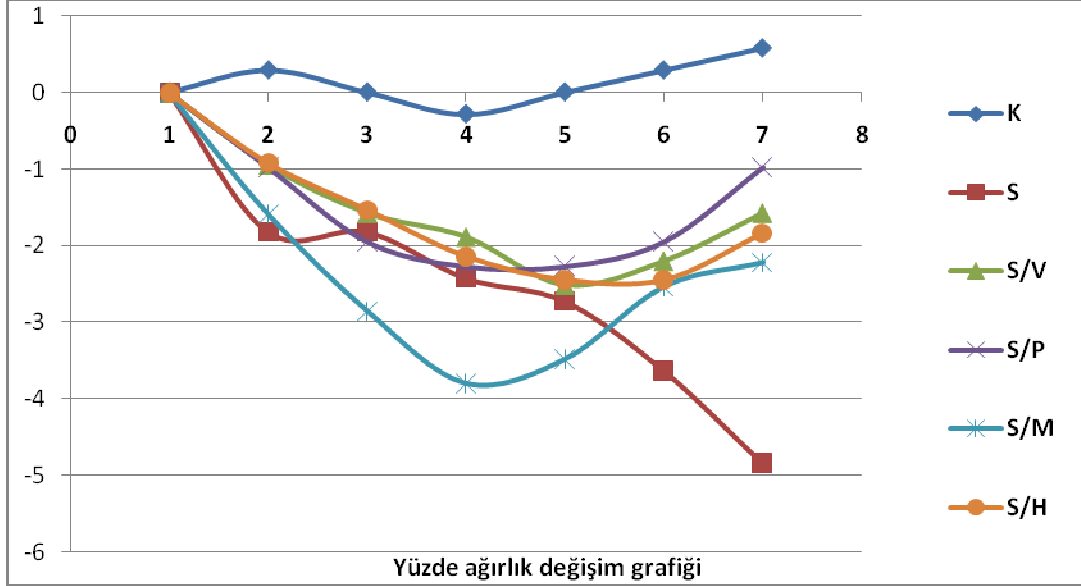
Gruplarda morfolojik olarak gözlenen değişimler; stres gurubunda gözlerde aşırı kızarma, gözyaşı miktarında artış ve göz bebeklerinde aşırı büyüme gözlemlendi. Diğer gruplarda benzer değişimler S/H ve S/V gruplarının bazı bireylerinde gözlenirken diğer bitki gruplarında bu durum stresin ilk 5-10 dk'ları arasında meydana geldikten sonra gözler kapanık bir şekilde uyku fazına benzer rahat davranışlar gözlemlendi. Ayrıca stres grubunda; deride gözle fark edilir derecede kasılma hareketleri, arka ekstremiteler ve abdomen kısmında özellikle sternum çevresinde tüy dökülmesi gibi morfolojik değişimler gözlenirken, yalnızca S/H grubunun bir bireyinde tüy dökülmesi gözlemlendi. Stres gurubunda kesim sırasında kesimi dahi zorlaştıracak düzeyde peritonda sertleşme, adrenal bezlerde büyüme ve diğer gruplara göre adrenal bezlerde aşırı bir damarlanma durumu ve büyüme olduğu gözlemlendi. Stres ve bitki verilen grupların iç organlarının etrafındaki adipoz (yağ

dokusu) dokuda erime ve kontrol gurubuna göre adipöz dokuda azalma tespit edildi. Ayrıca stres grubunun, kalplerinin kasılı bir durumda olup diğer gruplara göre sert bir yapıya sahip olduğu, dalaklarının kontrol ve diğer gruplara göre küçüldüğü gözlemlendi.

4.1.2. Ağırlık değişim takibi

Çizelge 4.1. Deney süresi boyunca gruplardaki ağırlık değişimi (gram)

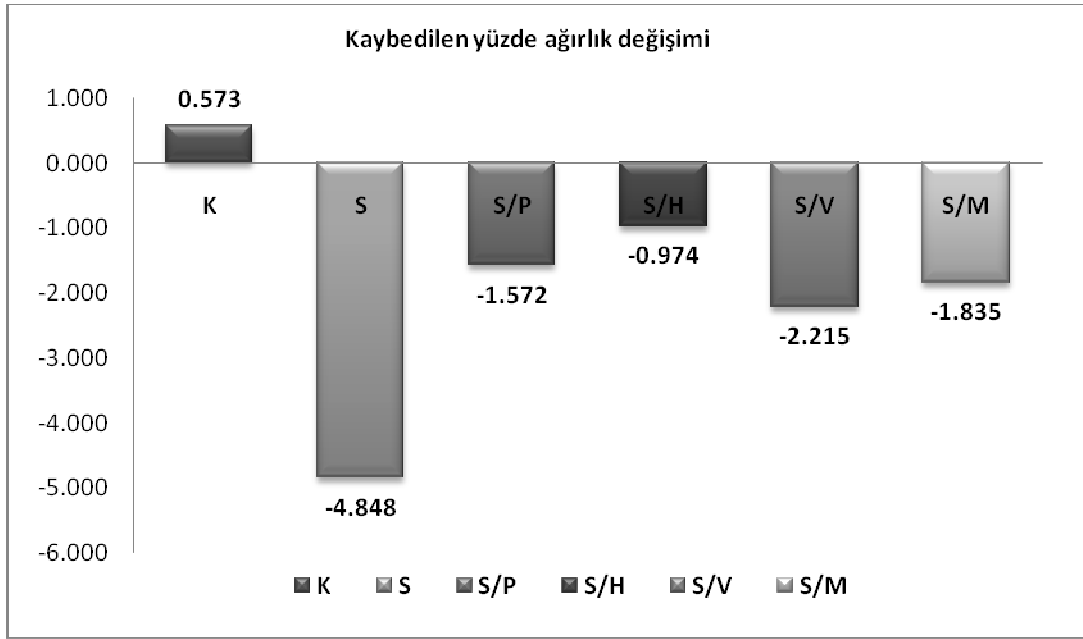
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
K	349	350	349	348	349	350	351
S	330	324	324	322	321	318	314
S/V	316	311	307	304	305	308	309
S/P	318	315	313	312	310	311	313
S/M	327	324	322	320	319	319	321
S/H	308	305	302	301	301	302	305



Şekil 4.1. Deney süresi boyunca gruplardaki yüzde ağırlık değişim grafiği

Çizelge 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen net ağırlık ve yüzdesi

Gruplar	İlk ağırlık (g)	Son ağırlık (g)	Fark (g)	% gram değişimi
K	349	351	2	0,57
S	330	314	-16	-4,84
S/P	318	313	-5	-1,57
S/H	308	305	-3	-0,97
S/V	316	309	-7	-2,21
S/M	327	321	-6	-1,83



Şekil 4.2. Deney sonuna kadar kaybedilen ağırlık yüzdesi

Çalışma öncesinde tüm hayvanların ağırlıkları alınarak, ağırlıklarına göre gruplar oluşturuldu, bu şekilde aynı gruptaki hayvanlar arasındaki ağırlık farklılığı minimuma indirildi. Çalışma boyunca her gün stres uygulandıktan sonra hayvanlar stres düzeneğindeyken ağırlıkları alındı, kontrol grubuna ise stres süresi boyunca yem verilmeyerek ağırlık değişiminde meydana gelebilecek ek değişimler engellendi.

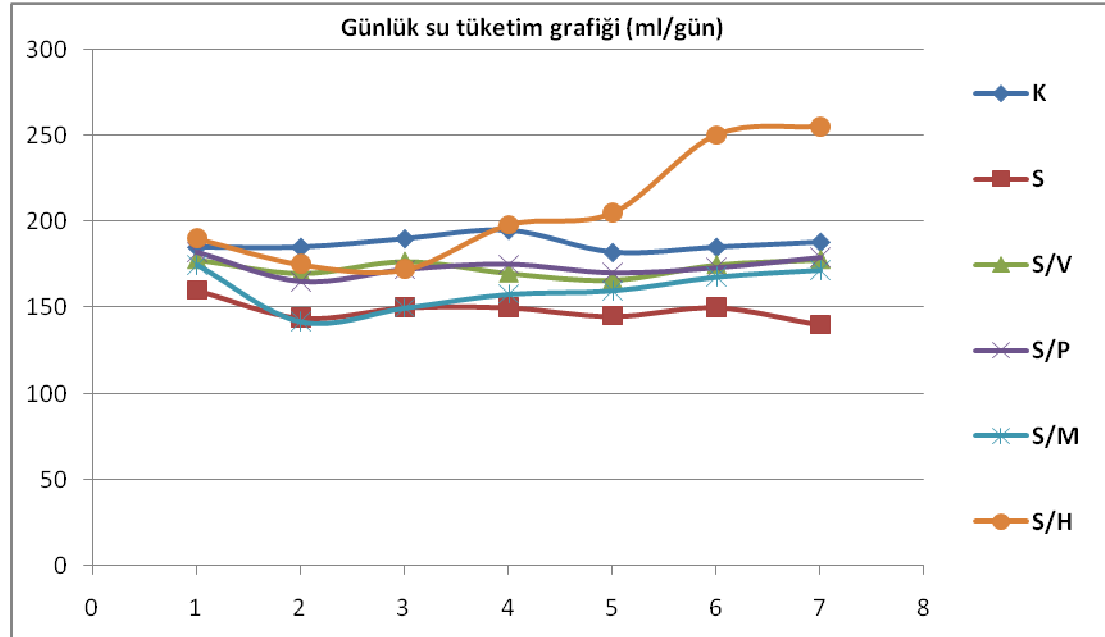
Hayvanlarda deneyin sonuna doğru kontrol grubu hariç diğer gruplarda genel bir ağırlık azalması gözlemlendi (Çizelge 4.2). Bu ağırlık kayıpları her grup için % cinsinden hesaplandığında (Şekil 4.2), kontrol grubunda %0,57 oranında bir artış gözlenirken, S grubunda %4,84 oranında en fazla azalış gözlenirken, bitki ekstresi verilen gruplardan S/P grubunda %1,57 oranında, S/H grubunda %0,97 oranında,

S/V grubunda %2,21 oranında ve S/M grubunda %1,83 oranında kontrol ve stres grupları arasında seyreden ağırlık kaybı gözlemlendi.

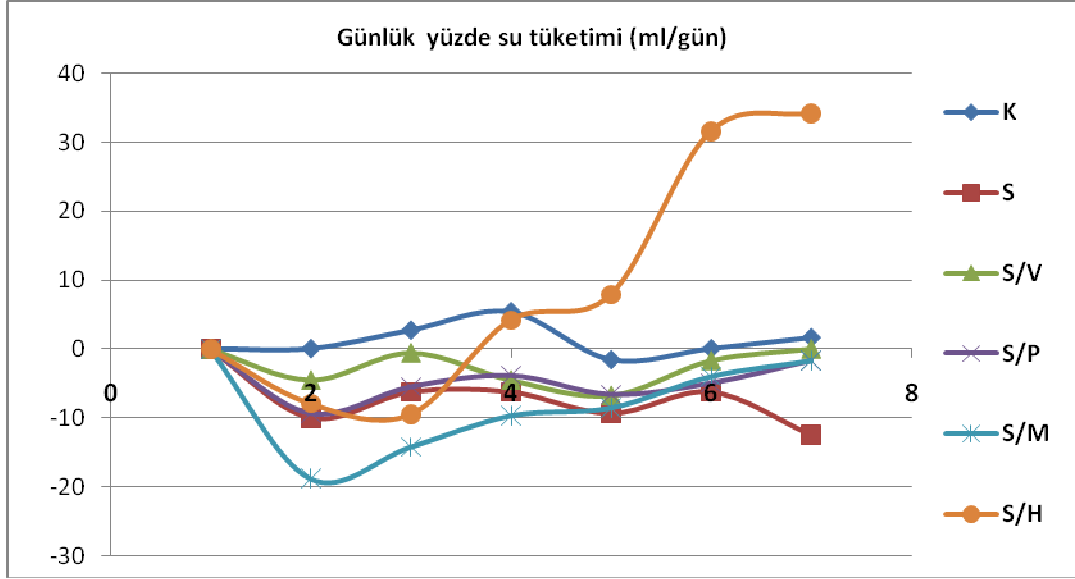
4.1.3. Su tüketimi takibi

Çizelge 4.3.. Deney süresi boyunca gruptaki su tüketim değişimi (ml/gün)

	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
K	185	185	190	195	182	185	188
S	160	144	150	150	145	150	140
S/V	178	170	177	170	166	175	178
S/P	182	165	172	175	170	173	179
S/M	175	142	150	158	160	168	172
S/H	190	175	172	198	205	250	255



Şekil 4.3. Deney süresi boyunca gruptaki su tüketim değişimi (ml/gün)



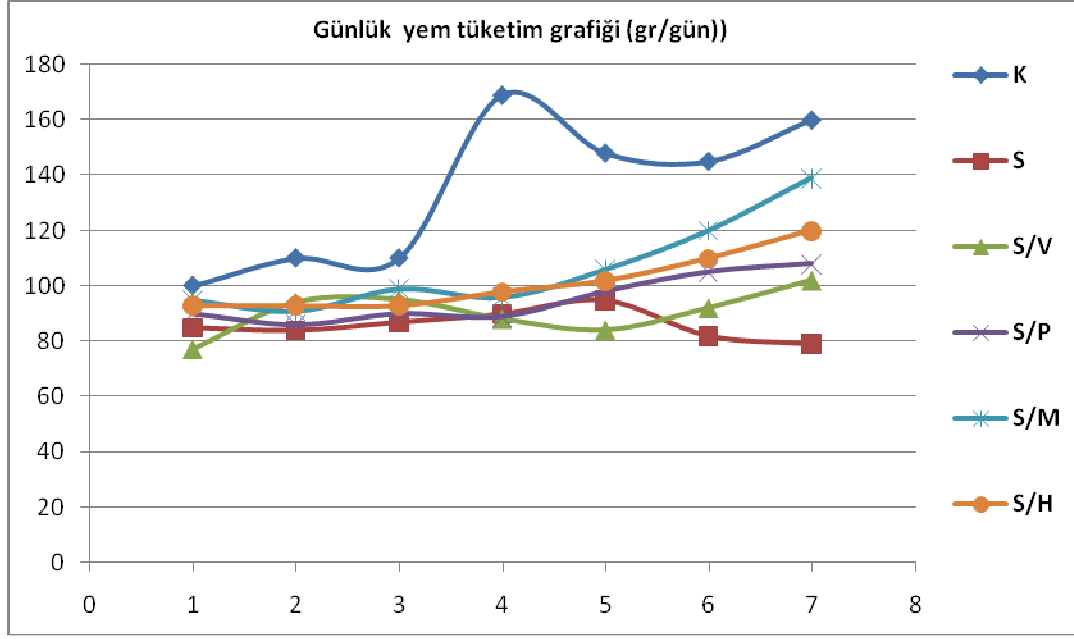
Şekil 4.4. Deney süresi boyunca gruptaki günlük su tüketim değişimi (ml/gün)

Hayvanların günlük su tüketimleri her gün aynı saatte tükettikleri su miktarları ölçülerek hesaplandı. Günlük su tüketiminde kontrol grubu ve S/H grubu hariç diğer bitki ekstresi verilen grupta belirgin bir değişim görülmezken S grubunda kontrol grubuna göre belirgin bir azalış gözlenirken S/H grubunda deneyin üçüncü gününden itibaren belirgin bir artış meydana geldiği saptandı.

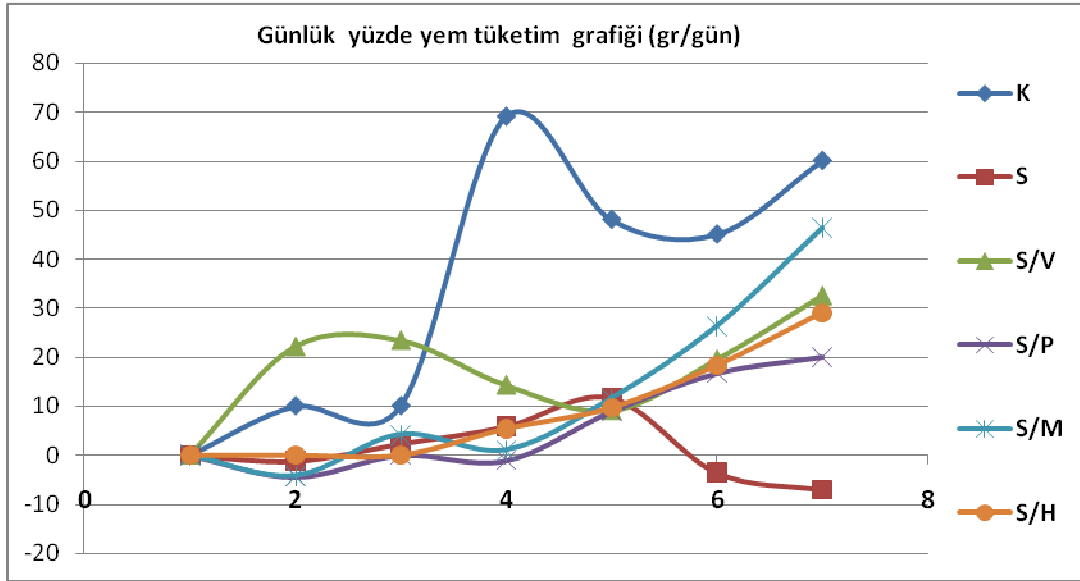
4.1.4. Yem tüketim takibi

Çizelge 4.4. Deney süresi boyunca gruptaki yem tüketim değişimi (gram/gün)

	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
K	100	110	110	169	148	145	160
S	85	84	87	90	95	82	79
S/V	77	94	95	88	84	92	102
S/P	90	86	90	89	98	105	108
S/M	95	91	99	96	106	120	139
S/H	93	93	93	98	102	110	120



Şekil 4.5. Deney süresi boyunca gruptaki günlük yem tüketim değişimi (gram/gün)



Şekil 4.6. Deney süresi boyunca gruptaki günlük yüzde yem tüketim değişimi (gram/gün)

Hayvanların yem tüketimleri, su tüketimlerine benzer yöntemle hesaplandı. Hayvanların yem tüketimleri incelendiğinde en fazla yem tüketiminin kontrol grubunda en az yem tüketiminin ise S grubunda olduğu gözlenirken diğer grupların S ve K grupları arasında yayılış gösterdiği tespit edildi. Ayrıca grupların su ve yem tüketimleri arasında paralel bir orantının olduğu gözlemlendi.

4.1.5. Serbest radikal ve antioksidan parametreler

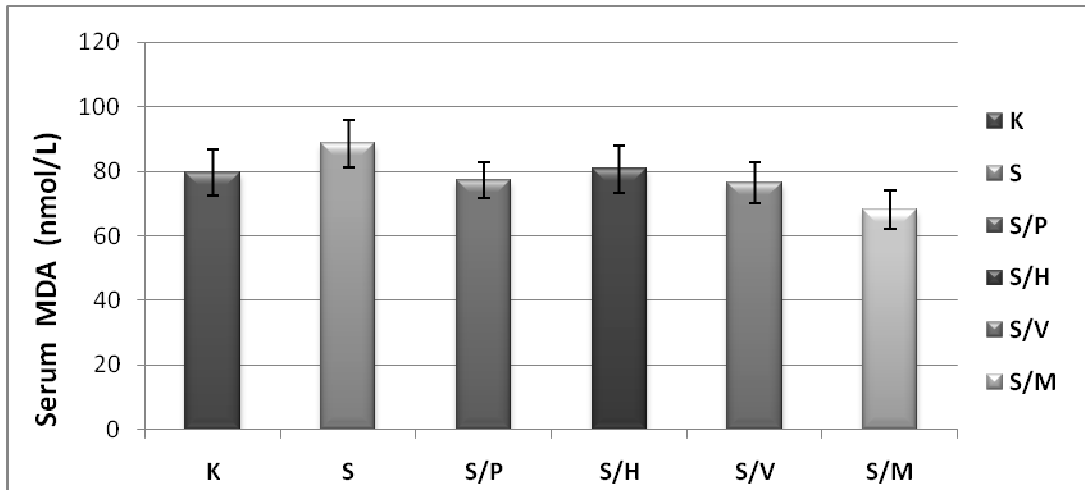
4.1.5.1. MDA sonuçları

Çizelge 4.5. Serum, beyin ve mide dokularının MDA sonuçları (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
Serum	79.5±7.0	88.6±7.3	77.2±5.5 ^b	80.6±7.3	76.5±6.4 ^b	68.0±5.8 ^{ab}
Beyin	83.9±8.9	118.8±15.5 ^a	81.1±7.02 ^b	92.3±10.4 ^b	107.8±16.2 ^a	95.3±15.9 ^b
Mide	54.4±1.26	59.2±2.78 ^a	58.3±2.9 ^a	58.1±2.2 ^a	57.7±3.37	56.4±2.23

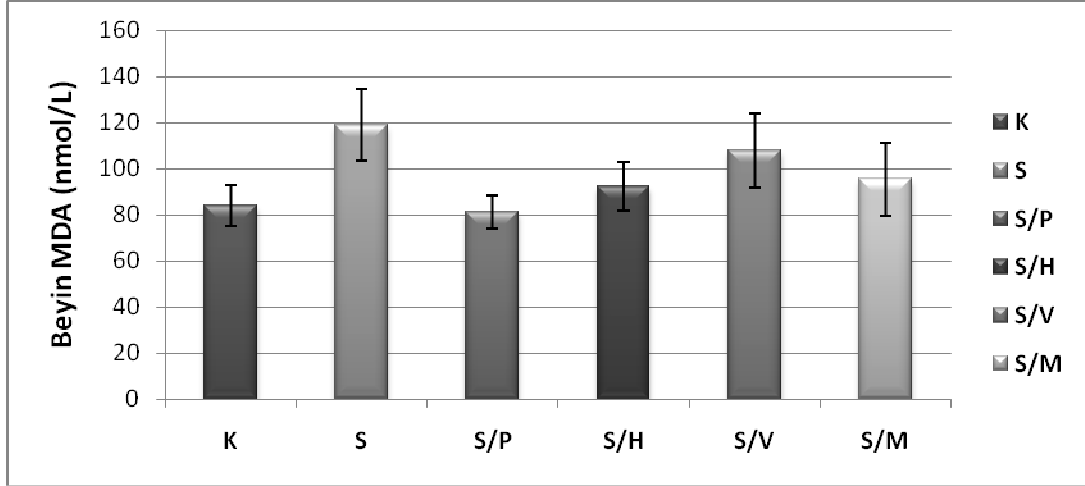
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$



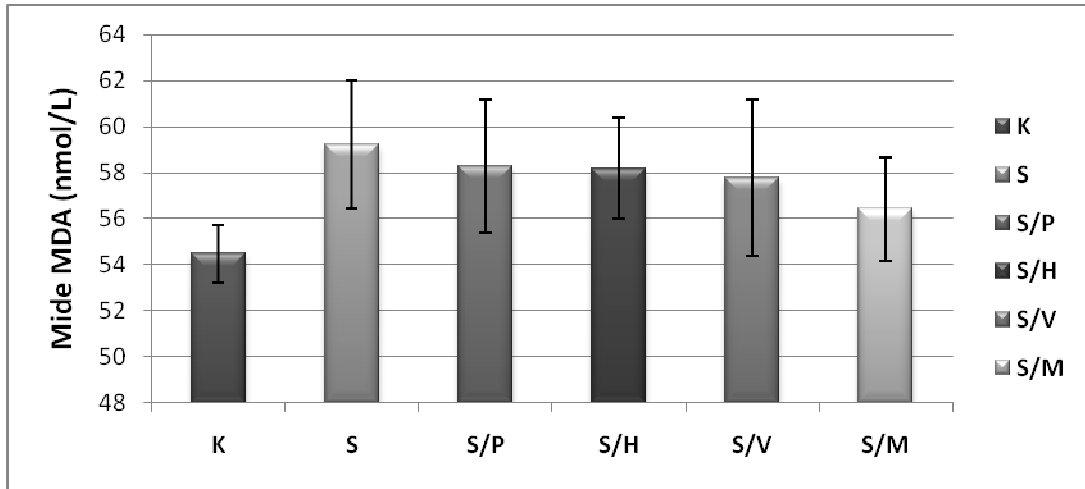
Şekil 4.7. Grupların serum MDA miktarları

Grupların serum MDA miktarları K gurubuna göre kıyaslandığında, S gurubunda istatikselsel olarak anlamlı olmayan bir artış gözlemlenirken, bitki ekstresi verilen grupların kontrole yakın bir seviyede oldukları, S/M gurubunda ise kontrol gurubuna göre istatikselsel olarak anlamlı ($p < 0.05$) azalma olduğu saptandı. Bitki ekstresi verilen gruplar S gurubu ile karşılaştırıldığında; S/H gurubu hariç, diğer bitki gruplarında istatikselsel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma meydana geldiği tespit edildi.



Şekil 4.8. Grupların beyin MDA miktarları

Beyin MDA oranlarına bakıldığında K gurubuna göre S ve S/V gruplarında anlamlı artış ($p < 0.05$) olduğu, kullanılan bitki ekstrelerinden S/H, S/M ve S/M gruplarının beyin MDA seviyesini farklı oranlarda anlamlı ($p < 0.05$) düşürerek kontrol seviyesine yakın bir değerde tuttuları tespit edildi.



Şekil 4.9. Grupların mide MDA miktarları

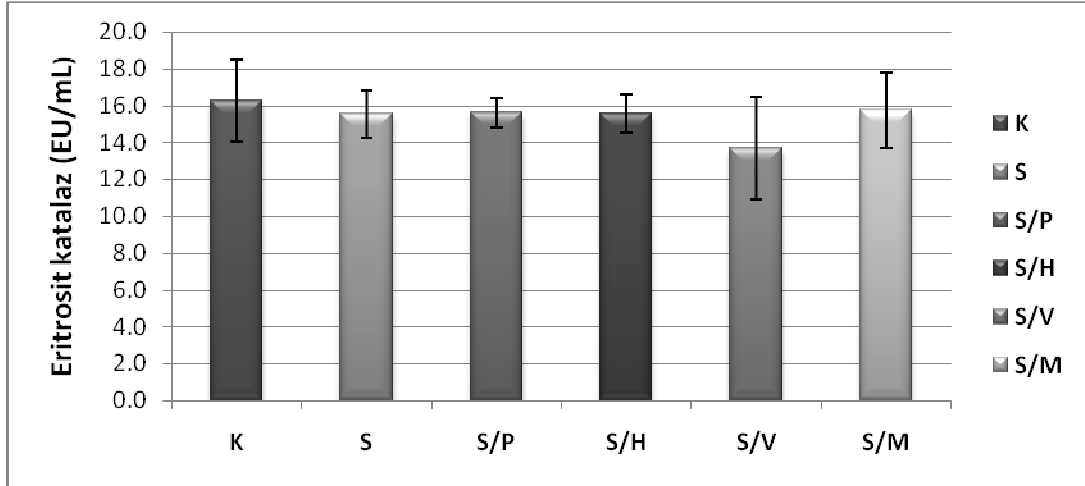
Mide MDA oranları kontrol gurubu ile kıyaslandığında stres uygulanan gruplardan S, S/P ve S/H gruplarında anlamlı ($p < 0.05$) artış olduğu ve en fazla artışın S gurubunda gerçekleştiği gözlenirken, S/V ve S/M gruplarında anlamlı bir artış olmadığı gözlemlendi. Stres gurubu ile karşılaştırma yapıldığında bitki ekstresi verilen grupların mide MDA değerlerinin farklı oranlarda azaldığı tespit edildi.

4.1.5.2. Enzimatik antioksidan sonuçları

4.1.5.2.1. Katalaz sonuçları

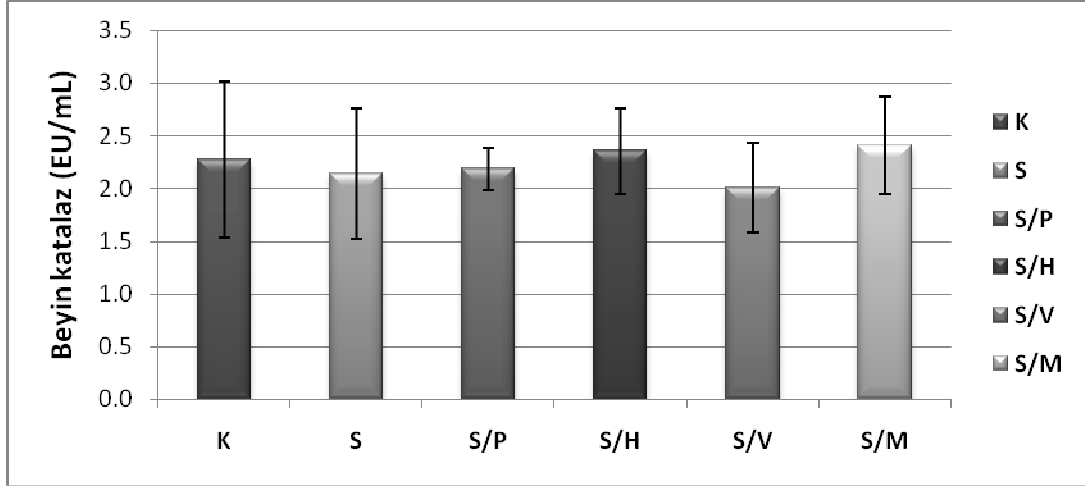
Çizelge 4.6. Serum, beyin ve mide dokularının katalaz sonuçları (EU/ml) (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
Eritrosit	16.3±2.2	15.5±1.3	15.6±0.8	15.6±1.0	13.7±2.8	15.7±2.0 ^{ab}
Beyin	2.3±0.7	2.1±0.6	2.2±0.2	2.4±0.4	2.0±0.4	2.4±0.5
Mide	4.7±1.2	4.2±0.6	4.6±0.8	4.5±0.6	4.8±0.8	6.0±0.9



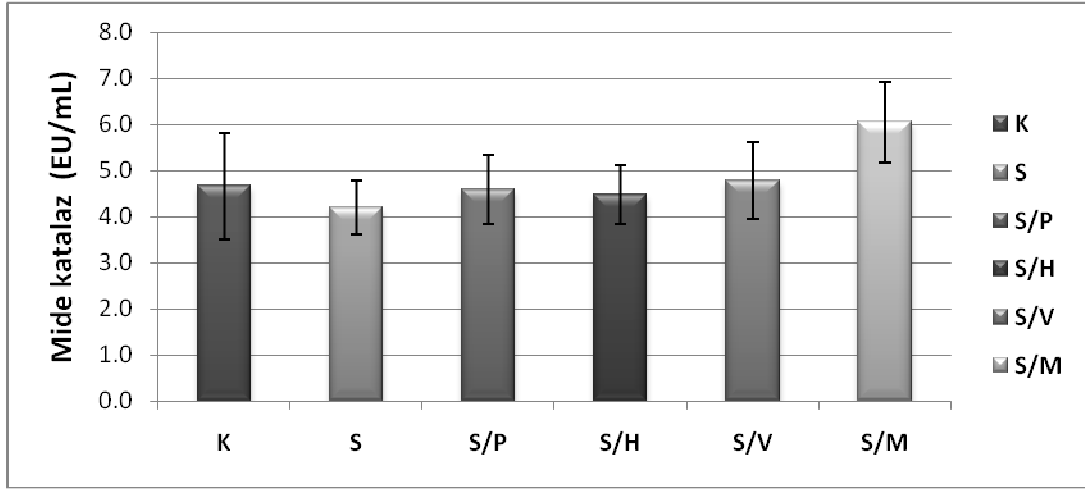
Şekil 4.10. Grupların eritrosit katalaz miktarları

Grupların eritrosit katalaz oranlarının kontrole göre; tüm stres gruplarında azaldığı, en fazla azalmanın S/V grubunda gerçekleştiği, diğer bitki gruplarının S gurubuna göre artış göstererek kontrol gurubuna yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi.



Şekil 4.11. Grupların beyin katalaz miktarları

Beyin katalaz miktarlarında en düşük oranın S ve S/V grubunda olduğu, diğer bitki ekstresi uygulanan gruplardan S/H ve S/P gruplarının kontrole yakın oranlarda, S/M grubunun ise kontrolden biraz yüksek oranda olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.12. Grupların mide katalaz miktarları

Grupların mide katalaz miktarları kontrol grubuna göre kıyaslandığında; en fazla azalmanın S grubunda olduğu, S/P, S/H ve S/V gruplarının kontrole yakın seviyede, S/M grubunda ise kontrole göre artış olduğu gözlemlendi.

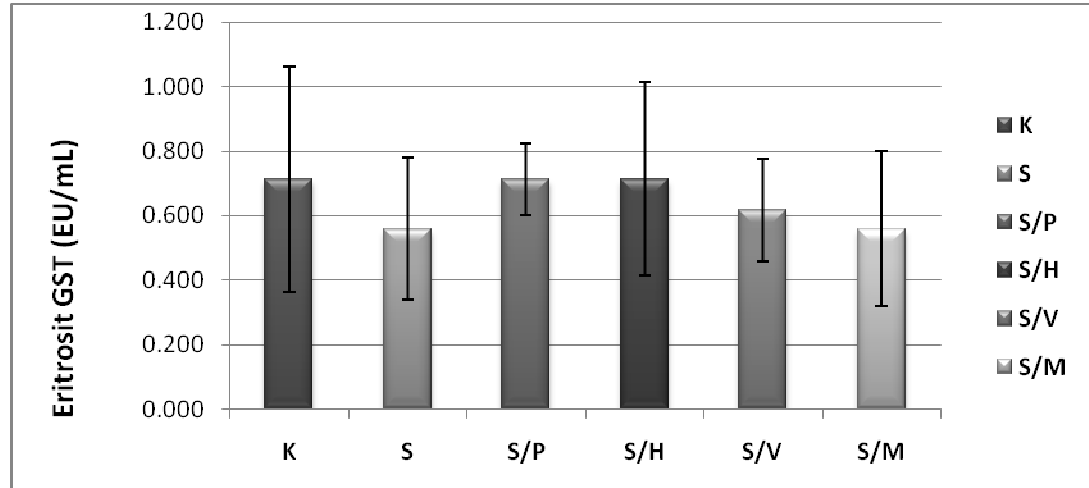
4.1.5.2.2. Glutatyon-S Transferaz (GST) sonuçları

Çizelge 4.7. Eritrosit, beyin ve mide dokularının GST sonuçları (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
Eritrosit	0.713±0.35	0.559±0.22	0.713±0.11	0.713±0.3	0.617±0.16	0.559±0.24
Beyin	10.4±1.9	8.4±2.8	8.9±1.5	10.2±2.4	10.9±2.6	10±2.6
Mide	11.0±3.8	7.5±1.4	11.0±3.3	13.0±2.7 ^b	10.3±1.6 ^b	16.4±5 ^b

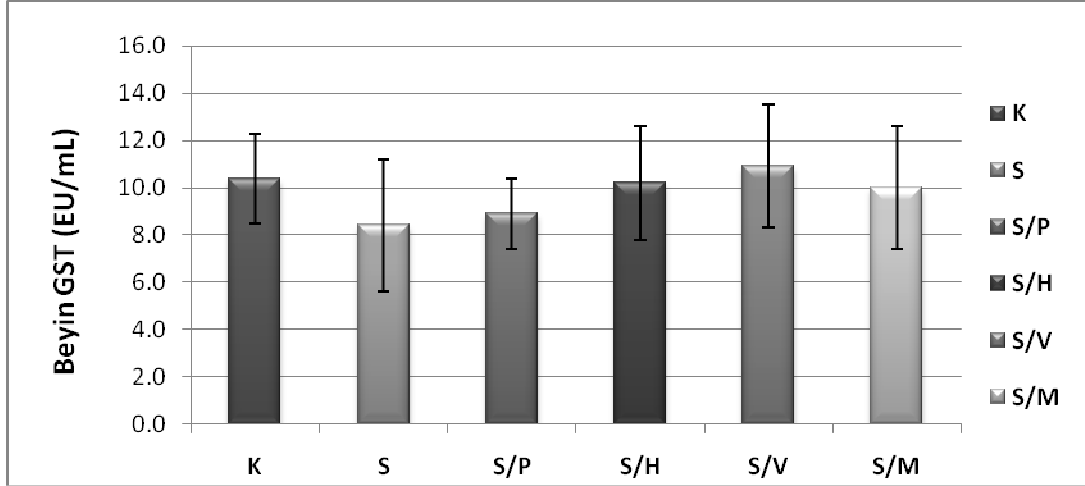
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$



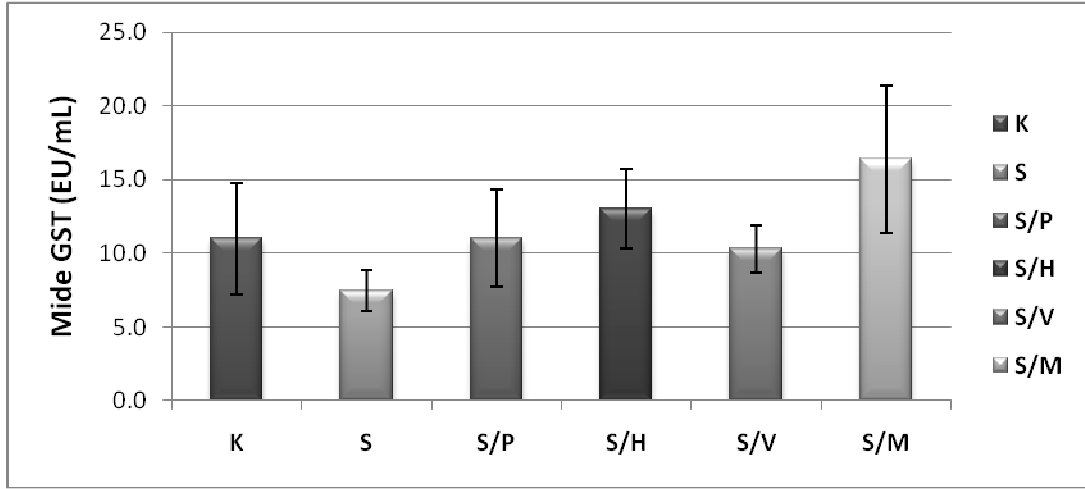
Şekil 4.13. Grupların eritrosit GST miktarları

Eritrosit GST oranları K gurubuna göre; S, S/V ve S/M gruplarında azaldığı, S/P ve S/H gruplarının ise kontrolle aynı seviyede olduğu gözlemlendi. S gurubuna göre ise; S/M hariç diğer bitki ekstresi uygulanan gruplarda artış olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.14. Grupların beyin GST miktarları

Grupların beyin GST oranları kontrol gurubuna göre kıyaslandığında; S ve S/P gruplarında azalma ve en fazla azalmanın S gurubunda olduğu gözlenirken, diğer bitki ekstresi uygulanan grupların kontrole yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi.



Şekil 4.15. Grupların mide GST miktarları

Mide GST oranları kontrol gurubuna göre kıyaslandığında azalmanın yalnızca S gurubunda olduğu, S/P ve S/M gruplarının kontrole aynı seviyede, S/H ve S/M gruplarının ise kontrole göre artmış olduğu gözlemlendi. Stres gurubu ile bitki ekstresi uygulanan gruplar karşılaştırıldığında bitki ekstresi uygulanan tüm grupların GST oranında artış olduğu gözlemlendi.

4.1.5.3. Enzimatik olmayan antioksidan sonuçları

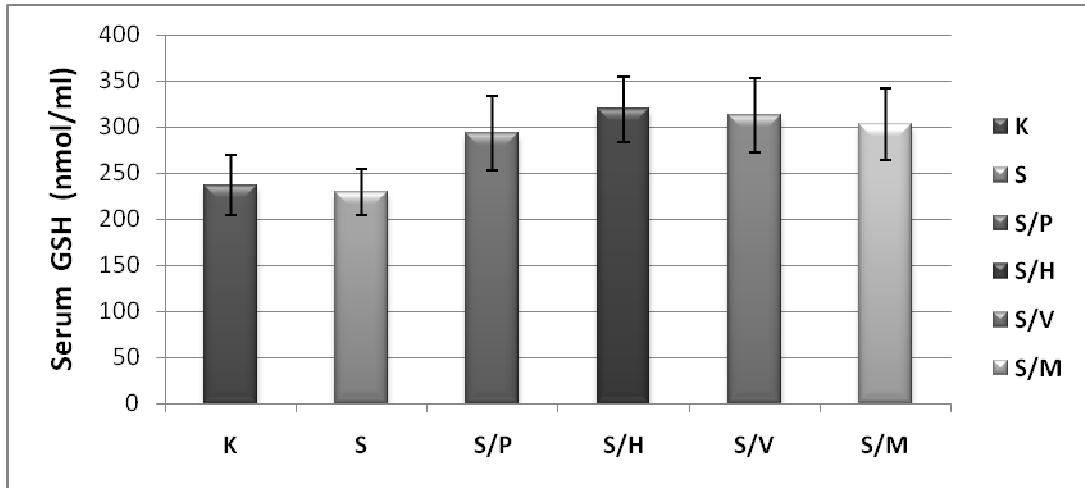
4.1.5.3.1. GSH sonuçları

Çizelge 4.8. Serum, beyin ve mide dokularının GSH sonuçları (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
Serum	236.8±33.2	229.0±25.4	293.6±40.3	319.3±35.3 ^a	312.6±39.9 ^a	303.2±38.6 ^a
Beyin	229.2±26.8	214.8±32.1	197.7±42.1	221.8±27.2	202.7±32.7	219.9±36.3
Mide	326.4±62.5	252.7±62.9	293.5±50.1	259.5±15.6 ^a	281.9±59.5	351.6±58.8 ^b

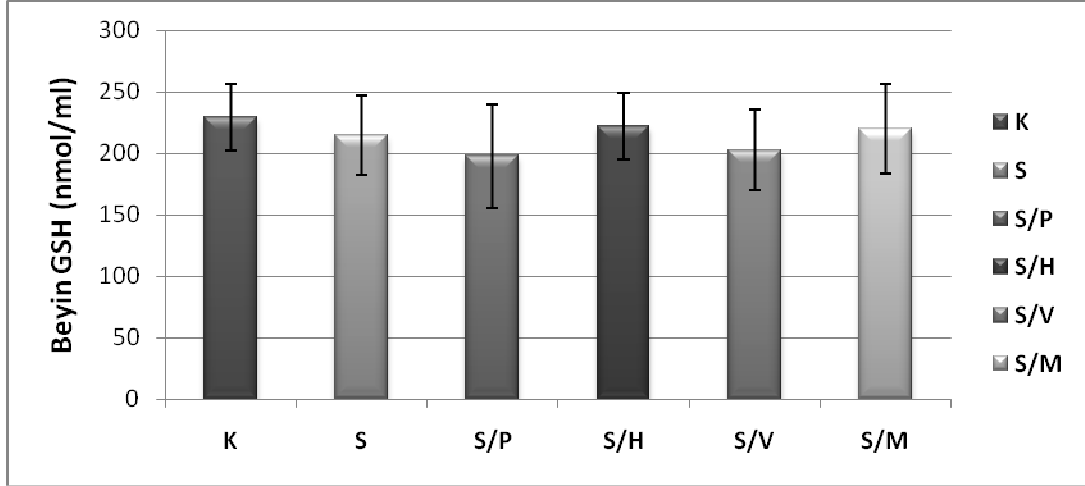
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$



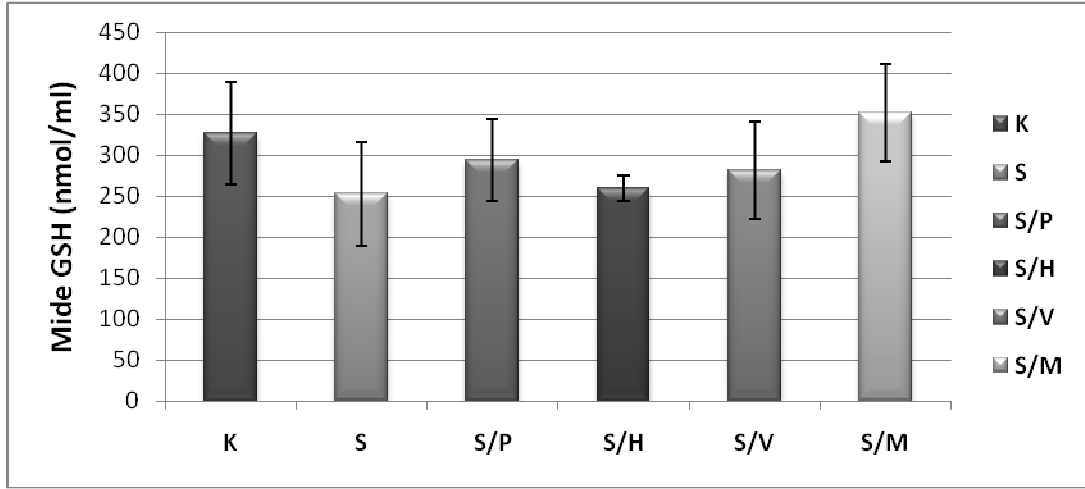
Şekil 4.16. Grupların serum GSH miktarları

Stres uygulanan grupların serum GSH miktarları kontrol grubuna göre; S gurubunda azalırken, bitki ekstresi uygulanan tüm gruplarda artış olduğu bu artışın S/H, S/V ve S/M gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.17. Grupların beyin GSH miktarları

Beyin GSH seviyesi kontrol grubuna göre; tüm stres gruplarında azaldığı, bitki gruplarından S/H ve S/M gruplarının kontrole yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi.



Şekil 4.18. Grupların mide GSH miktarları

Grupların mide GSH oranları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; en fazla azalmanın S grubunda, S/H grubunda ise anlamlı ($p < 0.05$) azalma olduğu ve diğer bitki gruplarının kontrole yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi. Stres grubuna göre ise; tüm bitki gruplarında farklı oranlarda artış görülen artışın sadece S/M grubunda anlamlı ($p < 0.05$) olduğu saptandı.

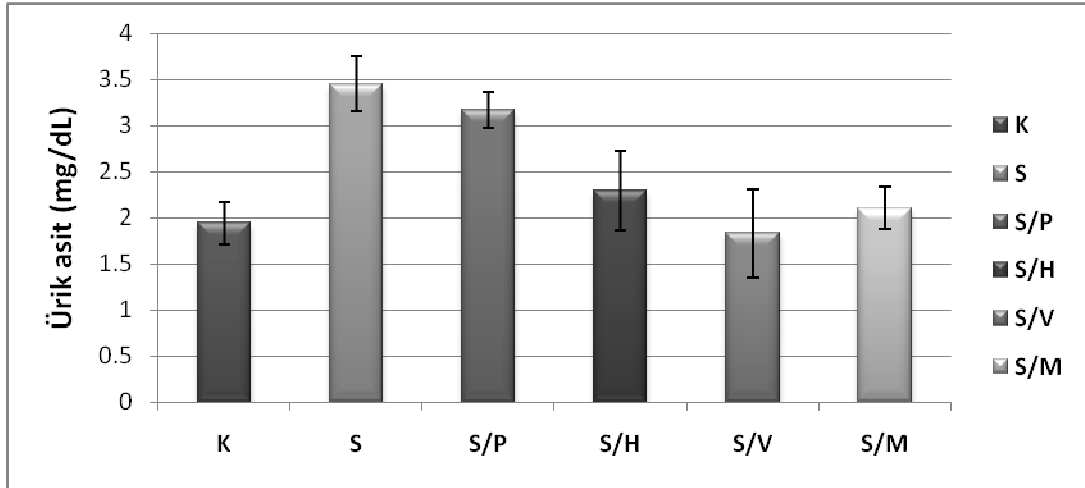
4.1.5.3.2. Diğer enzimatik olmayan antioksidan sonuçları

Çizelge 4.9. Serumdaki non-enzimatik antioksidan sonuçları (mg/dl) (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
Ürik asit	1.94±0.23	3.45±0.3 ^a	3.17±0.19 ^a	2.29±0.43 ^b	1.83±0.48 ^b	2.1±0.23 ^b
T.Bilirubin	0.14±0.04	0.09±0.02 ^a	0.13±0.02 ^b	0.16±0.37 ^b	0.16±0.04 ^b	0.14±0.04 ^b
Albümin	4.30±0.22	4.21±0.20	4.36±0.19	4.40±0.18	4.49±0.18	4.34±0.19
Ferritin	133.3±32.5	131.7±24.5	116.7±14.7	131.5±26.8	143.5±23.1	110.4±18.3

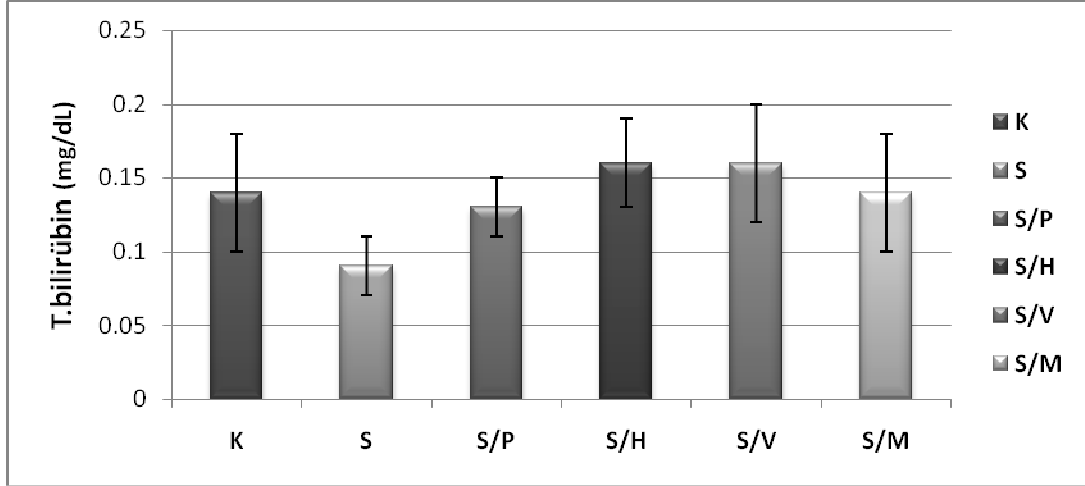
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$



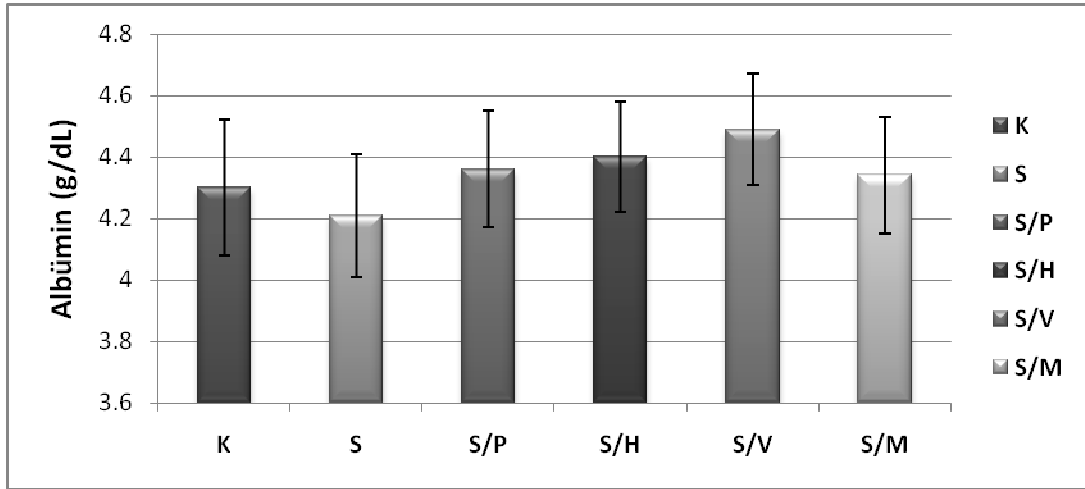
Şekil 4.19. Grupların plazma ürik asit miktarları

Ürik asit S ve S/P gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükselirken ($p < 0.05$), S/H, S/V ve S/M gruplarında stres grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ($p < 0.05$) görüldü.



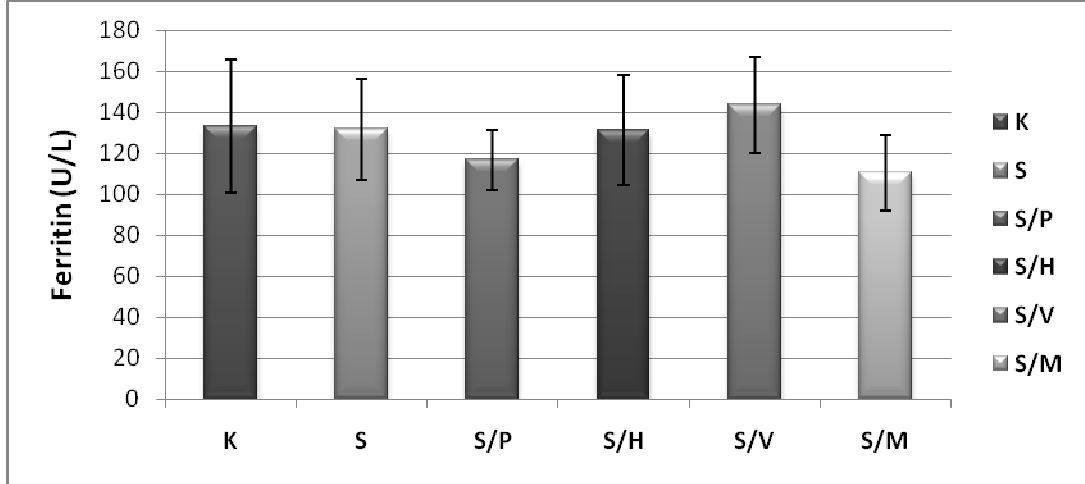
Şekil 4.20. Grupların total bilirubin düzeyi

Total bilirubin K grubu ile kıyaslandığında S grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p < 0.05$) olduğu görülürken, bitki ekstresi uygulanan gruplarda anlamlı bir değişime rastlanılmadı. S grubu ile karşılaştırıldığında bitki ekstresi verilen tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir artış gösterdiği tespit edildi.



Şekil 4.21. Grupların albümin düzeyi

Albumin miktarında tüm gruplar K grubu ile kıyaslandığında S grubunun azaldığı görülürken, bitki ekstresi verilen tüm grupların K grubuna göre artış gösterdiği tespit edildi.



Şekil 4.22. Grupların ferritin düzeyi (U/L)

Ferritin K grubuna göre S, S/P, S/H ve S/M gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma meydana geldiği gözlenirken, S/V grubunda anlamlı olmayan bir artış gözlemlendi. S grubuna göre ise; S/P, S/H ve S/M gruplarında azalma olduğu, S/V grubunda ise artış olduğu gözlemlendi.

4.1.6. Biyokimyasal bulgular

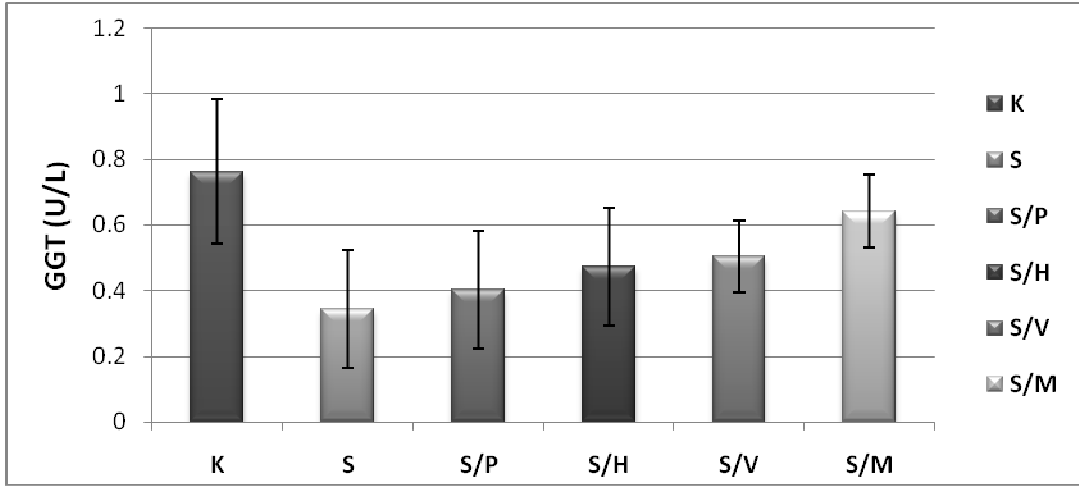
4.1.6.1. Serum biyokimya analizleri

Çizelge 4.10. Serum biyokimya analizleri (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
GGT (U/L)	0.763±0.2	0.345±0.2 ^a	0.403±0.2 ^a	0.473±0.2 ^a	0.503±0.1	0.642±0.1 ^b
AST (U/L)	120±8.3	84±11.8 ^a	113.7±9.6 ^b	104±7.7 ^{ab}	151±8.1 ^{ab}	134±4.0 ^{ab}
ALT (U/L)	73.4±12	59.7±8	82.4±9 ^b	81.1±14 ^b	78.4±6 ^b	86.2±12 ^b
ALP (U/L)	152±19	116±7 ^a	162±9 ^b	151±18 ^b	198±16 ^{ab}	161±11 ^b
CK (U/L)	742±99	212±86 ^a	299±59 ^a	349±66 ^{ab}	602±88 ^b	495±86 ^{ab}
AMY (U/L)	2037±194	1886±117	2477±212 ^{ab}	2434±140 ^{ab}	2312±293 ^b	1945±140
LDH (U/L)	2573±361	696±377 ^a	1138±135 ^{ab}	1227±371 ^{ab}	2098±227 ^{ab}	1841±369 ^{ab}
T. protein (g/dL)	7.4±0.07	7.3±0.1	7.3±0.14	7.2±0.15	7.4±0.13	7.3±0.08
Globülin (g/dL)	3.03±0.12	3.11±0.20	2.95±0.19	2.84±0.17	2.84±0.18	2.91±0.26
Demir (mg/dL)	150±21	172±23	151±24	132±18 ^b	162±25	129±16 ^b
Demir bağ kap(U/L)	310±78	332±65	400±49 ^b	430±59 ^{ab}	364±69	395±58
Magnzym (mg/dL)	3.3±0.3	3.4±0.2	3.5±0.3	3.1±0.1	3.1±0.4	3.1±0.1 ^b
BUN (mg/dL)	40±2.8	23±2.3 ^a	24±2.4 ^a	27±2.4 ^{ab}	25±2.9 ^a	25±1.7 ^a
Kreatinin (mg/dL)	0.45±0.04	0.35±0.02 ^a	0.38±0.01 ^a	0.34±0.03 ^a	0.36±0.03 ^a	0.35±0.02 ^a

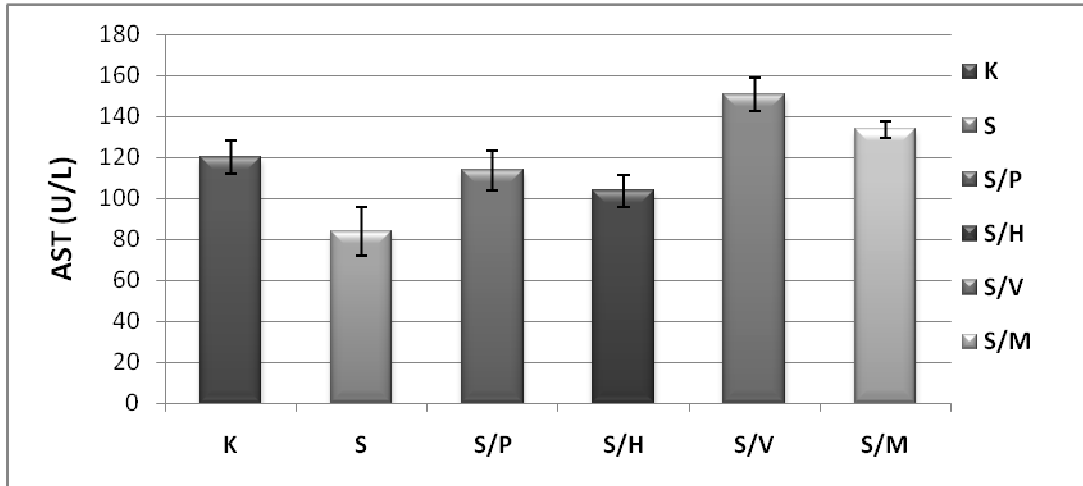
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p< 0.05

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında p< 0.05



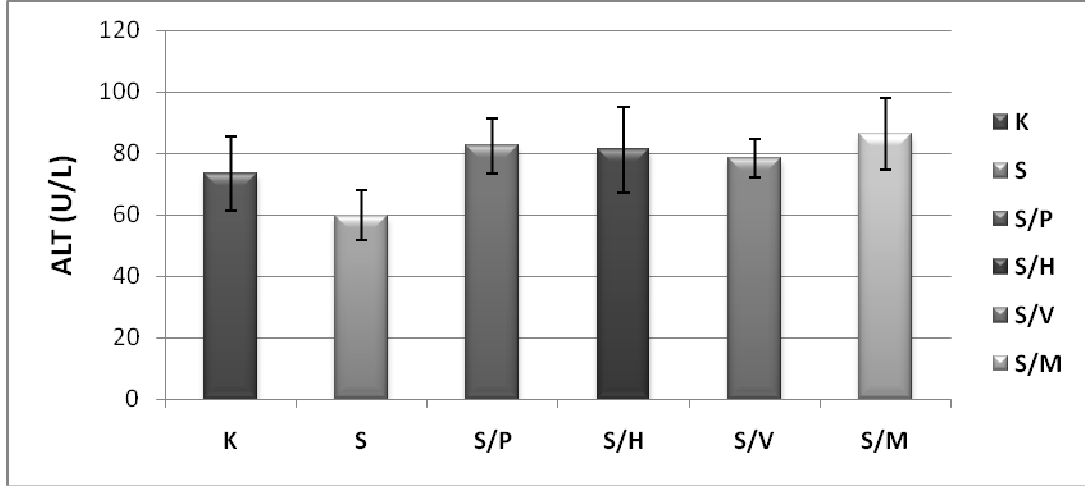
Şekil 4.23. Grupların GGT düzeyi (U/L)

GGT (γ -glutamyl transferaz) miktarının K grubuna göre S, S/P, S/H gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$), S/V ve S/M gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma olduğu gözlemlendi. S grubuna göre tüm bitki ekstresi uygulanan gruplarda bir artış gözlemlenirken yalnızca S/M grubunda anlamlı ($p < 0.05$) bir artışın meydana geldiği saptandı.



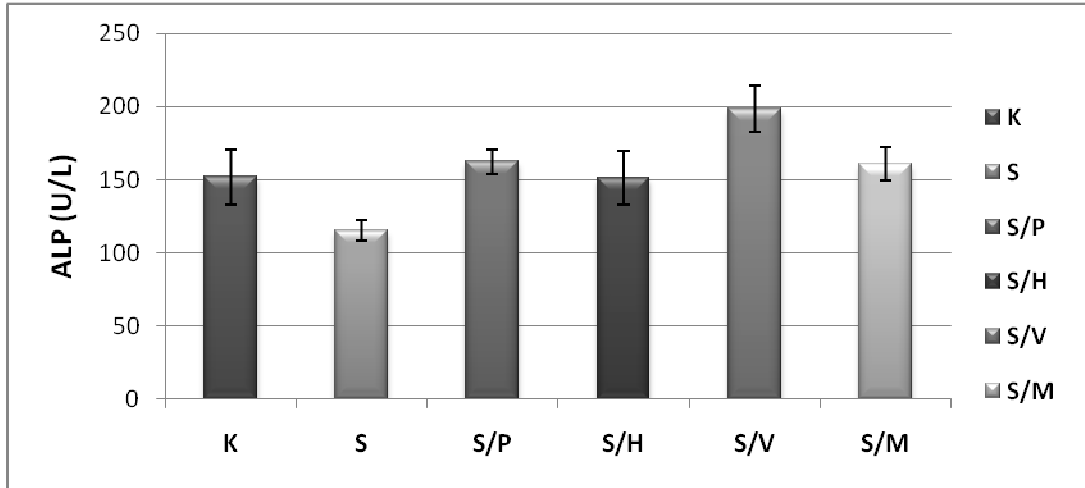
Şekil 4.24. Grupların AST düzeyi (U/L)

S/P grubu hariç tüm gruplarda AST (Aspartat aminotransferaz) miktarı kontrol (K) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir değişim göstermektedir. S grubu diğer gruplar ile kıyaslandığında tüm gruplarda kontrole yaklaşan anlamlı ($p < 0.05$) bir artış meydana geldiği gözlenirken, S/V ve S/M gruplarında kontrol grubunu da aşan bir artış meydana geldiği gözlemlendi.



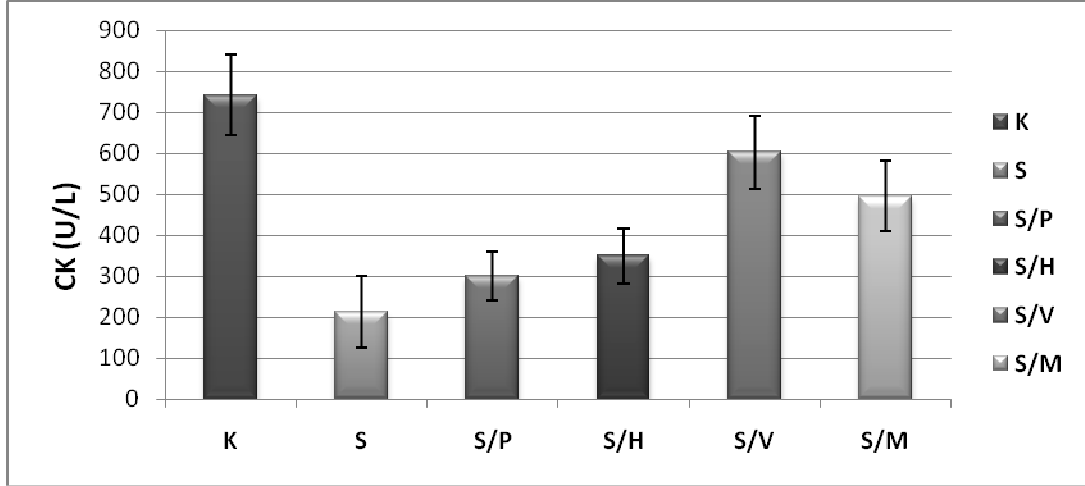
Şekil 4.25. Grupların ALT düzeyi (U/L)

ALT (Alanin aminotransferaz) miktarı bitki ekstresi uygulanan tüm gruplarda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış olduğu gösterirken, S grubunda ise K grubuna göre bir azalma meydana geldiği, bitki ekstresi uygulanan tüm gruplar S grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ($p < 0.05$) bir artış meydana geldiği saptandı.



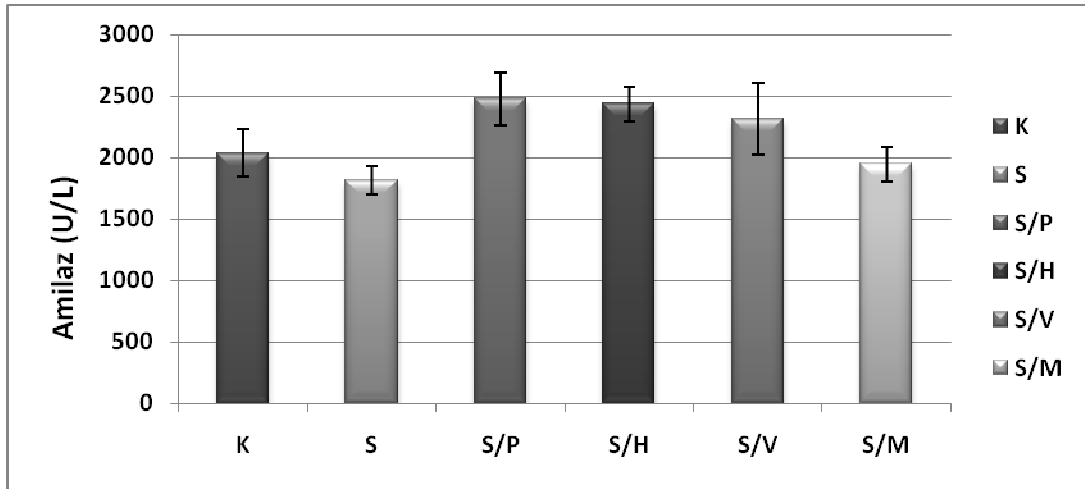
Şekil 4.26. Grupların ALP düzeyi (U/L)

ALP; S grubunda K grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma meydana geldiği gözlemlenirken, bitki gruplarında S/V grubu hariç anlamlı olmayan bir artış meydana geldi. Bitki ekstresi uygulanan gruplar S grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak tüm gruplarda anlamlı ($p < 0.05$) bir artış olduğu saptandı.



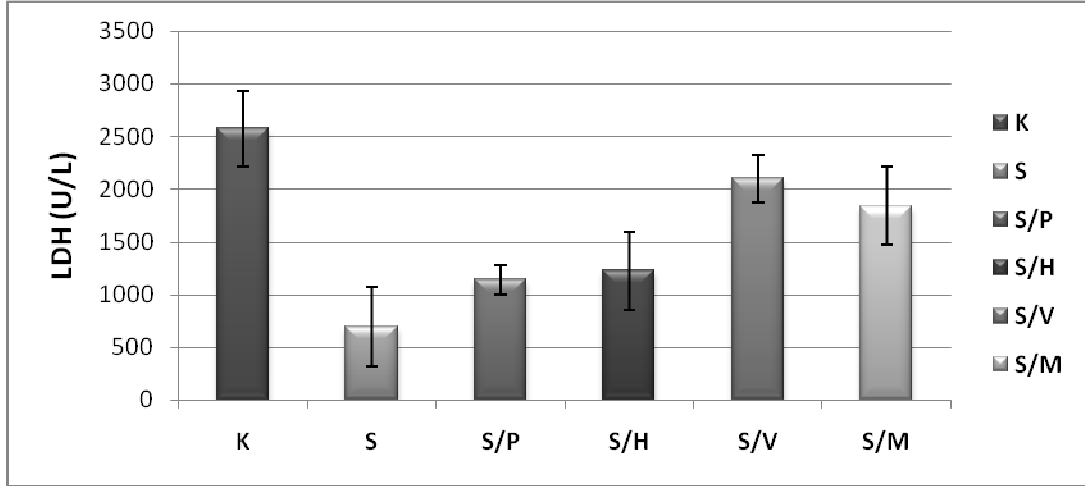
Şekil 4.27. Grupların kreatin kinaz düzeyi (U/L)

Kontrol (K) grubuna göre CK miktarı S ve S/V grubu hariç bitki ekstresi uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir azalmanın olduğu, S grubuna göre ise bitki ekstresi uygulanan tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir artış meydana geldiği saptanmıştır.



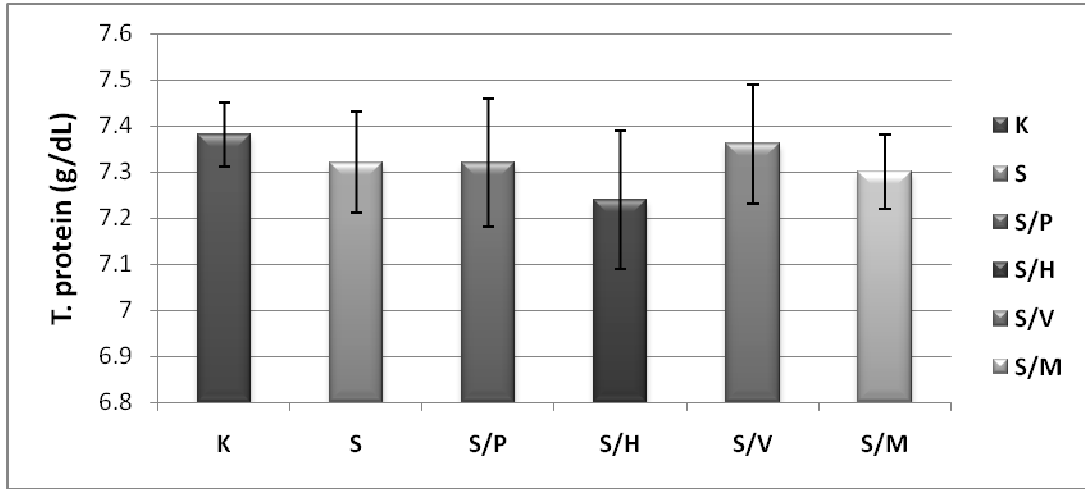
Şekil 4.28. Grupların amilaz düzeyi (U/L)

Amilaz miktarı tüm gruplar K grubu ile kıyaslandığında S ve S/M gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma gözlenirken, S/P ve S/H gruplarında anlamlı, S/V grubunda ise anlamlı olmayan artış gözlemlendi. S grubuna göre tüm bitki gruplarında S/M hariç istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir artış olduğu tespit edildi.



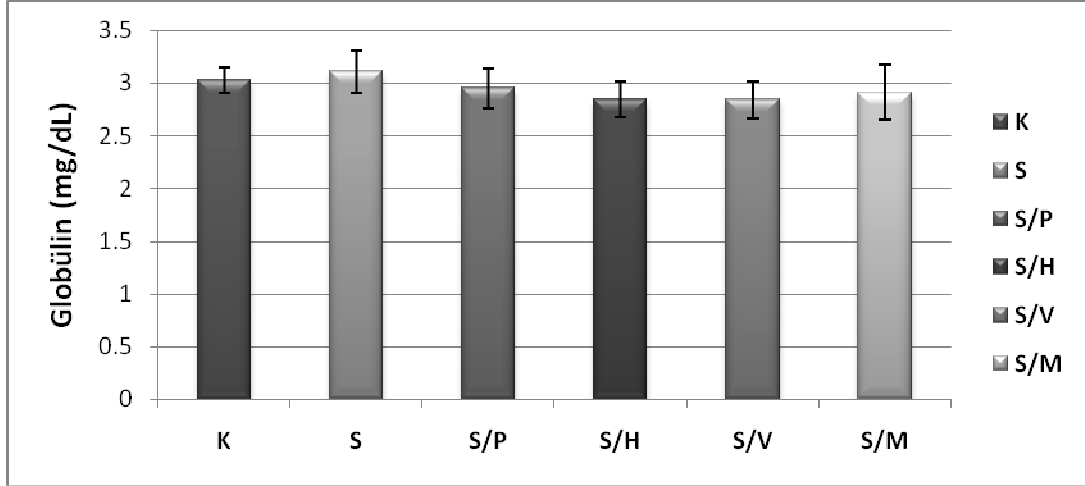
Şekil 4.29. Grupların laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi (U/L)

LDH miktarı K grubuna göre tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma meydana gelirken, S grubuna göre ise bitki ekstresi uygulanan tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) artış olduğu görüldü.



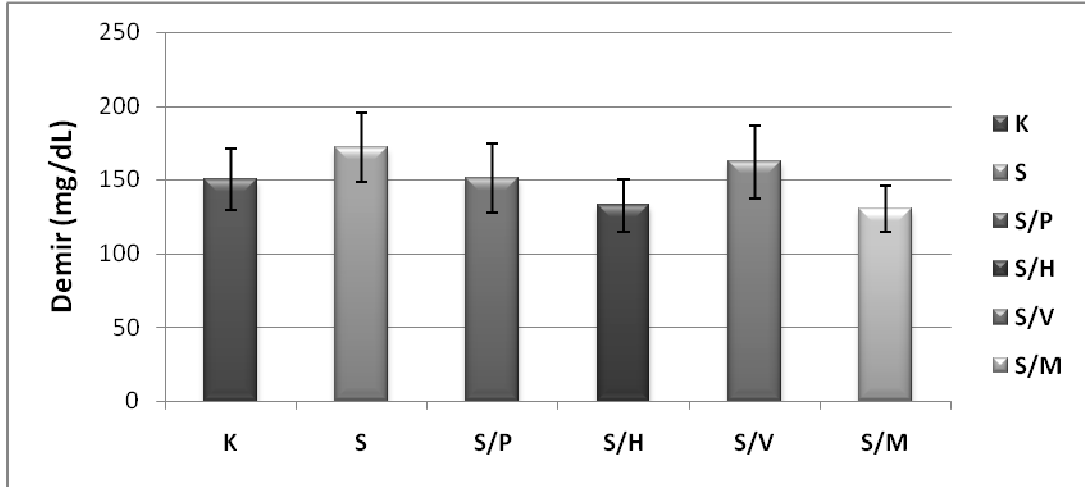
Şekil 4.30. Grupların total protein düzeyi

Total protein miktarı tüm gruplarda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma meydana geldiği gözlemlenirken S/V grubunda K grubuna yaklaşan bir artış olduğu, S/H grubunda ise S grubundan daha düşük seviyede olduğu tespit edildi.



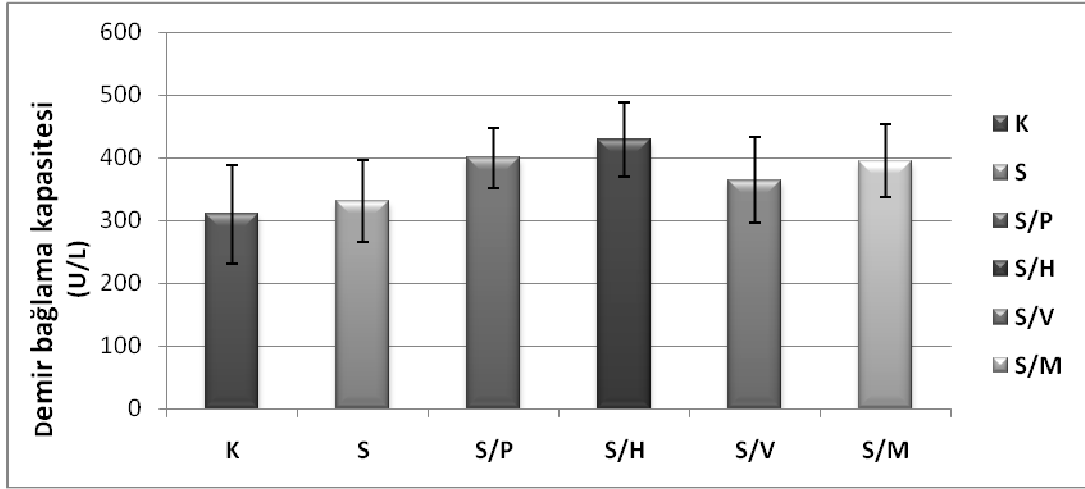
Şekil 4.31. Grupların globülin düzeyi

Globülin miktarı K grubuna göre diğer gruplar karşılaştırıldığında S grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artışın gerçekleştiği bitki gruplarında ise K grubuna göre azalma meydana geldiği tespit edildi.



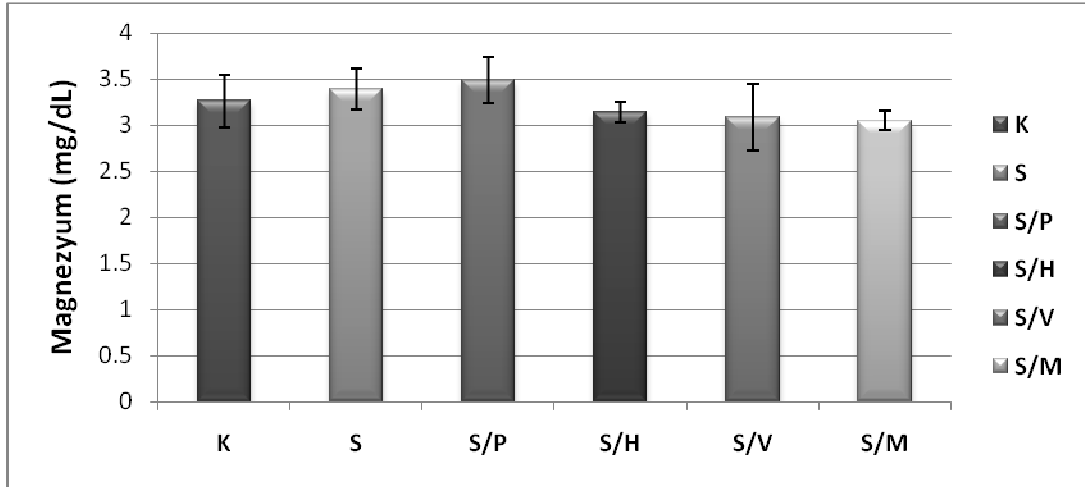
Şekil 4.32. Grupların demir düzeyi

Kan serumunda bulunan serbest demir miktarı K grubu ile karşılaştırıldığında S grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış olduğu, S/P ve S/V gruplarında K grubuna göre anlamlı olmayan hafif bir artış meydana geldiği, S/H ve S/M gruplarında ise K grubuna göre anlamlı olmayan bir azalmanın meydana geldiği saptandı. S grubuna göre karşılaştırma yapıldığında; bitki ekstresi uygulanan tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma meydana geldiği gözlenirken, S/H ve S/M gruplarında anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma meydana geldiği görülmüştür.



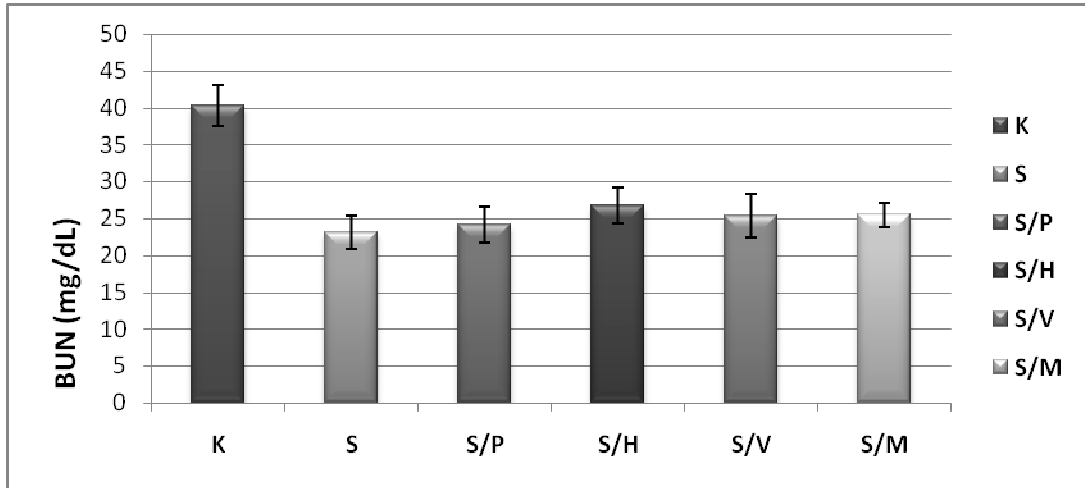
Şekil 4.33. Grupların demir bağlama kapasitesi düzeyi

Kontrol grubuna göre tüm gruplarda artan demir bağlama miktarı gözlenirken S/H grubunda K ve S grubuna göre, S/P grubunda ise S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bir artış meydana geldiği saptanmıştır.

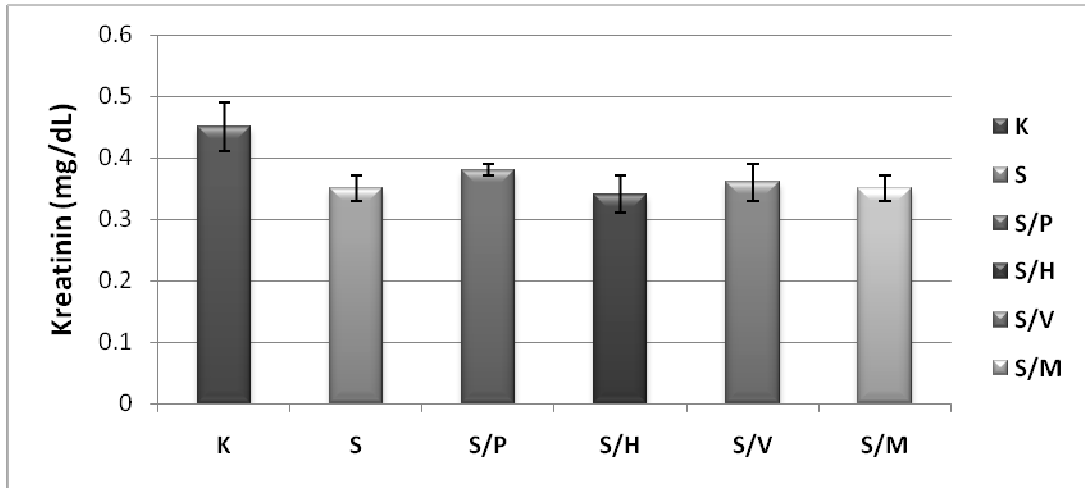


Şekil 4.34. Grupların magnezyum düzeyi

Magnezyum K grubuna göre kıyaslandığında S ve S/P grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış olduğu, S/H, S/V ve S/M gruplarında anlamlı olmayan azalma olduğu gözlenirken, S grubuna göre S/P grubunda artış, S/H ve S/V gruplarında azalma S/M grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bir azalma gözlemlendi.



Şekil 4.35. Grupların plazma BUN miktarları



Şekil 4.36. Grupların plazma kreatinin miktarları

Daha çok böbrek fonksiyonu hakkında bilgi veren kreatinin ve kan üre azotu (BUN) parametrelerinin stres durumundaki değişimini gözlemleyebilmek için ilgili parametrelere bakılarak grafikler oluşturuldu.

Kreatinin ve kan üre azotu (BUN)'un stres grubu dahil tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ($p < 0.05$), verilen bitki ekstraktlarından ise BUN (Şekil 4.14) için S/H grubunda kontrol grubuna yaklaşan anlamlı ($p < 0.05$) bir yükselişin olduğu görüldü.

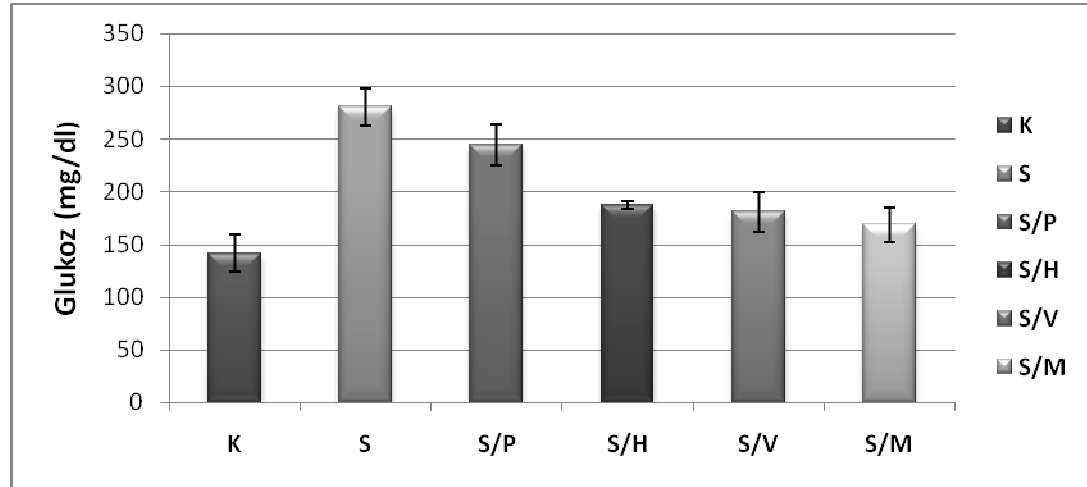
4.1.6.2. Lipid profili ve glukoz düzeyinin incelenmesi

Çizelge 4.11. Grupların glukoz düzeyi ve lipid profili (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
Glukoz (mg/dL)	142±18	281±18 ^a	244±19 ^{ab}	187±4 ^{ab}	181±19 ^{ab}	169±16 ^{ab}
Kolesterol (mg/dL)	57±3	54±3	58±5	58±5	52±7	50±6 ^{ab}
Trigliserid (mg/dL)	63±7	30±5 ^a	52±7 ^b	41±8 ^{ab}	55±5 ^{ab}	28±5 ^a
HDL-C (mg/dL)	58±5	54±4	51±5 ^a	56±6	48±6 ^a	51±5
LDL-C (mg/dL)	7.8±1.2	1.9±0.6 ^a	5.4±1.6 ^{ab}	5.3±1.4 ^{ab}	6.1±1.6 ^b	6.4±1.6 ^b

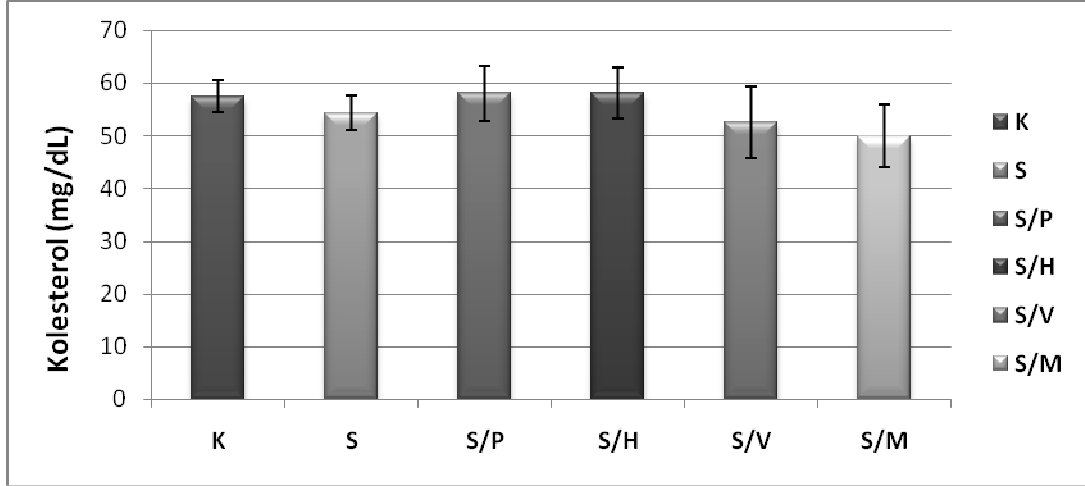
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$



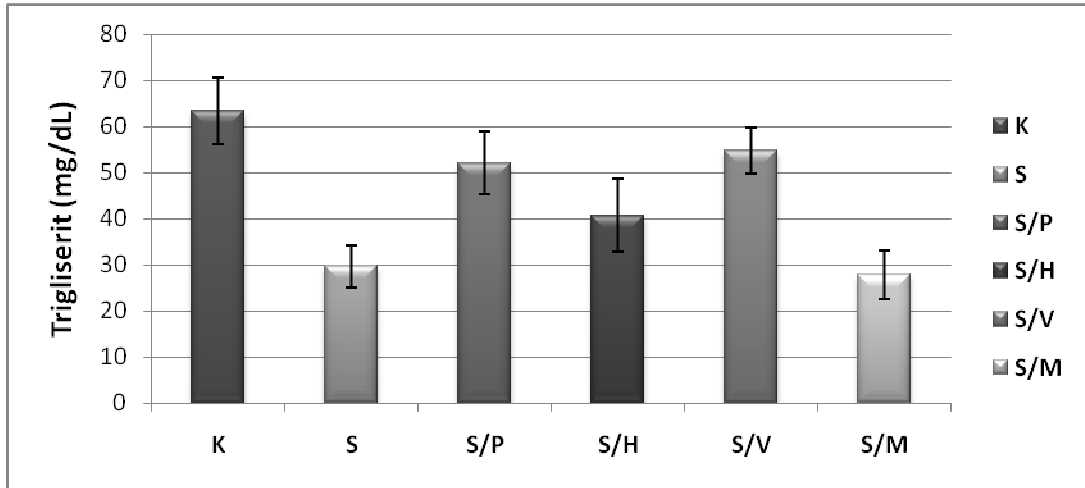
Şekil 4.37. Grupların glukoz düzeyi (mg/dl)

Serum glukoz oranlarına bakıldığında K grubuna göre tüm stres gruplarında artış olduğu, kullanılan bitki ekstrelerinin glikoz seviyesini farklı oranlarda düşürerek kontrol seviyesine yakın bir değerde tuttuları tespit edildi. K grubuna göre en fazla S grubu olmak üzere tüm stres gruplarında anlamlı ($p < 0.05$) bir artış olduğu, S grubuna göre ise tüm bitki gruplarının glikoz oranında anlamlı ($p < 0.05$) bir azalmaya neden olduğu tespit edildi.



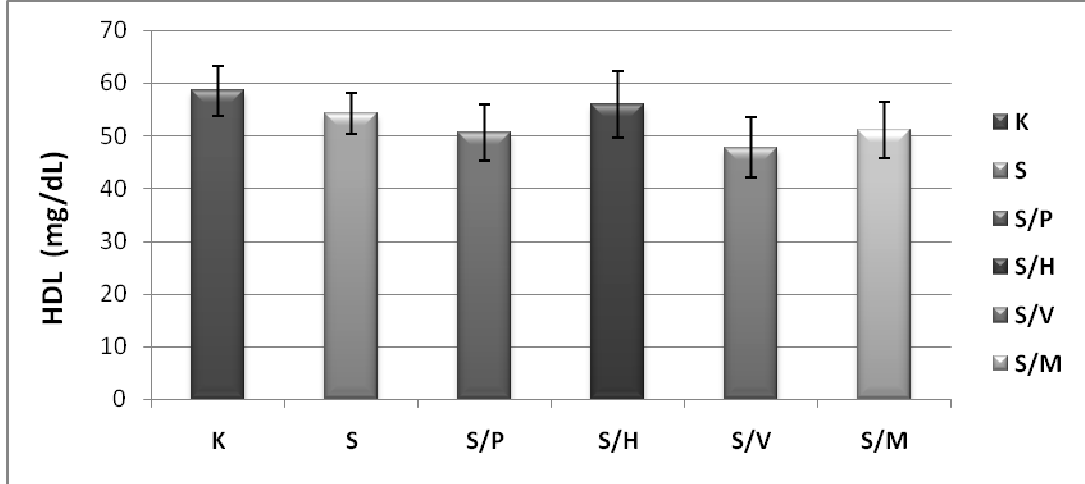
Şekil 4.38. Grupların kolesterol düzeyi

Kan serumunda bakılan lipid parametrelerinde stres ve uygulanan bitkilerin etkileri incelendi. Grupların kolesterol oranları K grubuna göre kıyaslandığında S ve S/V gruplarında azalma S/M grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) azalma olduğu, S/P ve S/H gruplarında ise anlamlı olmayan bir artış olduğu gözlemlendi. S grubuna göre kıyaslama yapıldığında ise S/P ve S/H gruplarında artış gözlenirken S/M grubunda anlamlı ($p < 0.05$) ve S/V grubunda ise anlamlı olmayan azalma meydana geldiği gözlemlendi.



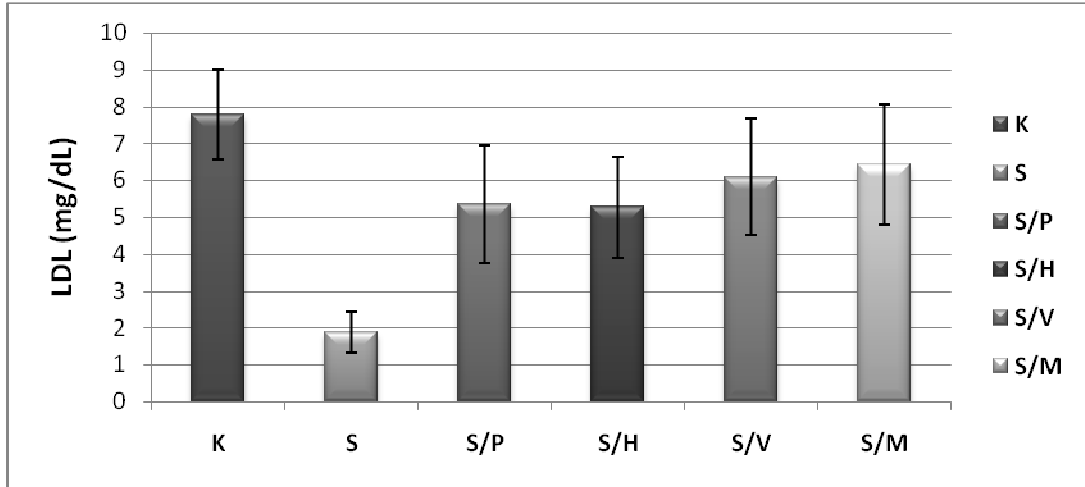
Şekil 4.39. Grupların trigliserit düzeyi

Grupların trigliserit oranlarına bakıldığında kontrole göre tüm stres gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) azalma olduğu gözlemlendi. Diğer gruplar S grubuyla karşılaştırıldığında S/M anlamlı olmayan, S/P, S/H ve S/V gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.40. Grupların HDL-kolesterol düzeyi

HDL oranları K grubuna göre kıyaslandığında S/P ve S/M gruplarında anlamlı ($p < 0.05$) diğer gruplarda anlamlı olmayan bir azalmanın olduğu tespit edilirken, S grubuna göre kıyaslama yapıldığında S/H grubu hariç diğer gruplarda anlamlı olmayan azalma olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.41. Grupların LDL-Kolesterol düzeyi

Grupların LDL oranları karşılaştırıldığında en fazla azalmanın S grubunda gerçekleştiği, bitki ekstresi uygulanan grupların kontrole doğru artış gösterdiği tespit edildi. LDL oranları K grubuna göre kıyaslandığında S, S/P ve S/H gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) S/V ve S/M gruplarında ise anlamlı olmayan bir azalma gözlemlendi. S grubuna göre tüm bitki gruplarında anlamlı ($p < 0.05$) artış olduğu tespit edildi.

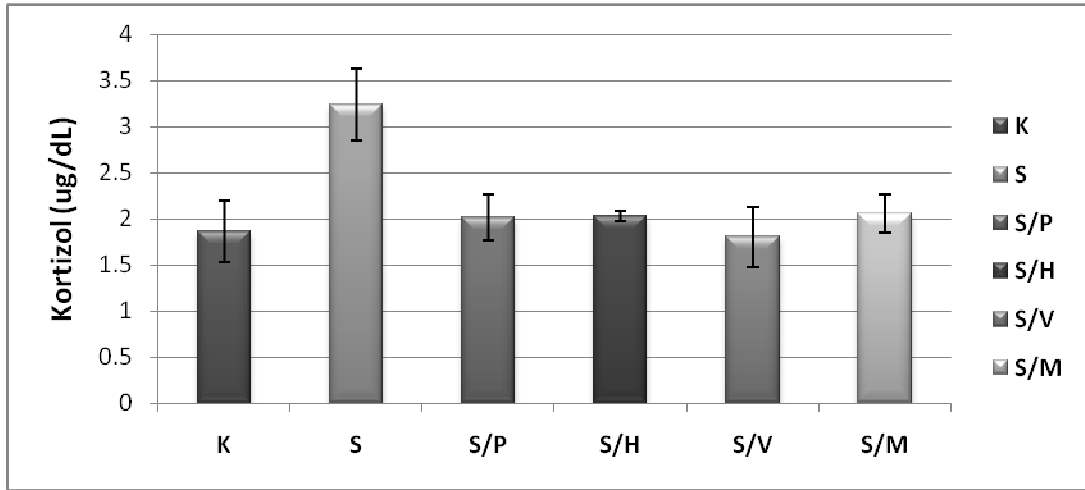
4.1.6.3. Hormon analiz sonuçları

Çizelge 4.12. Hormon analizleri (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
Kortizol (ug/dL)	1.9±0.3	3.2±0.4 ^a	2.0±0.3 ^b	2.0±0.1 ^b	1.8±0.3 ^b	2.0±0.2 ^b
Serbest T4 (ug/dL)	31.8±1.9	46.6±2.6 ^a	44.7±1.6 ^a	44.0±0.9 ^a	45.0±0.9 ^a	38.4±2.2 ^{ab}
Serbest T3 (ug/dL)	6.4±0.5	6.9±0.4	6.8±1.1	5.9±1.0	6.9±0.7	4.9±0.4 ^{ab}
Total T4 (ug/dL)	60.1±2.6	83.9±3.1 ^a	83.9±2.9 ^a	84.5±1.8 ^a	92.4±5.0 ^{ab}	77.6±4.6 ^{ab}

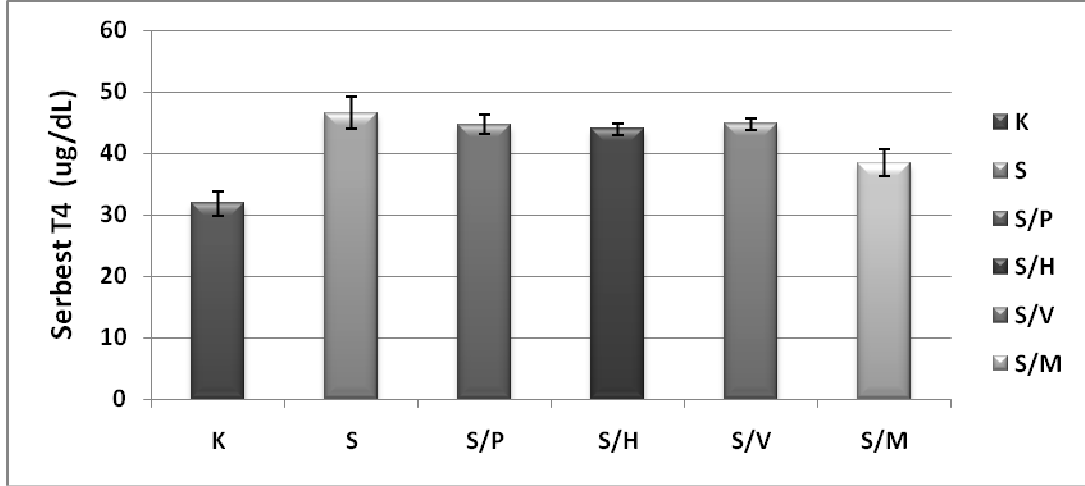
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$



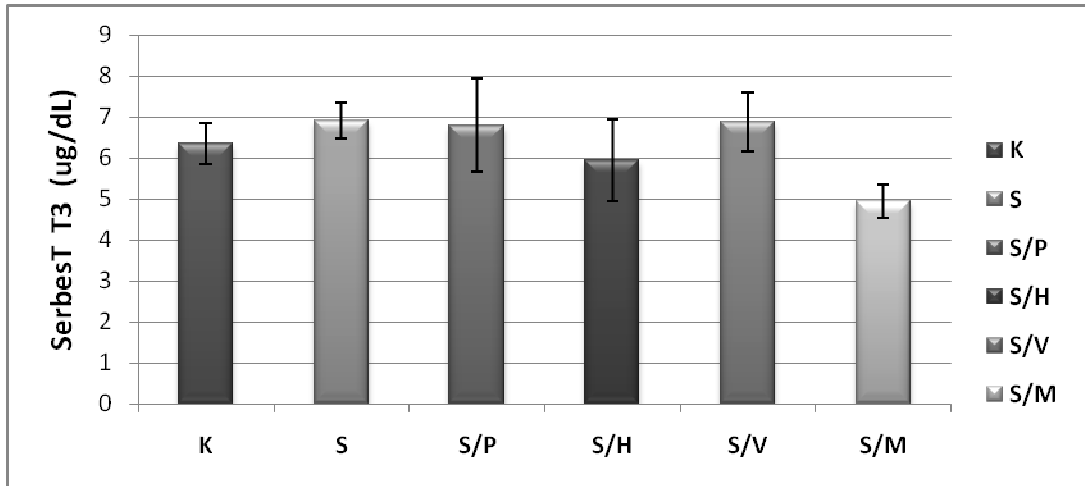
Şekil 4.42. Grupların plazma kortizol miktarları

Grupların kortizol düzeylerinde stres grubunda büyük bir artış görülürken, bitki gruplarında kontrole yakın düzeylerde bulunduğu gözlemlendi. Kortizol oranları K grubu ile kıyaslandığında S grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana geldiği görülürken bitki ekstresi uygulanan gruplarda belirgin bir değişim gözlenmedi. S grubuna göre tüm bitki gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir azalış meydana geldiği tespit edildi.



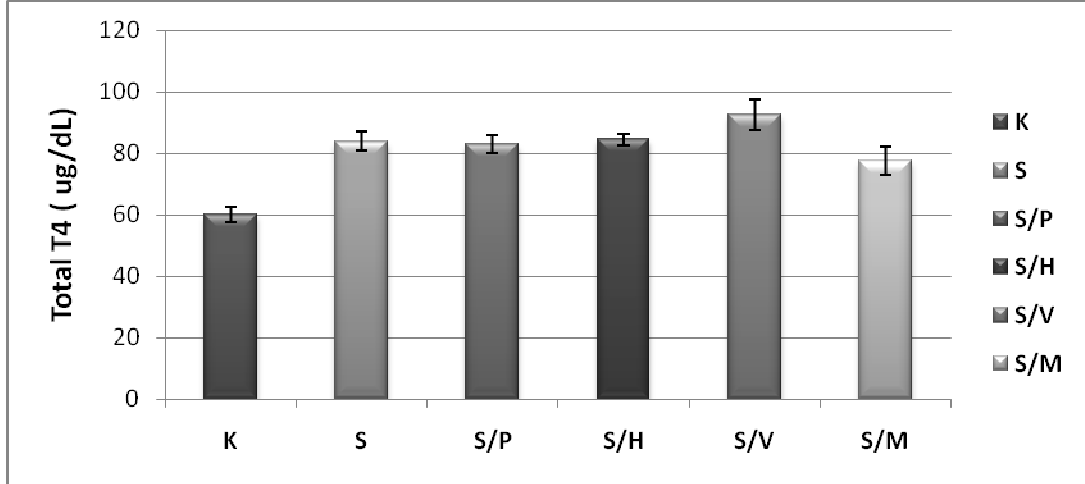
Şekil 4.43. Grupların plazma serbest tiroid- 4 miktarları

Serbest tiroid 4 oranlarına bakıldığında K grubuna göre tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) yükselme olduğu gözlenirken, S grubuna göre yalnızca S/M grubunda anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma görüldü.



Şekil 4.44. Grupların serbest tiroid-3 miktarları

Serbest tiroid 3 miktarları incelendiğinde K grubuna göre S/M grubu haricinde diğer gruplarda belirgin bir değişim gözlenmezken, S/M grubunda; K ve S gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma olduğu saptandı.



Şekil 4.45. Grupların total tiroid-4 miktarları

Grupların total tiroid 4 miktarı incelendiğinde K grubuna göre, tüm gruplarda anlamlı ($p < 0.05$) bir artış olduğu ve en fazla artışın S/V grubunda gerçekleştiği gözlemlendi. S grubuna göre bitki grupları kıyaslandığında S/M grubunda anlamlı ($p < 0.05$) azalma görülürken, S/V grubunda anlamlı artış gözlemlendi.

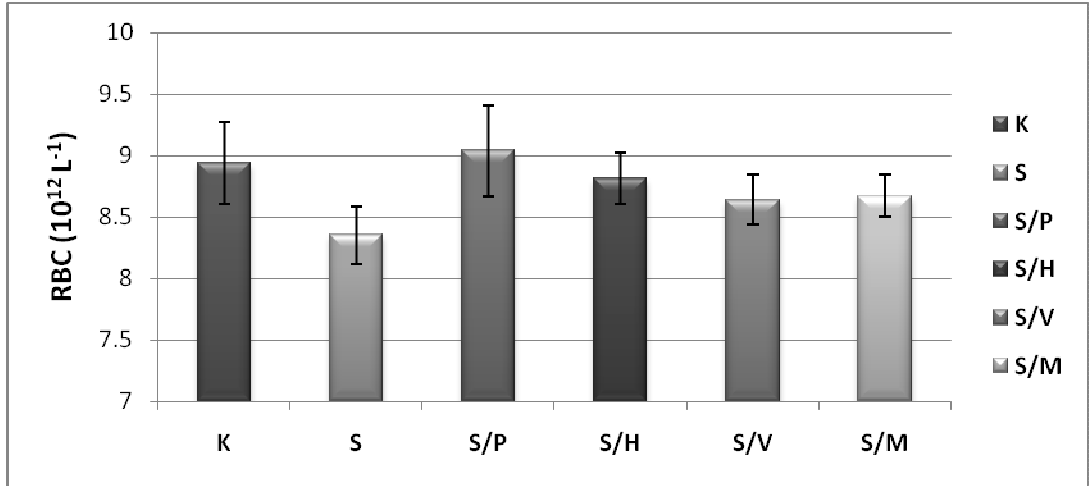
4.1.7. Hematolojik Bulgular

Çizelge 4.13. Hematolojik parametreler (Ortalama±Standart Sapma)

	K	S	S/P	S/H	S/V	S/M
Eritrosit ($10^{12} L^{-1}$)	8.9±0.3	8.4±0.2 ^a	9.0±0.4 ^b	8.8±0.2 ^b	8.6±0.2 ^b	8.7±0.2 ^b
Hemoglobin	17.0±0.7	16.1±0.4 ^a	16.6±0.7	16.1±0.5	16.4±0.4	15.8±0.5 ^a
Trombosit	892±67.1	753±30.6 ^a	853±50.9 ^b	845±43.3 ^b	770±38.2 ^a	823±42.9 ^b
Lökosit ($10^9 L^{-1}$)	4.6±0.3	2.3±0.1 ^a	2.8±0.2 ^{ab}	3.0±0.3 ^{ab}	3.6±0.3 ^{ab}	2.8±0.4 ^{ab}
Lenfosit ($10^9 L^{-1}$)	2.3±0.4	1.3±0.1 ^a	1.5±0.2 ^a	1.8±0.1 ^{ab}	2.2±0.1 ^b	1.2±0.2 ^a
Granülosit ($10^9 L^{-1}$)	1.5±0.18	0.8±0.08 ^a	0.9±0.07 ^a	1.4±0.05 ^b	1.0±0.06 ^{ab}	1.2±0.04 ^{ab}
Monosit ($10^9 L^{-1}$)	1.2±0.06	0.4±0.05 ^a	0.4±0.04 ^a	0.4±0.03 ^a	0.5±0.07 ^{ab}	0.4±0.05 ^a
%Lenfosit	55.8±4.9	43.8±2.5 ^a	50.4±4.6 ^b	54.6±3.2 ^b	57.1±5.2 ^b	44.2±4.9 ^a
%Monosit	23±0.83	14±0.5 ^a	15±0.56 ^a	14±0.5 ^a	17±0.82 ^{ab}	15±0.59 ^a
%Granülosit	30±1.07	28±1.08 ^a	35±0.95 ^{ab}	32±1.07 ^{ab}	31±0.88 ^b	44±0.56 ^{ab}

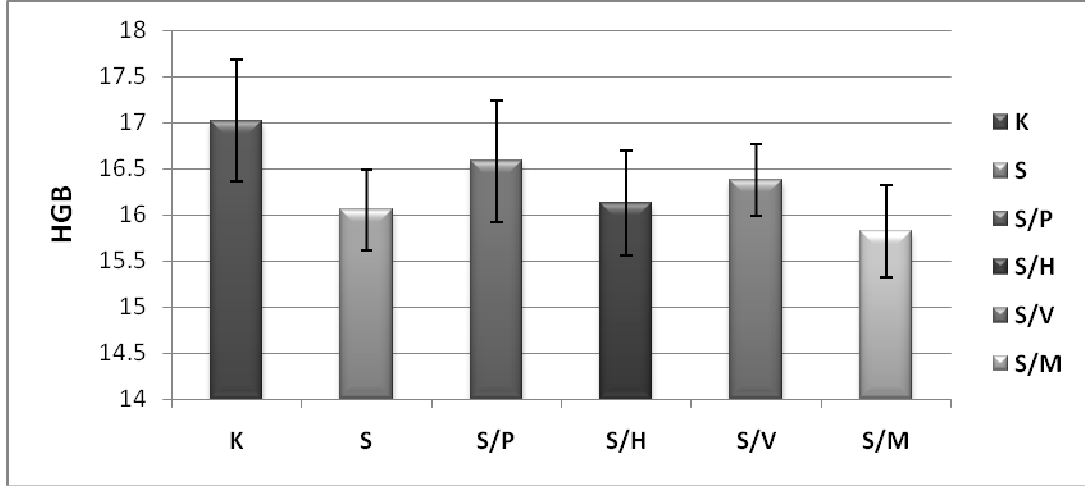
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$



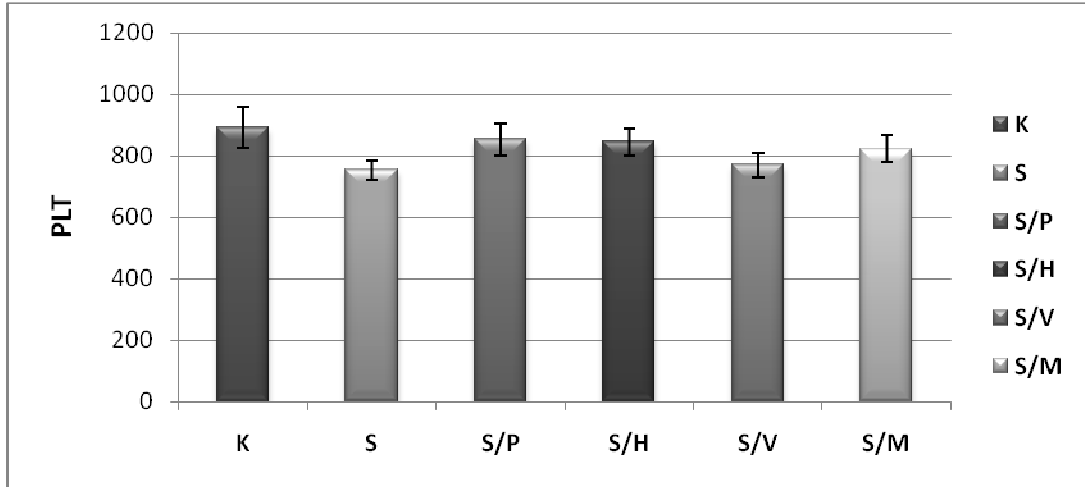
Şekil 4.46. Grupların eritrosit oranları

Grupların eritrosit (RBC) oranlarındaki değişim incelendiğinde; K grubuna göre yalnızca S grubunda anlamlı ($p < 0.05$) azalma olduğu gözlenirken diğer gruplarda anlamlı bir değişim gözlenmedi. S grubuna göre ise bitki ekstresi uygulanan tüm gruplarda anlamlı ($p < 0.05$) artma olduğu tespit edildi.



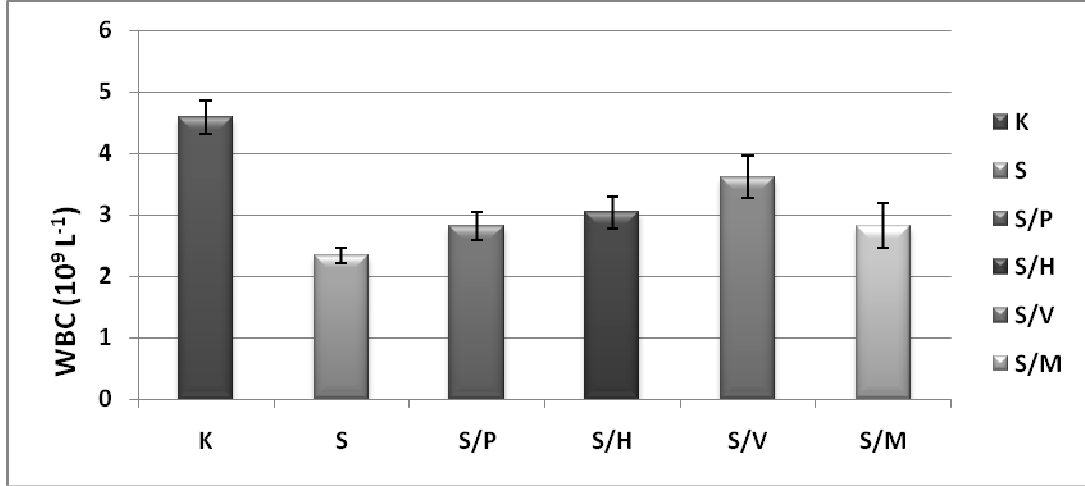
Şekil 4.47. Grupların hemoglobin miktarları

Hemoglobin oranları K grubuna göre S ve S/M gruplarında anlamlı ($p < 0.05$) azalma gösterirken diğer gruplarda anlamlı bir değişim gözlenmedi. S grubuna göre ise S/M grubunda azalma görülürken, diğer bitki gruplarında anlamlı bir değişim gözlenmedi.



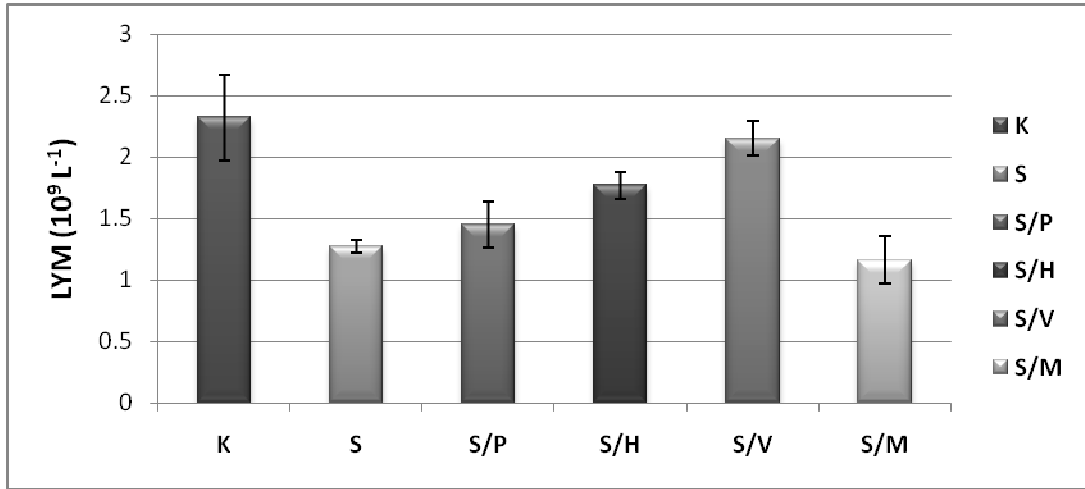
Şekil 4.48. Grupların trombosit oranları

Trombosit oranları incelendiğinde K grubuna göre S ve S/V gruplarında anlamlı ($p < 0.05$) azalma gözlenirken, diğer bitki ekstresi uygulanan gruplarda belirgin bir değişim gözlenmedi. S grubuna göre S/V grubu hariç diğer gruplarda anlamlı ($p < 0.05$) artış olduğu saptandı.



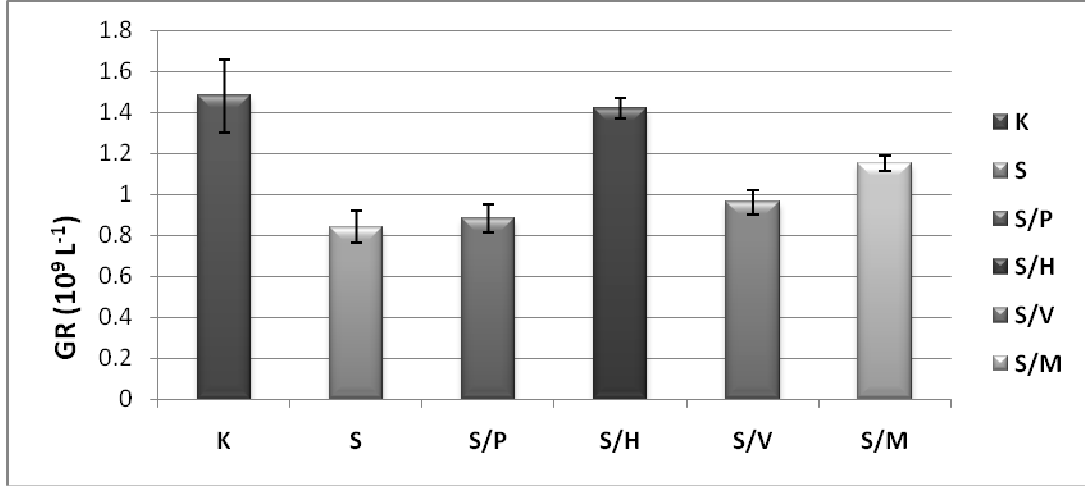
Şekil 4.49. Grupların lökosit oranları

Grupların lökosit oranları K grubuna göre tüm stres gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) azalma gerçekleştiği gözlemlendi. S grubuna göre kıyaslama yapıldığında bitki ekstresi uygulanan tüm grupların lökosit oranlarının anlamlı ($p < 0.05$) bir şekilde yükseldiği gözlemlendi.



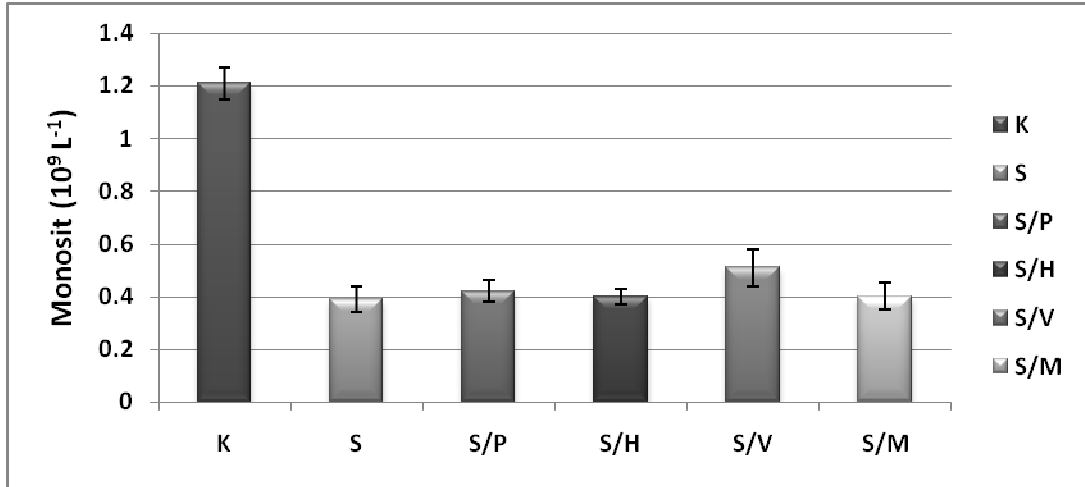
Şekil 4.50. Grupların lenfosit oranları

Lenfosit oranlarındaki değişim incelendiğinde; K grubuna göre S/V grubu hariç diğer gruplarda anlamlı ($p < 0.05$) azalma olduğu, en fazla azalmanın ise S/M grubunda gerçekleştiği gözlemlendi. S grubu bitki ekstresi uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında S/H ve S/V gruplarında anlamlı ($p < 0.05$) yükselme, S/P 'de anlamlı olmayan artış ve S/M grubunda anlamlı olmayan azalma olduğu tespit edildi.



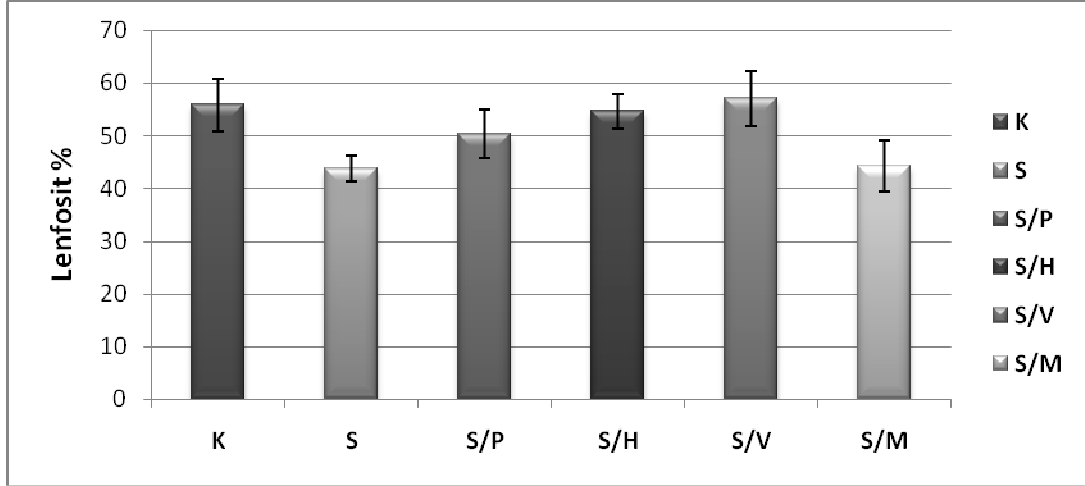
Şekil 4.51. Grupların granülosit oranları

Grupların granülosit değişimi incelendiğinde; K grubuna göre S/H grubu hariç diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) azalma olduğu ve en fazla azalmanın S grubunda gerçekleştiği gözlemlendi. S grubuna göre ise; S/H, S/V, S/M gruplarında anlamlı ($p < 0.05$), S/P grubunda ise anlamlı olmayan bir artış olduğu gözlemlendi.



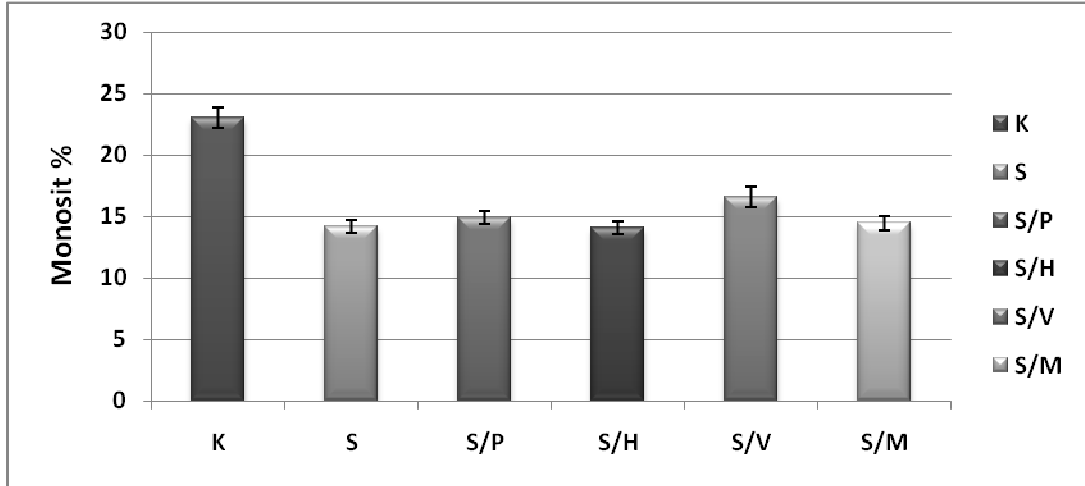
Şekil 4.52. Grupların monosit oranları

Monosit oranlarındaki değişim incelendiğinde tüm gruplarda kontrole göre anlamlı ($p < 0.05$) azalma ve en fazla azalmanın S grubunda olduğu gözlemlendi. S grubuna göre karşılaştırma yapıldığında S/P, S/H ve S/M gruplarında anlamlı olmayan artış, S/V grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) artış gözlemlendi.



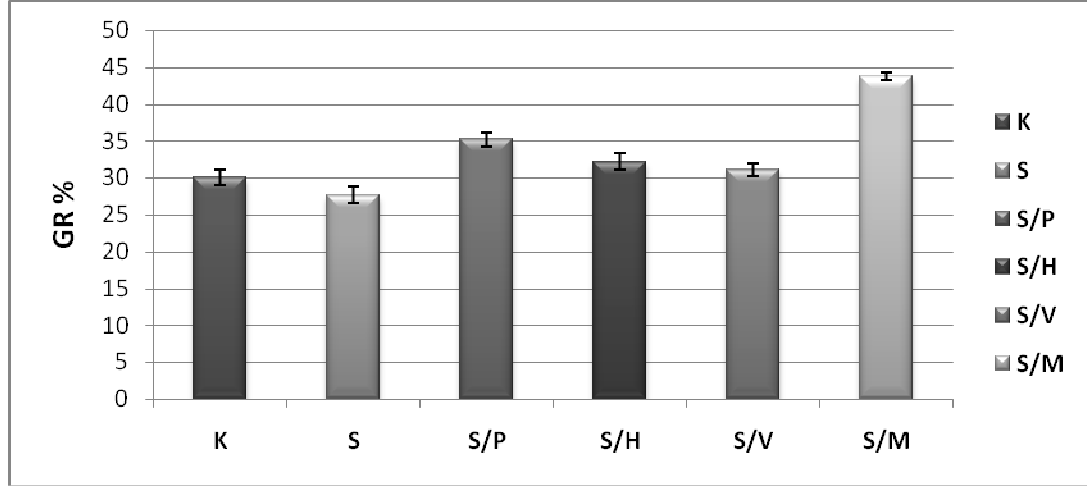
Şekil 4.53. Grupların yüzde lenfosit oranları

Yüzde lenfosit değişimleri incelendiğinde K grubuna göre; S ve S/M gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) azalma ve en fazla azalmanın S grubunda olduğu gözlenirken diğer bitki gruplarında anlamlı azalma gözlenmedi. S grubuna göre karşılaştırma yapıldığında; S/M grubu hariç diğer bitki gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) artış gözlemlendi.



Şekil 4.54. Grupların yüzde monosit oranları

Grupların yüzde monosit değişimleri incelendiğinde tüm stres gruplarının kontrole göre anlamlı ($p < 0.05$) bir şekilde azaldığı gözlenirken, S grubuna göre yalnızca S/V grubunun anlamlı ($p < 0.05$) artış gösterdiği diğer bitki gruplarında anlamlı bir artış olmadığı tespit edildi.



Şekil 4.55. Grupların yüzde granülosit oranları

Yüzde granülosit miktarındaki değişim oranları incelendiğinde; K grubuna göre, S grubunda anlamlı azalma ($p < 0.05$), S/P, S/H ve S/M gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış ($p < 0.05$) gözlenirken, S/V grubunun kontrole yakın bir oranda olduğu gözlemlendi. S grubuna göre karşılaştırma yapıldığında; tüm bitki gruplarında anlamlı bir artış ($p < 0.05$) olduğu tespit edildi.

4.2. Tartışma

Stres organizmanın normal fizyolojik dengesini bozan, homeostazisini tehdit eden durumlara karşı vücudun vermiş olduğu reaksiyonların toplamı şeklinde tanımlanabilir. Stres uluslararası kabul görmüş bir olgudur. Sanayileşmenin ilerlemesiyle bugün her insan stresli durumlara yüz yüzedir (Deepak ve ark., 2003).

İnsanların yaşamlarında meydana gelen çevresel, sosyal veya patolojik şartlar stresi meydana getirmektedir. Bu da sinir, endokrin ve immün sistemdeki değişimleri belirlemektedir. Geçen on yılda söz konusu olan bu sistemlerde, stresin neden olduğu nörolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimler üzerine önemli bulgular yayımlanmıştır (Chrousos ve Gold, 1992; Ueyama ve ark., 1997).

Stresin insanlar üzerinde meydana getirmiş olduğu etkiler, hayvanlar üzerinde çeşitli metotlar uygulanarak incelenmektedir. Hayvanlara uygulanan çeşitli stres metotları arasında hareketsizlik (immobilize stres) metodu, stresin indüklediği fizyolojik ve psikolojik değişim üzerine yapılan çalışmalarda genel kabul görmüş bir yöntemdir (Marty ve ark., 1997).

Stresin serbest radikal oluşumuna neden olduğu ve oksidasyona bağlı çeşitli doku hasarlarına neden olduğu çok iyi bilinmektedir (Toleikis ve Godin., 1995; Nishida ve ark., 1997; De Castro ve ark., 2000). Bir çok hastalığın oluşumunda bağlantısı olan stresin etkisini azaltmaya yönelik antistres etkili sedatif (adaptogen) özellik gösteren bitkiler üzerindeki araştırmalar büyük önem kazanmaktadır (D. Deepak ve ark., 2003). Bu amaçla çalışmamızda *Hypericum perforatum L.*, *Melissa officinalis L.*, *Valeriana officinalis L.* ve *Passiflora incarnata L.* bitkilerinin stres üzerindeki etkilerini araştırdık.

İmmobilize stres ile ilgili daha önce yapılmış olan çalışmaları şu şekilde sıralayabiliriz;

Liu ve ark., (1996); İmmobilize stresin neden olduğu oksidatif stresin sıçan beyin lipid, protein ve DNA hasarı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada

sıçanlara bir defa 8 saatlik uygulanan akut immobilize stresin beyin farklı bölgelerindeki (korteks, hipokampus, serebrum, serebellum) MDA, protein karbonil parametreleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir.

Oishi K. ark., (1999); Sıçanlara 6 saat (3 saat gündüz, 3 saat akşam) akut immobilize stres uyguladıkları çalışmada; sıçanların stres öncesi, stresten hemen sonra ve stres uygulamasının 48 saat sonrasında kan örnekleri kuyruk veninden alınarak, kan dokusunda meydana gelen hematolojik değişimler ile kan dokusundaki TBARS, SOD ve CAT gibi antioksidan parametreler incelendi. Çalışmada stres sırasında ve sonrasında plazma TBARS, eritrosit SOD ve CAT aktivitesinde belirgin bir artış, hematolojik parametrelerde eritrosit sayısında belirgin bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca stres esnasında monosit sayısının azaldığı, fakat stres sonrasında monosit sayısının normal seviye ulaştığını tespit etmişlerdir.

Yan Hu ve ark., (2000); Dehydroepiandrosteron (DHEA) hormonunun anti stres etkisini araştırmışlar. DHEA hormonunun kronik immobilize stres (2 saat x 60 gün) uygulanan sıçanların; vücut ağırlığı, dalak ve timus dokularının morfolojisi üzerindeki etkileri ile adrenal bez, karaciğer ve kalp dokuları üzerindeki GR (glukokortikoid reseptör), lipit peroksidasyonu, plazma kolesterol, trigliserit ve kortikosteron parametreleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır.

Davydov ve ark., (2001); İmmobilize stres sırasında yetişkin ve yaşlı sıçanların kalplerinde meydana gelen lipit peroksidasyon aktivitesini incelemiştir.

Al-Qirim ve ark., (2002); Khat bitkisinin immobilize stres sırasında oluşan serbest radikaller üzerindeki etkisini incelemek için yaptıkları çalışmada; sıçanlara günlük 4 saat olmak üzere 10 gün boyunca stres uyguladılar. Çalışmada immobilize stres uygulanan gruplarda SOD, CAT ve GST değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) azaldığı, buna rağmen antioksidan özellik gösteren ürik asidin ise arttığını bildirmişlerdir.

Rai ve ark., (2003); Brahmi (*Bacopa monniere*) bitkisinin stres üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada brahmi bitkisinin akut (150 dakika) ve kronik (150 dk x 7 gün) immobilize stres oluşturulmuş ratlar üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada stresin ülser üzerindeki etkisi de araştırıldığı için sıçanlar strese tabi tutulmadan önce bir gün a bırakılmıştır. Çalışma sonucunda stres grubunda ülser indeksinin, adrenal bez ağırlığının, plazma ALT, AST ve CK parametrelerinin belirgin bir şekilde arttığı, timus, dalak ağırlığı, plazma trigliserit ve kolesterol oranında da belirgin bir azalmanın meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Zahoor ve ark., (2003); Ginko'nun (*Ginko biloba*) günlük 1, 2 ve 4 saat olmak üzere 10 gün boyunca uygulanan immobilize stresin, plazma kortikosteron, beyin katekolamin ve serotonin üzerindeki etkisini incelemişlerdir.

Al-Qirim ve ark., (2003); Antioksidan vitaminlerinin (A,E,C) immobilize stresin neden olduğu oksidatif değişimler üzerindeki etkisini incelemişler. Bu çalışmada vitaminlerin; sıçanlara immobilize stres (toplam 6 saat) uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonraki etkileri ile vitaminlerin sıçanlara ayrı ayrı veya kombine şeklinde verilmesi sonucu, plazma SOD, CAT ve MDA üzerindeki etkileri incelenmiştir.

İzgt-Uysal ve ark., (2004); İmmobilize stresin (4 C'de 4 saat) neden olduğu lipit peroksidasyonun, sıçan peritoneal makrofaj fonksiyonu üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Ayrıca bu çalışmada vitamin E'nin mevcut sistem üzerindeki etkisi de incelenmiştir.

Nadeem ve ark., (2005); L-Name (N-nitro-L- arjinin metil ester) ve vitamin E'nin immobilize stres oluşturulmuş sıçanların ekstraselüler oksidan-antioksidan dengesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada sıçanlara akut (1 saat) ve kronik (1saat x 7 gün) immobilize stres uygulanarak, belirtilen maddelerin lökosit SOD, plazma demir bağlama, lipit peroksidaz, protein sülfidril, total nitrit ve nitrat parametrelerine etkisi araştırılmıştır.

Stojiljkovic ve ark., (2005); Akut ve kronik stresin sıçanların hipokampus bölgesindeki antioksidan sisteme olan etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada sıçanlara 4°C'de 2 saatlik immobilize stres uygulanarak; hipokampus bölgesindeki Mn-SOD, Cu-Zn-SOD ve CAT aktiviteleri incelenmiştir.

Filipovic ve ark., (2005); Çeşitli stres durumları uygulanmış sıçanların hipokampus ve korteks bölgelerinde Cu-Zn Süperoksid dismutazın etkilerini incelemiştir. Bu çalışmada sıçanlara akut ve kronik immobilize stres ile birlikte soğuk ve yüzdürme gibi farklı stresörler bir arada uygulanarak beyin üzerindeki SOD aktivitesi incelenmiştir.

Şahin ve Gümüşlü., (2007); Immobilize stresin çeşitli dokuların antioksidan, protein ve lipit peroksidasyonu üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bu çalışmada sıçanlara uygulanan immobilize stresin (3 saat x 15 gün) beyin, karaciğer, böbrek, kalb ve mide dokularının SOD, Se-GSH-Px, protein karbonil, GSH, CAT, TBARS ve CD (Conjuge dien) üzerindeki etkilerini araştırmışlardır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular sonucunda kontrol grubuna göre; tüm stres gruplarında kilo kaybı olduğu, en fazla kilo kaybının stres grubunda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1 ve 4.2.). Kontrol grubuna göre grupların yem ve su tüketimlerinin tüm stres gruplarında azaldığı, en az tüketimin stres grubunda olduğu, diğer bitki gruplarının yem ve su tüketim verilerinin ise; stres ile kontrol grupları arasında seyrettiği gözlemlendi (Şekil 4.4 ve 4.6).

Stres sonucu kilo kaybı meydana geldiği pek çok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir. Kilo kaybının ya yem ve su tüketiminin azalmasından ya da artan metabolik aktivitenin sonucu vücut rezervlerinin tüketilmesi sonucu olduğu tespit edilmiştir (Gagnon J, 1987; Alexandrova ve Farkas, 1992; Herman ve ark, 1995). Uzun süreli stres durumlarında adaptasyon durumu gerçekleştiğinden dolayı sıçanların ağırlık kaybının azaldığı tespit edilmiştir. Fakat kısa süreli stres (akut) durumlarında kaybedilen ağırlıkta artış olduğu pek çok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (Yan ve ark., 2000).

Elde ettiğimiz veriler sonucunda uygulanan subakut immobilize stres (2 saat x 7 gün) sırasında meydana gelen kilo kaybının; artan metabolik aktivite sonucu mevcut rezervlerin tükenmesi ile stres sonucunda yem ve su tüketiminin azalmasına bağlı olarak gerçekleştiği sonucuna varmamıza neden olmaktadır. Kullandığımız bitki ekstraktları ise; ya stresin neden olduğu aşırı metabolik aktiviteyi azaltarak ya da sıçanların su ve yem tüketimlerini stres grubuna göre artırarak kilo kaybını azalttığını düşünüyoruz.

Çalışmamızda sıçanlara uygulanan subakut immobilize stresin serum, beyin ve mide dokularında meydana gelen MDA oranlarını tespit ettik. Serumdaki MDA oranının kontrol grubuna göre yalnızca S grubunda yükseldiği, bitki ekstresi verilen gruplarda ise kontrole yakın ya da kontrolden düşük seviyede olduğu tespit edildi (Şekil 4.7). Beyin dokusunda ise kontrole göre S ve S/V gruplarında anlamlı artış ($p<0.05$) olduğu, kullanılan bitki ekstrelerinden S/H, S/P ve S/M gruplarının beyin MDA seviyesini farklı oranlarda anlamlı ($p<0.05$) düşürerek kontrol seviyesine yakın bir değerde tuttukları tespit edildi (şekil 4.8). Mide MDA oranları kontrol grubu ile kıyaslandığında stres uygulanan gruplardan S, S/P ve S/H gruplarında anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu ve en fazla artışın S grubunda gerçekleştiği gözlenirken, S/V ve S/M gruplarında anlamlı bir artış olmadığı gözlemlendi. Stres grubu ile karşılaştırma yapıldığında tüm bitki gruplarının mide MDA değerlerinin farklı oranlarda azaldığı tespit edildi (Şekil 4.9).

Stres sırasında lipit peroksidasyonun arttığı pek çok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (Oishi ve Machida., 2002; Al-Qirim ve ark., 2003; Şahin ve Gümüşlü, 2007). Lipit peroksidasyonu membran bütünlüğünü bozarak, doku hasarının meydana gelmesine neden olmaktadır. Stres sırasında aktivitesi artan HPA aksı plazmadaki serbest yağ asidi oranını artırarak serbest radikal oluşumunun aktive olmasına neden olurken antioksidan enzim aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır (Zezerov ve ark., 1987; Seçkin ve ark.,1997).

Çalışmamızda incelenen dokularda meydana gelen MDA oranları kıyaslandığında; en fazla lipit peroksidasyon artışının serum ve beyin dokusunda, en az artışın ise mide dokusunda olduğu tespit edildi. Kullanılan bitki ekstrelerinin ise farklı dokulardaki MDA miktarlarını farklı oranlarda düşürerek stresin neden olduğu lipit peroksidasyonunu azalttığını tespit ettik. Yapılan tespitler kullanılan bitkilerin sedatif etkileri sonucu HPA aktivitesini normal düzeye getirmesi, antioksidan özellik göstermesi ya da bahsedilen her iki özelliği bir arada göstermesinin sonucu olduğunu düşünüyoruz.

Grupların eritrosit katalaz oranlarının kontrole göre; tüm stres gruplarında azaldığı, en fazla azalmanın S/V grubunda gerçekleştiği, diğer bitki gruplarının S grubuna göre artış göstererek kontrol grubuna yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi (Şekil 4.10). Beyin katalaz miktarlarında en düşük oranın S ve S/V grubunda olduğu, diğer bitki gruplarından S/H ve S/P gruplarının kontrole yakın oranlarda, S/M grubunun ise kontrolden biraz yüksek oranda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.11). Grupların mide katalaz miktarları kontrol grubuna göre kıyaslandığında; en fazla azalmanın S grubunda olduğu, S/P, S/H ve S/V gruplarının kontrole yakın seviyede, S/M grubunda ise kontrole göre yüksek seviyede olduğu gözlemlendi (Şekil 4.12).

Oishi ve ark., (1999) yaptıkları 6 saatlik immobilize stres (3 saat gündüz, 3 saat akşam) çalışmasında eritrosit katalaz (CAT) aktivitesinin, eritrosit sayısının azalmasına rağmen stres öncesi duruma göre; stresten hemen sonra ($p < 0,05$) ve stresten 48 saat sonra ($p < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu tespit etmelerine rağmen, Şahin ve Gümüş, (2007), Al-Qirim ve ark., (2002) ise kontrol grubuna göre stres uygulanan sıçanlarda eritrosit, beyin ve mide CAT aktivitelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmalarda farklı sonuçlar alınmasının nedeni olarak uygulanan stres süresinin ve stres uygulanan zamanın farklılığından kaynaklandığını düşünüyoruz. Oishi ve ark. 6 saatlik akut stres uygularken, Şahin ve Quirim arkadaşları subakut ve kronik stres uygulamışlardır. Çalışmamızda da Şahin ile Al-Qirim ve arkadaşlarının bulgularını destekler nitelikte bir sonuç aldık. Kullandığımız bitki ekstreslerinin katalaz (CAT) aktivitelerini stres grubuna göre artırarak enzimatik antioksidan aktiviteyi artırdığı sonucuna vardık.

Eritrosit GST oranları K grubuna göre; S, S/V ve S/M gruplarında azaldığı, S/P ve S/H gruplarının ise kontrolle aynı oranda olduğu gözlemlendi. S grubuna göre ise; S/M hariç diğer bitki gruplarında artış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.13). Grupların beyin GST oranları kontrol grubuna göre kıyaslandığında; S ve S/P gruplarında azalma ve en fazla azalmanın S grubunda olduğu gözlenirken, diğer bitki gruplarının kontrole göre yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi (Şekil 4.14). Mide GST oranları kontrol grubuna göre; azalmanın yalnızca S grubunda olduğu, S/P ve S/M gruplarının kontrolle aynı seviyede, S/H ve S/M gruplarında ise kontrole göre artış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.15). Stres grubu ile bitki grupları karşılaştırıldığında tüm bitki gruplarının GST oranında artış olduğu gözlemlendi.

Al-Qirim ve arkadaşlarının 2002 ve 2003'de yaptıkları çalışmalarda immobilize stres uygulanan sıçanlarda plazma GST aktivitesinin azaldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar bulgularımızı destekler niteliktedir. Ayrıca çalışmamız sonucunda eritrosit, beyin ve mide GST oranlarının stres sonucunda azaldığı sonucunu elde ettik. Kullandığımız bitki ekstralarının GST oranını stres grubuna göre artırarak antioksidan sisteme destek sağlamıştır.

Stres uygulanan grupların serum GSH miktarları kontrol grubuna göre; S grubunda azalırken, tüm bitki gruplarında artış olduğu, bu artışın S/H, S/V ve S/M gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olduğu gözlemlendi (Şekil 4.16). Beyin GSH seviyesi kontrol grubuna göre; tüm stres gruplarında azaldığı, bitki gruplarından S/H ve S/M gruplarının kontrole yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi (Şekil 4.17). Grupların mide GSH oranları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; en fazla azalmanın S grubunda, S/H grubunda ise anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu ve diğer bitki gruplarının kontrole yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi. Stres grubuna göre ise; tüm bitki gruplarında farklı oranlarda artış olduğu ve S/M grubunda anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu saptandı (Şekil 4.18).

Şahin ve Gümüşlü, (2007); Sıçanlara uyguladıkları immobilize stres (180 dk x 15 gün) sonucunda beyin ve mide dokularındaki MDA oranlarını arttırdığını

antioksidan aktivitelerinden katalaz ve GSH miktarının stres grubunda azaldığını tespit etmeleri çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları destekler niteliktedir. Çalışmamızda kullanılan bitki ekstralarının GSH miktarını farklı oranlarda artırması, kullanılan bitki ekstralarının antioksidan etki mekanizmasını güçlendirdiği sonucunu çıkarmaktadır.

Ürik asit S ve S/P gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükselirken ($p<0.05$), S/H, S/M ve S/V gruplarında stres grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ($p<0.05$) görüldü (şekil 4.19). Albümin miktarında tüm gruplar K grubu ile kıyaslandığında S grubunun azaldığı görülürken, tüm bitki gruplarının K grubuna göre artış gösterdiği tespit edildi (Şekil 4.21).

Plazmada bulunan askorbik asit, α tokoferol ve ürik asit gibi küçük moleküller plazmadaki birincil antioksidan sistemi oluşturmaktadır (Aruoma ve Hallivell.,1989; Wang ve ark.,1992). Seruloplazmin, albumin, transferrin ve haptoglobin önemli biyolojik antioksidanlardır. Kan plazmasında bulunan metabolitler ve enzimler antioksidan sistemde önemli rol oynamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Ürik asit oksidatif stres sırasında ksantin oksidaz aktivitesi sonucu oluşturulan serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırmak için, organizma tarafından üretilen antioksidanlardan biridir (Davies ve ark.,1986). Al-Qirim ve ark., (2002) yaptıkları çalışmada (4 saat x 10gün) immobilize stres sırasında ürik asit miktarında istatistiksel olarak anlamlı artış meydana geldiğini saptadılar. Çalışmamızda da kontrol grubuna göre stres gruplarında ürik asit miktarında artış meydana geldiğini tespit ettik. Kullandığımız bitki gruplarındaki ürik asit miktarının azalmasının, bu bitkilerin ürik asidin yaptığı antioksidan özelliği farklı bir antioksidan mekanizmayla giderdiği için ürik asitin antioksidan aktivitesini azaltmıştır diye düşünüyoruz.

ALT (Alanin aminotransferaz) miktarı tüm bitki gruplarında K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış olduğu gözlenirken, S grubunda ise K grubuna göre bir azalma meydana geldiği, tüm bitki grupları S grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ($p<0.05$) bir artış meydana geldiği saptandı (Şekil 4.25).

S/P grubu hariç tüm gruplarda AST (Aspartat aminotransferaz) miktarı kontrol (K) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir değişim göstermektedir. S grubu diğer gruplar ile kıyaslandığında tüm gruplarda kontrole yaklaşan anlamlı ($p < 0.05$) bir artış meydana geldiği gözlenirken, S/V ve S/M gruplarında kontrol grubunu da aşan bir artış meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 4.24).

Stres esnasında ALT, AST, CK ve glikoz oranında meydana gelen belirgin artışın; merkezi sinir sistemi, kas gibi enerji ihtiyacı oluşan organlara yeterli oranda enerji elde etmek için yüksek oranda salgılanan adrenalin ve kortikosteronlar nedenidir. (Deepak ve ark., 2003). Sempatik sinir sistemi ve artan stres hormonları metabolizma üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Akut stres esnasında ihtiyaç duyulan glikoz karaciğerde artan glukojenoliz olayı ile sağlanır. Fakat kronik stres sırasında bu kaynak tükenir. Bu nedenle ikincil enerji kaynağı olarak yağlar kullanılır ve kortikosteron yanıtı olarak glukoneogenez başlar. ALT ve AST enzimleri alanin ve aspartik asidin α -amino gruplarını α -ketoglutarata transfer ederek sırasıyla pirüvik asit ve okzalasetik aside katalizler. ALT karaciğerde bulunurken AST kalp, beyin ve kas gibi birçok dokuda bulunmaktadır. Bu enzimlerin aracılığıyla amino asitler sitrik asit döngüsüne girer (Deepak ve ark., 2003).

Rai ve arkadaşları (2003) uyguladıkları stres modelinde, stres uygulamadan önce sıçanları bir gün aç bıraktıkları için stres uygulamasının başlangıcında artan metabolik aktivite sonucu gereksinim duyulan enerji; birincil enerji kaynakları açlık esnasında tükendiği için ikinci ve üçüncül enerji kaynaklarının kullanılmasını gerektirmiştir. Bundan dolayı stres uygulamasının ilk saatlerinde protein katabolizması başlamıştır. Protein katabolizması ise aminoasit taşınım mekanizması olan ALT, AST ve bunlara bağlı diğer enzim aktivitelerinin artışına neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda sıçanları aç bırakmadığımız ve günlük 120 dk stres uyguladığımızdan dolayı stres başlangıcında birincil enerji kaynakları kullanılmaya başlamış, stresin sonlarına doğru ise ancak ikincil enerji kaynakları kullanılmıştır. Stres esnasında organizma homeostaziyi sağlamak için gereksinim duyulan mekanizmaları aktifleştirirken, stres esnasında gereksinim duyulmayan mekanizmaların aktivitesini azaltmaktadır. Bundan dolayı ALT, AST ve bunlara

bağlı enzim sitemlerinde azalma meydana geldiğini düşünüyoruz. Kullanılan bitki ekstraları ise mevcut homeostazinin kurulmasına bir derece yardımcı olduğu için mevcut enzimler kontrol grubuna yakın seviyelerde oldukları gözlemlendi.

Serum glukoz oranlarına bakıldığında K grubuna göre tüm stres gruplarında artış olduğu, kullanılan bitki ekstralarının glukoz seviyesini farklı oranlarda düşürerek kontrol seviyesine yakın bir değerde tutmaları tespit edildi. K grubuna göre en fazla S grubu olmak üzere tüm stres gruplarında anlamlı ($p<0.05$) bir artış olduğu, S grubuna göre ise tüm bitki gruplarının glikoz oranında anlamlı ($p<0.05$) bir azalmaya neden olduğu tespit edildi (Şekil 4.37).

Kortikosteron ve epinefrinin hiperglisemik etkiye sahip olduğu başka araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (Armario ve ark., 1996; K-Fougia ve ark., 2002). Eksojen olarak verilen kortikosteronun (dexamethasone) hiperglisemiye ve insülin direncine neden olarak glukoz transportunu engellediği tespit edilmiştir (Nicolson, 1997). Stres sırasında homeostaziyi kurmak için yüksek oranda gerekmektedir. Vücut enerjisi elde etmek için gerekli olan glukozu elde etmek için glukokortikoidler sentezler. Sentezlenen glukokortikoidler glukoliz ve glukoneogenez olaylarını aktifleştirerek plazma glukoz seviyelerinin artışına neden olmaktadır (Yan ve ark., 2000). Bundan dolayı glukoz seviyesi en önemli stres belirteçlerinde biridir. Çalışmamızda tüm stres gruplarında glukoz seviyesinin yükseldiğini gözlemlerken bitki ekstresi verilen grupların glikoz düzeyinin kontrole yakın seviyelerde yayılış gösterdiğini gözlemledik. Bundan dolayı kullandığımız bitkilerin stresi etkisini azaltıcı rol oynadığını düşünüyoruz.

Grupların trigliserit oranlarına bakıldığında kontrole göre tüm stres gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu gözlemlendi. Diğer gruplar S grubuyla karşılaştırıldığında S/M anlamlı olmayan, S/P, S/H ve S/V gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.39). Grupların kolesterol oranları K grubuna göre kıyaslandığında S ve S/V gruplarında azalma S/M grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu, S/P ve S/H gruplarında ise anlamlı olmayan bir artış olduğu gözlemlendi. S grubuna göre kıyaslama yapıldığında ise S/P ve

S/H gruplarında artış gözlenirken S/M grubunda anlamlı ($p<0.05$) ve S/V grubunda ise anlamlı olmayan azalma meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 4.38).

Akut stres sırasında lipit profilinin değişim gösterdiği pek çok araştırmacı tarafından tespit edilmesine (Yan ve ark., 2000) rağmen plazma kolesterol, trigliserit profilinin akut stres esnasında değişmediğini tespit eden (Gordoa ve ark., 1994) araştırmacılar bulunmaktadır. Yan hu ve ark. (2000) yaptıkları kronik stres (2saat x 60 gün) çalışmasında kolesterol ve trigliserit oranlarında azalma tespit etmişlerdir. Çalışmamızda uygulanan subakut stres (2saat x 7 gün) sonucunda tüm grupların kolesterol miktarları arasında belirgin bir değişim olmadığı, fakat trigliserit oranlarının belirgin bir şekilde değişim gösterdiğini tespit ettik. Trigliserit oranının stres gruplarında düşük olması, subakut stres esnasında gerekli olan enerji ihtiyacı için ikincil enerji kaynaklarının kullanıldığını göstermektedir.

Grupların kortizol düzeylerinde stres grubunda büyük bir artış görülürken, bitki gruplarında kontrole yakın düzeylerde bulunduğu gözlemlendi. Kortizol oranları K grubu ile kıyaslandığında S grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana geldiği görülürken bitki gruplarında belirgin bir değişim gözlenmedi. S grubuna göre tüm bitki gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bir azalış meydana geldiği tespit edildi (Şekil 4.42).

Hem akut hem de kronik stres durumlarında organizma meydana gelen değişimlere karşı HPA aktivasyonu ve bunun sonucunda da adrenal bezlerde hipertrofi durumlarına neden olarak organizmayı stresin zarar verici etkilerine karşı korur (McEven, 2000; Makara ve Haller, 2001). Sempatik sinir sistemi stres yanıtı olarak adrenal kortekste kortikosteron, adrenal medullada ise epinefrin salgılanmasını aktive eder (Selye, 1950; Walker ve ark., 1986). Bu hormonların vücudun stres yanıtına karşı organizmayı yönetmesi ve strese karşı mücadele etmesi için gerekli olduğuna inanılmaktadır (Deepak ve ark., 2003).

Plazma kortikosteron miktarı yapılan akut stres (2 saat) çalışmalarında dramatik bir artış gösterdiği (Lemberger ve ark., 1996; Spencer ve ark., 1993) tespit

edilirken, uzun süreli kronik stres çalışmalarında (2 saat x 60 gün) hayvanlarda gelişen adaptasyon durumundan dolayı kortikosteron oranında belirgin bir artış meydana gelmediği tespit edilmiştir (Yan Hu, 2000). Kortizol stres mekanizmasının oluşumunda rol oynayan en önemli stres belirteçlerinden biridir. Kortizol seviyesinde meydana gelen değişim stres seviyesinin ölçülmesinde kullanılmaktadır. Çalışmamızda önceki çalışmaları destekleyici sonuçlar alınmıştır. Elde edilen bulgular sonucunda kullandığımız bitki ekstreslerinin kortizol seviyesini düşürdüğü dikkate alınır, bu bitkilerin antistres etkili olduğu sonucuna varmamıza neden olmaktadır.

Grupların eritrosit oranlarındaki değişim incelendiğinde; K grubuna göre yalnızca S grubunda anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu gözlenirken diğer gruplarda anlamlı bir değişim gözlenmedi. S grubuna göre ise tüm bitki gruplarında anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu saptandı (şekil 4.46).

İmmobilize stres sırasında eritrositlerin sitozolunda bulunan antioksidan enzimlerin düşük aktivite göstermesi eritrositlerin kan dolaşımındaki sayısının azalmasına neden olmaktadır. Buna benzer olaylarda örneğin iskemi-reperfüzyon hasarlarında; hücre içinde bulunan SOD ve H_2O_2 yok eden enzimler artan O_2^- ve H_2O_2 üretimi karşısında yetersiz kalmaktadır (Gutteridge ve Halliwell., 1990). Artan H_2O_2 hemoglobin molekülünün HEM halkasının yapısını bozarak demir iyonlarının serbest hale geçmesine neden olur. Serbest demir iyonları OH^- üretimini aktifleştirir. Artan OH^- , lipid peroksidasyonuna neden olarak hücrenin lize olmasına neden olur (Atamna ve Ginsburg, 1995). Ayrıca oksidatif hasara uğramış olan eritrositler makrofajlar tarafından tanınarak yok edilir (Sambrano ve ark., 1994). Yapılan bu gözlemler immobilize stres sırasında artan serbest radikaller sonucu eritrosit sayısının azaldığını göstermektedir.

Lenfosit oranlarındaki değişim incelendiğinde; K grubuna göre S/V grubu hariç diğer gruplarda anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu, en fazla azalmanın ise S/M grubunda gerçekleştiği gözlemlendi. S grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında S/H ve S/M gruplarında anlamlı ($p<0.05$) yükselme görülürken S/M grubunda azalma

olduğu tespit edildi (Şekil 4.50). Monosit oranlarındaki değişim incelendiğinde tüm gruplarda kontrole göre anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu, en fazla azalmanın S grubunda olduğu gözlemlendi. S grubuna göre karşılaştırma yapıldığında ise S/P, S/H ve S/M gruplarında anlamlı olmayan bir artış gözlenirken, S/V grubunda istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) artış gözlemlendi (Şekil 4.52).

İmmobilize stres periferik kan dolaşımındaki lenfosit alt birimlerinin (monosit, eozonofil) sayısında, yüzdesinde seçici ve hızlı bir şekilde geniş çaplı önemli değişimlere neden olmaktadır. Ayrıca stres sonrasında nötrofil ve monosit sayısında hızlı bir artış gerçekleşmektedir (Dhabhar ve ark., 1995).

Dhabhar ve arkadaşlarına (1995) göre lenfosit sayısındaki azalmasında en büyük role, stres cevabı olarak adrenal bezler tarafından sentezlenen hormonların sahip olduğunu ileri sürmektedir. Stres sırasında plazma konsantrasyonu artan kortikosteronlar bu olaya neden olmaktadır (Dhabhar ve ark., 1995). Artan kortikosteronlar, monosit ve lenfosit sayısında azalmaya neden olurken nötrofil oranında artışa neden olmaktadır. Bundan dolayı psikolojik stres altındaki sıçan (Kang ve McCarthy, 1994) ve insanlarda (Kihara ve ark., 1994) nötrofillerden kaynaklanan süper oksit (O_2^-) radikalinde artış meydana gelmektedir.

İmmün hücre aktivasyonu strese bağlı ROS (serbest radikal) üretiminin bir kaynağı olabileceği ve immün hücrelerdeki antioksidan enzimlerin ROS'a bağlı oluşabilecek hasarları önlemede önemli rol oynadığı düşünülmektedir (De Castro ve ark., 2000; Babior, 2000; Victor ve ark., 2003). İmmün hücrenin fonksiyonunu yerine getirmesi için membran bütünlüğünü ve fonksiyonelliğini koruması, önemli olduğundan dolayı immün hücrelerde oksidan-antioksidan dengesi çok kritik bir özelliğe sahiptir (Knight, 2000). İmmün hücrelerin; plazma membranlarında doymamış yağ asitlerinin bulunması ve normal fonksiyonları esnasında ROS üretmelerinden dolayı oksidatif strese oldukça duyarlıdırlar (Pawlak ve ark., 1998; Knight, 2000). Ayrıca membrana bağlı fonksiyonlarını; hem normal fonksiyonunu görmesi hem de yabancı antijenlere karşı savunmada kritik öneme sahiptir (Biselli ve

ark.,1996; Yuli ve ark., 1982). Bu fonksiyonlar ROS a karşı oldukça duyarlıdır (Babior, 2000; Victor ve ark., 2003).

İmmobilize stresin plazma interlökin-6 (IL-6) ve kan dolaşımındaki katekolaminlerinin yükselmesine neden olmaktadır (Takaki ve ark.,1994). Multifonksiyonel yapıya sahip bir sitokin olan interlökin-6 immün cevap ve inflamasyon reaksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır.(Akira ve ark., 1990). Tüm bu gözlemler immün hücreler tarafından oluşturulan serbest radikal artışı ve buna bağlı olarak meydana gelen doku hasarının immobilize stres sonucunda arttığı tespit edilmiştir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çağımızın sorunu olan stres pek çok hastalığa zemin hazırlayan önemli bir faktördür. Stres hormonları diye adlandırdığımız adrenalinin ve kortizolün salgılanmasındaki artış ve bu iki hormonun genel fizyolojik etkileri ile beden direnç döneminde stres etmeni ile başa çıkmaya çalışır.

Stresin canlı organizma üzerine olan hasar verici etkileri, oksidan üretimine katkısından kaynaklanmaktadır. Stresin indüklediği doku hasarı ile ilgili mekanizmalar, bazı çalışmalarda hormonlar ve lipit peroksidasyonu arasında ilişki kurularak açıklanmaya çalışılmıştır. Strese maruz kalan organizmalarda, plazma katekolamin düzeylerindeki artışa paralel olarak, doku hasarının meydana geldiği bilinmektedir. Epinefrinin oksidasyonu sonucu serbest radikaller oluşur. Bu mekanizma sonucunda da, stres sırasında meydana gelen reaktif oksijen türlerine bir kaynak oluşturmaktadır. Uyum hastalıkları olarak da anılan ve strese bağlı olarak görülen çeşitli hastalıklar vardır. En yaygın stres hastalıkları mide ve üst bağırsakta peptik ülserler, yüksek kan basıncı, kalp sorunları ve sinirsel bozukluklardır.

Çalışmamızda stres komplikasyonlarının yanında oksidatif stres ve antioksidan savunma sisteminin stresle olan bağlantısını araştırdık. Antioksidan savunma sistemini dışarıdan verdiğimiz bazı bitki ekstraktlarıyla güçlendirmeye ve stresin yan etkileriyle verilen mücadeleyi antioksidanlar lehine çevirmeye çalıştık. Stres uyguladığımız grupların kan, beyin ve mide dokusunda malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), glutatyon-s-transferase (GST) ve katalaz (CAT) gibi oksidan-antioksidan parametreler, kan serumunda glukoz, kolesterol, trigliserid, HDL-C, VLDL-C, GGT, AST, ALT, ALP, LDH, CK, GR, GST, üre, BUN, kreatinin, ürik asit gibi biyokimyasal parametreler, kortizol, total T4, serbest T3, serbest T4 gibi hormon parametreleri ile hematolojik parametrelerine bakarak kontrol grubu, stres grubu ve bitki ekstraktlarını verdiğimiz grupları karşılaştırdık.

Deney ortamını her gün sabah 8-12 saatleri arasında kontrol ederek çalışmamızla ilgili klinik gözlemleri yaptık. Kilo kayıplarını, fiziksel aktivite durumlarını, deney düzeneğindeki davranış değişimleri, çalışma sırasında meydana gelen morfolojik değişimleri, sıçanların yeme olan ilgilerini, günlük su ve yem tüketimlerini kaydederek çalışmamızı oluşturduk.

Aynı ortam ve şartlarda yaşayan kontrol grubunda deney sonuna kadar (7 gün) %0,5 oranında ağırlık artışı olduğu görüldü. Stres (S) grubunda %4,8 oranında, *Passiflora incarnata* (S/P) ekstraktı verilen grupta %1,5, *Hypericum perforatum* (S/H) ekstraktı verilen grupta %0,9, *Valeriana officinalis* (S/V) ekstraktı verilen grupta %2,2, *Melisa officinalis* (S/M) ekstraktı verilen grupta %1,8 ağırlık kaybı olduğu görüldü.

Stres sırasında organizmada meydana gelen biyolojik değişimler ile verilen bitki ekstrelerinin stres sonucu oluşan değişimlere ne derecede etki ettiğini incelemek amacıyla oksidan-antioksidan parametreler, biyokimyasal, hormonal parametreler ile hematolojik parametreler incelendi.

Stresteki metabolik bozukluk ile ilgili bilgi almak için grupların biyokimyasal parametrelerine bakıldı. Kontrol grubuna göre tüm gruplarda kolesterol miktarının azaldığı tespit edildi. Yine kontrol grubu ile karşılaştırıldığında stres ve bitki gruplarının trigliserid miktarının anlamlı olarak azaldığı görüldü. Metabolizmada iyi huylu kolesterol olarak tanımlanan HDL-C düzeyi de stres grubunda anlamlı bir azalma gösterdi. *Hypericum perforatum* ekstraktı verilen grupta HDL-C seviyesinin stres grubuna göre yükseldiği görüldü. Metabolizma için fazlası zarar olan LDL-C, kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda anlamlı derecede düşük bulundu.

Streste oluşan yoğun metabolik aktivite sonucunda etkilenen organlarda biri de karaciğerdir. Bu hasarı gözlemleyebilmek için karaciğer fonksiyon testlerine bakıldı. Kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda GGT, ALT, AST., LDH ve ALP enzim miktarlarının azaldığı görüldü.

Stres komplikasyonlarının etkilediği organlardan biri de böbrektir. Bunun için böbrek fonksiyon testlerine bakıldı. Kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda ürik asit miktarının anlamlı ($p<0.05$) derecede arttığı görülürken, kan üre azotu (BUN), kreatinin anlamlı ($p<0.05$) derecede azaldığı görüldü

Beyin, kan ve mide dokusunda stres etkisi ile oluşan oksidatif stresi incelemek için bu dokudaki malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyelerine bakıldı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm stres gruplarında artmış MDA seviyesi görüldü. Bitki ekstraktı verilen gruplarda ise stres grubuna göre anlamlı düşüş görüldü. Beyin, kan ve mide dokusunda GSH miktarına bakıldığında kontrol grubuna göre stres gurubunda anlamlı oranda azalış tespit edilirken. *Passiflora incarnata*, *Hypericum perforatum*, *Melissa officinalis* ve *Valeriana officinalis* ekstraktları verilen gruplarda stres grubuna göre anlamlı GSH artışı tespit edildi.

Eritrosit, beyin ve mide katalaz (CAT) enzim aktivitesi sonuçlarına baktığımızda, kontrol grubuna göre S/M gurubu hariç, tüm stres gruplarının azalış gösterdikleri görüldü. Eritrosit GST oranları K grubuna göre; S, S/V ve S/M guruplarında azaldığı, S/P ve S/H guruplarının ise kontrolle aynı oranda olduğu gözlemlendi. S grubuna göre ise; S/M hariç diğer bitki guruplarında artış olduğu gözlemlendi. Gurupların beyin GST oranları kontrol grubuna göre kıyaslandığında; S ve S/P guruplarında azalma ve en fazla azalmanın S grubunda olduğu gözlenirken, diğer bitki guruplarının kontrole göre yakın bir seviyede oldukları gözlemlendi. Mide GST oranları kontrol grubuna göre; azalmanın yalnızca S grubunda olduğu, S/P ve S/M guruplarının kontrolle aynı seviyede, S/H ve S/M guruplarında ise kontrole göre artış olduğu gözlemlendi. Stres grubu ile bitki gurupları karşılaştırıldığında tüm bitki guruplarının GST oranında artış olduğu gözlemlendi.

Gurupların kortizol düzeylerinde stres grubunda büyük bir artış görülürken, bitki guruplarında kontrole yakın düzeylerde bulunduğu gözlemlendi. Kortizol oranları K grubu ile kıyaslandığında S grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana geldiği görülürken bitki guruplarında belirgin bir değişim gözlenmedi. S grubuna

göre tüm bitki guruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bir azalış meydana geldiği tespit edildi.

Gurupların eritrosit oranlarındaki değişim incelendiğinde; K grubuna göre yalnızca S grubunda anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu gözlenirken diğer guruplarda anlamlı bir değişim gözlenmedi. S grubuna göre ise tüm bitki guruplarında anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu saptandı. Gurupların lökosit oranları K grubuna göre tüm stres guruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) azalma gerçekleştiği gözlendi. S grubuna göre kıyaslama yapıldığında tüm bitki guruplarında alyuvar oranlarının anlamlı ($p<0.05$) bir şekilde yükseldiği gözlendi. Lenfosit oranlarındaki değişim incelendiğinde; K grubuna göre S/V grubu hariç diğer guruplarda anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu, en fazla azalmanın ise S/M grubunda gerçekleştiği gözlendi. S grubu diğer guruplarla karşılaştırıldığında S/H ve S/M guruplarında anlamlı ($p<0.05$) yükselme, S/P 'de anlamlı olmayan artış ve S/M grubunda anlamlı olmayan azalma olduğu tespit edildi. Monosit oranlarındaki değişim incelendiğinde tüm guruplarda kontrole göre anlamlı ($p<0.05$) azalma ve en fazla azalmanın S grubunda olduğu gözlendi. S grubuna göre karşılaştırma yapıldığında S/P, S/H ve S/M guruplarında anlamlı olmayan artış, S/V grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) artış gözlendi.

Kimyasal ilaçlara göre kullanımı daha kolay, çeşitli şekillerde (çay, yemek, salata vb.) ve daha yan etkisiz olabilen bitki ekstraktları hastalıklarla mücadelede başvuracağımız birer kaynak olacaktır. Hastalık teşhisinden sonra değil, hastalanmadan önce de 'koruyucu sağlık' kapsamında kullanılabilir olmalarından dolayı, bitki özütleri önümüzdeki yıllarda ilaçlara oranla daha fazla tercih edileceklerdir.

Çalışmamıza konu olan bitkilerdeki etken maddelerin izole edilmesi ve bunların değişik dozlarda deney hayvanlarına uygulanması halinde daha verimli sonuçlar alınacağını gördük. Böylece bitki total ekstraktı içeriğinde toksik etki gösteren maddeler uzaklaştırılarak, hem bir doz ayarlaması ve hem de insanlara uygulanabilirliği sağlanacaktır.

Sonuç olarak streste; artan kortizol miktarı, oksidatif stres ve bununla birlikte çeşitli metabolik bozuklukların oluştuğu, enzimatik sistemde, dokularda, kan parametrelerinde olumsuz değişimlerin meydana geldiğini gördük. Uyguladığımız bitki ekstraktlarından *Passiflora incarnata*, *Melissa officinalis*, *Valeriana officinalis* ve *Hypericum perforatum*'mun stresin olumsuz komplikasyonları azaltarak deney hayvanlarına stresle mücadelede bir destek sağladığı sonucuna vardık.

KAYNAKLAR

- AGID, O., KOHN, Y., and LERER, B., 2000. Environmental stress and psychiatric illness. *Biomed Pharmacoter*, 54:135-141.
- AKIRA, S., HIRANO, T., TAGA, T., and KSHIMOTO, T., 1990. Biology of multifunctional cytokines: IL-& and related molecules (IL 1 and TNF). *FASEB*, 2860-2867.
- AKKUŞ, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları No 38, Sağlık Dizisi 5, Konya.
- ALEXANDROVA, M., and FARKAS, P., 1992. Stress-induced changes of glucocorticoid receptor in rat liver. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 42:493-498.
- AL-QIRIM, M.D., KASHIF, R., ZAIDI, A., TARIQ, M., and, NAHEED, N.H., 2003. Modulation of restraint stress induced oxidative changes in rats by antioxidant vitamins. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14:633-636.
- AL-QIRIM, T.M., SHAHWAN, M., ZAIDI, K.R., UDDIN, Q., and NAHEED, B., 2002. Effect of khat, its constituents and restraint stress on free radical metabolism of rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 83:245-250.
- ALTIN, M., 1990. Stres ve Dahili Hastalıklar İlişkisi. Tarhan Nevzat (Ed). *Stres ve Hastalıklar*. Gri Ajans.105 s. İstanbul.
- ANDREWS, G., SANDERSON, K., SLADE, T., and ISAKIDIS, C., 2000. Why does the burden of disease persist. Relating the burden of anxiety and depression to effectiveness of treatment. *Bull.World Health Organ*; 78(4): 446-454.
- ARMARIO, A., MARTI, O., MOLINA, T., DEPABLO, J., and VALDES, M., 1996. Acute stress markers in human: response of plasma glucose, cortisol and prolactin to two examinations differing in the anxiety they provoke. *Psychoneuroendocrinology*, 21:17-24.
- ARUOMA, O.I., and HALLIWELL, B., 1989. Inactivation of antiproteinase by hydroxyl radicals. The effect of uric acid. *FEBS Let*; 244:76-80.
- ATAMNA, H., and GINSBURG, H., 1995. Heme degradation in the presence of glutathione. A proposed mechanism to account for high levels of non-heme iron found in the membranes of hemoglobinopathic red blood cell. *J.Biol Chem*, 270:24876-24883
- ATKINSON, R.L., ATKINSON, R.C., SMITH, E.E., BEM, D.J., and NOLEN-HOEKSEMA, S., 1999. Hilgard's Introduction to Psychology. Çeviren: alogany, Arkadaş Yayınları, Ankara, s.487-521.
- BABIOR, B.M., 2000. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*; 109 (1):33-44.
- BACHI, D., CARRYL, O.R., TRAN, M.X., and MITRA, S., 1999. Acute and chronic stress induced oxidative gastrointestinal mucosal injury in rats and protection by bismuth subsalicylate. *Mol Cell Biochem*, 196(1-2):109-116.
- BAIRD, S.B., 1991. Kanser tanısının Spesifik Etkileri, *Canser Nursing A Compharasive Text Book*, s.123-130.
- BALCIOĞLU, İ., SAVRUN, M., 2005. Medikal Açından Stres ve Çareleri Sempozyum Dizisi No: 47 Aralık, s. 97-110.
- BALTAŞ, A., ve BALTAŞ, Z., 1991. Stres ve Başa çıkma Yolları, *Remzi Kitabevi*, 9.Basım, İstanbul.15(2): s.101-12.

- BALTAŞ, A., ve BALTAŞ, Z., 2004. Stres ve Başa Çıkma Yolları Remzi Kitap,Evi, İstanbul, s.30-80.
- BALTAŞ, Z., 2000. Sağlık psikolojisi. Halk sağlığında davranış bilimleri. Remzi Kitabevi; s. 133-154. İstanbul.
- BARABOI, V.A., 1989. The role of lipid peroxidation in the mechanism of stres . Fiziol Zh; 35(5):85-97.
- BEUTLER, E., 1984. Red Cell Metabolism, A manual of Biochemical methods, third ed. Grune and Startton, New York, p.105–106.
- BIDZINKA, J.E., 1984. Stres Factors in Deffective Diseases. Brit.J. Psychist; 144:161-166.
- BILIA A.R., GALLORI, S., and VINCIERI, F.F., 2002. St. John’s Worth and depression-efficiency, safety and tolerability. Life Sciences, 70:3077-3096.
- BISELLI, R., FARRACE, S., DESIMONE, C., and FATTOROSSO, A., 1996. Potentiation of human polymorphonuclear leukocyte activation by atrial natriuretic peptide. Inhibitory effect of carnitine congeners. J. Inflammation, 20(1):33-42.
- BOMBARDELLI, E., and MORAZZONI, P., 1995. Hypericum perforatum. Fitoterapia, 66:43-68.
- BRANNON, L., 1992. Health psychology: an introduction to behavior and health, Wadsworth Publishing Company, USA. p.48-79.
- BUTTERWECK, V., JURGENLIEMK G., NAHRSTED, A., and WINTERHOFF, H., 2000. Flavonoids from Hypericum perforatum show antidepressant activity in the forced swimming test. Planta Med, 66(1): 3-6.
- BUWALDA, B., KOLE, M.H., VEENEMA, A.H., HUININGA, M., DEBOER, S.F., KORTE, S.M., and KOOLHAAS, J.M., 2005. Long-term effects of social stress on brain and behavior: a focus on hippocampal functioning. Neurosci Biobehav Rev, 29: 83-97.
- ÇAKIR, M., 1997. Aspirin ve Vitamin E (α -Tokoferol)’nin Farelerde (Mus musculus) Karaciğer Total Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktivitelerine Etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 50s.
- CARNEY, R.M., FREED, L., and VEITH, R.C., 2005. Depression, the autonomic nervous system, and coronary artery disease. Psychosom Med, In Press.
- CHEUNG, L.Y., 1991. The pathogenesis, prophylaxis and treatment of stress gastritis. Textbook of Surgery. Philadelphia: Saunders, p. 797.
- CHO, C.H., KOO, M.W.L., GARG, G.P., and OGLE, C.W., 1992. Stress-induced gastric ulceration: Its a etiology and clinical implications. Scand J Gastroenterol, 27: 257-262,.
- CHOCHINOV, M., NAVVARO, M., SPECA, M., and HUNTER, J., 2001. The Effect of Group Psychosocial support on Survival in Metastatic Breast Cancer”. N Engl J Medi, 345: 1719-1726.
- CHROUS, G.P., and GOLD, P.W., 1992. The concepts of stress and stres system disorders , overview of physical and behavior homeostasis. JAMA, 267: 1244-1252.
- COHEN, R.A., KUCERA, L.S., and HERMANN, J.R., 1964. Antiviral activity of Melissa officinalis extract. Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 117: 431-434.
- COOPER, C.L., and DAVIDSON, M., 1987. Sources of Stress at Work and Their relation to stressors in non-working environment“, Phychosocial Factors at

- Work. Editör, Raije Kalimo et al. World Health Organization Genevo. p.145.
- COOPER, C.L., 1987. Coping with stress in organizations:the rol of management,“, Phychosocial Factors at Work, editör, Raije Kalimo et al. World Health Organization ,Genevo, p. 254
- CORDELLINI, S., ROSANGELA N., UBIRAJARA, R., and LANZA J., 2006. Differential vascular adaptive response in spontaneously hypertensive and Wistar rats: Role of nitric oxide, and prehypertensive and hypertensive states. *Life Sciences*, 79: 646–653.
- CURTIS, A. J., 2001. *Health psychology*. Taylor & Francis Group, London and Newyork, p. 123-139.
- DAVIDSON, R.J., and IRWIN, W., 1999. The functional neuroanatomy of emotion and affective disorders. *Sciences*, 34: 301-309.
- DAVIES, K.J., SEVANIAN, A., MUAKKASH-KELLY, S.F., and HOCHSTEIN, P., 1986. Uric asid –iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant function of uric acid. *Biochemical J*, 235 : 747-754.
- DAVYDOV, V., VLADIMIR, N., and SHVETS, N., 2001. Lipid peroxidation in the heart of adult and old rats during immobilization stres. *Experimental Gerontology*, 36: 1155-1160.
- DECASTRO, C., DECASTRO, R.M., DEMEDEIROS, A.F., SANTOS, A.Q., DELIMA, F.E.S., and FILHO, J.S., 2000. Effect of stress on the production of O₂ in alveolar macrophages. *J Neuroimmunol*, 108(1-2): 68-72.
- DEEPAK, R., GITIKA, B., GAUTAM, P., RAGHWENDRA, P., SATYAWAN, S., and HEMANT, K., 2003. Adaptogenic effect of bacopa monniera (Brahmi). *Pharmacology. Biochemistry and Behavior*, 75: 823-830.
- DHABHAR, F.S., MILLER, A.H., MCEVEN. B.S., and SPENCER, R.L., 1995. Effect of stress on immune cell distribution. Dynamics and hormonal mechanisms. *J. Immunol*, 154: 5511-5527.
- DUKE, S., 2008. *Phytochemical and Ethnobotanical Databases*. [Online Database] 04March<http://sun.arsgrin.gov:8080/npgspub/xsql/duke/plantdisp.xsql>.
- FELITTI, V.J., and NORDENBERG, D., 1998. Relationship of childhood abuse and household dysfunction to many of the leading causes of death in adults. The Adverse Childhood Experiences (ACE) Study. *Am J Prev Med*; 14:245-258.
- FILIPOVIC, D., MARIJA, B., and RADOJ_I.C., 2005. CuZn Superoxide Dismutase in the Hippocampus and Brain Cortex of Rats Exposed to Various Stress Conditions. *Ann. N.Y. Acad. Sci*; 1048: 366–368
- FIRAT, S., 1997. Kobaylarda Radyasyonla Oluşan Akciğer Hasarında Doku Glutasyon , Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon- S-Transferaz Düzeyleri ve N-Asetil Sistein’in Bu Sistem Üzerindeki Etkisi. Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Uzm.Tezi, Ankara, 95s.
- FUCHS, E., CZEH, B., and ŞUGGE, G., 2004. Examining novel concepts of the pathophysiology of depression in the chronic psychosocial stress in tree shrews. *Behav Pharmacol*, 15: 315-325.
- GAGNON, J., HOKIMMA, K., BOISSONNEAULT, G., DUBE, J.Y., ROGERS, P.A., and TREMBLAY, R.R., 1987. The influence of immobilization stress on cardiac protein synthesis. A possible regulatory role for glucocorticoids. *J Recept Res*, 7: 639–652.

- GORDOA, J.C., RUIZ, D.E, SANTAFE, J., DOMENECH, J., and SANTISTEBAN, A., 1994. Modification of rat plazma lipoproteins induced by acute immobilization stres. *Psichosom Med*, 56: 486-492.
- GUTH, P.H., 1972. Gastric blood flow in restraint stress. *Am J Dig Dis*; 17: 807-813.
- HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE., J.M., 1990. The antioxidats of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*, 283: 223-226.
- HARRER, G., and SCHULZ, V., 1994. Clinical investigation of the antidepressant effectiveness of hypericum. *J Geriatr Psychiatry Neurol*;1: 6-8.
- HERMAN, J.P., ADAMS, D., and PREWITT, C., 1995. Regulatory change in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by avariable stress paradigm. *Neuroendocrinology*, 61:180–190.
- HIROTA, M., INOUE, M., and ANDO, Y., 1990. Inhibition of stress induced gastric mucosal injury by a long acting superoxide dismutase that circulates bound to albumin. *Arch Biochem Biophys*, 280: 269- 273.
- HUDSON, J.B., LOPEZ-BAZZOCCHI, I., and TOWERS, G.H., 2003. Antiviral activities of hypericin. *Antiviral Res Hypericum perforatum, Hypericum maculatum and Hypericum olympicum. Biochemical Systematics and Ecology*, 31: 223-226.
- İZGÜT-UYSAL, V., NIMET, R., TAN, M., NARIN, B., 2004. Effect of stress-induced lipid peroxidation on functions of rat peritoneal macrophages. *Cell Biology International*, 28: 517-521.
- JEWET, S.L., EDDY L.J., and HOCHSTEIN P., 1989. Is the autoxidation of catecholamines involved in ischemia-reperfusion injury. *Free Radical Biol Med*, 6(2): 185-188.
- JOELS, M., KARST, H., ALFAREZ, D., HEINE, VM., QIN, Y., and VANRIEL, E., 2004. Effects of chronic stress on structure and cell function in rat hippocampus and hypothalamus. *J Stress*, 7: 221-23
- KANG, D.H., and MCCHARTY, D.O., 1994. The effect of psychological stress on neutrophil superoxide release. *Res Nurs Health*, 17: 363-370.
- KARTEN, Y.J., OLARIU, A., and CAMERON, HA., 2005. Stress in early life inhibits neurogenesis in adulthood. *Trends Neurosci*, 28: 171-172.
- KATZ, J., and WEINE, H., 1990. Stress, Distress and Ego Defences. *Arc. Gen. Psych*; 23:451-460.
- KENDLER, K.S., BULIK, C.M., and SILBERG, J., 2000. Childhood sexual abuse and adult psychiatric and substance use disorder in women: An epidemiological and cotwin control analysis study. *Arch Gen Psychiatry*, 57: 953-959.
- K-FOUGIA, N., ANTONIOU, K., BEKRIS, S., LIAPI, C., CHRISTOFIDIS, I., and PAPADOPOULOU-DAIFOTI, Z., 2002. The effect of stres exposure on the hypothalamic –pituitary –adrenal axis ,thymus, thyroid hormones and glucose level. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 26: 823-830.
- KIHARA, H., TESHIMA, H., SOGAWA, H and NAKAGAWA, T., 1992. Stress and superoxide production by human neutrophils.*Am NY Acad Sci*, 650: 307-310.
- KÖKNEL, Ö., 1990. İnsan ve Stres. TARHAN Nevzat (Ed). *Stres ve Hastalıklar. GriAjans, İstanbul*, 145 s.
- KOLOGLU, S., 1999. Psiko-Endokrin İlişkiler. *Endokrinoloji Yıllığı. Endokrinoloji Derneği*, 45 s.

- KOPTAGEL, İ.G., 1991. *Tıpsal Psikoloji*. Güneş Kitabevi, 851 s.
- KRINSKY, N.I., 1988. Membrane Antioxidants Discussion. *Ann N.Y Acad Sci*, 551: 17-32.
- LAU, W.L., and LAM, P.Y., 1992. Stress induced gastric ulceration: It's etiology and clinical implications. *Scand J Gastroenterol*, 27: 257-262.
- LAUBE, B.L, CURBOW, B.A, FITZGERALD, S.T., and SPRATT, K., 2003. Early pulmonary response to allergen is attenuated during acute emotional stress in females with asthma. *Eur Respir J*, 22: 613-618.
- LEDOUX, J.E., and PHILLIPS, R.G., 1992. Differential contribution of amygdale and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav Neurosci*; 106, 274–285.
- LEMBERGER, T., SALADIN, R., VAZQUEZ, M., ASSIMACOPOULOS, F., STAELS, B., DESVERGNE, B., WAHLI, W., and AUWERX, J., 1996. Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor a gene is stimulated by stress and follows a diurnal rhythm. *J Biol Chem*, 271; 1764–1769.
- LESPERANCE, F., FRASURE-SMITH, N., TALAJIC, M., and BOURASSA, M.G., 2002. Five-year risk of cardiac mortality in relation to initial severity and one-year changes in depression symptoms after myocardial infarction. *Circulation*, 105: 1049-1053.
- LEVINES, L., 1993. The Psycho endocrinology of Stress. *Ann NY Acad Sci*, 29: 697: 61-69.
- LINDE, K., RAMIREZ, G., MULROW, C.D., PAULS, A., WEIDENHAMMER, W., and MELCHART, D., 1996. St John's wort for depression an overview and meta-analysis of randomised clinical trials. *BMJ*; 313: 253-258.
- LIU, J., WANG, X., SHIGENAGAM, K., YEOH, C., and AMES, B.N., 1996. Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein, and DNA in the brain of rats. *FASEB J*, 10 (13):1532-1538.
- LUPIEN, S., MCEWEN, B.S., 1997. The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. *Brain Res Rev*, 24: 1–2.
- MAES, M., 1995. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, 19: 11-13.
- MAKARA, G.B., and HALLER, J., 2001. Non genomic effects of glucocorticoids in the neural system evidence, mechanisms and implications. *Prog Neurobiol*, 65:367-90.
- MATES, J.M., 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83-104.
- MATSUOKA, N., ARAKAWA, H., KODAMA, H., and YAMAGUCHI, I., 1998. Characterization of stress-induced sudden death in cardiomyopathic hamsters. *The journal of pharmacology and Experimental Therapeutics*, 284: 125-135.
- MAUREEN, F.D., and ANTHONY, H.W., 1996. Managing Occupational Stress A National and International Perspective. *International Journal of Stress Management*, 3: 2-6
- MCEWEN, B.S., and SAPOLSKY, R.M., 1995. Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol*, 5: 205-216.

- MCEWEN, B.S., 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res*, 886: 1055-81.
- MERCK INDEX., 2003. 13th Edition. Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, NJ.
- MILLER, A.H., SPANCER, R.L., and MCEWEN, B.S., 1993. Depression, adrenal steroids, and the immune system. *Ann Med*, 25: 481-487.
- MILLER, A.H., 1998. Neuroendocrine and immune system interaction in stress and depression. *Psychiatr Clin North Am*, 21: 443-463.
- MILLER, T.A., 1987. Mechanisms of stress-related mucosal damage. *Am J Med*, 83 (supl 6A): 8-14.
- MORRI, S.C.G., 2002. *Understanding Psychology*. Chapter 10: Stress and health psychology. Çeviren: BOZKURT G. Çeviri Editörleri: AYVAŞIK, H.B., SAYIL, M., Türk Psikologlar Derneği Yayınları, No:23, DETAMAT, Ankara, s. 491-524.
- NADEEM, A., MASOOD, A., MASOOD, N., AFZAL, G., and ZAHOR, A.S., 2005. Immobilization stress causes extra-cellular oxidant-antioxidant imbalance in rats: Restoration by L-NAME and vitamin E. *European Neuropsychopharmacology*, 16: 260-267.
- NIJBOER, C., 1999. Measuring Both Negative and Positive Reactions to Giving Care to Cancer Patients: Psychometric Qualities of the Caregiver Reaction Assessment (CRA). *Social Science & Medicine*, 48: 1259-1269.
- NISHIDA, K., OHTA, Y., KOBAYASHI, T., and ISHIGURO, I., 1997. Involvement of the xanthine oxidase system and neutrophils in the development of acute gastric mucosal lesions in rats with water immersion restraint stress. *Digestion*, 58(4): 340-51.
- OHNO, H., KONDO, T., FUJIWARA, G., TAGAMI, S., KUROSHIMA, A., and KAWAKAMI, Y., 1991. Effect of cold stress on glutathione and related enzymes in rat erythrocytes. *Int J Biometeorol*, 35 (2): 111-113.
- OISHI, K., YOKOI, M., MAEKAWA, S., SODEYAMA, C., SHIRAIISHI, T., KONDO, R., KURIYAMA, T., and MACHIDA, K., 1999. Oxidative stress and haematological changes in immobilized rats. *Acta Physiol Scand*, 165: 65-69.
- OLIVENZA, R., MARIA, A., IGNACIO, L., PEDRO, L., ANA P., FERNANDEZ, J., LISARDO B., and JUAN C., 2000. Chronic Stress Induces the Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase in Rat Brain Cortex. *Journal of Neurochemistry*, 74: 785-791.
- OWEN, D., ANDREWS, M.H., and MATTHEWS, S.G., 2005. Maternal adversity, glucocorticoids and programming of neuroendocrine function and behaviour. *Neurosci Biobehav Rev*, 29: 209-226.
- ÖZKAN, S., 1993. *Psikiyatrik tıp; Konsültasyon-Liyazon psikiyatrisi*, Roche Müstahzarları, s. 83-99.
- PARE, W.P., and GLAVIN, G.B., 1986. Restraint stress in biomedical research: a review. *Neurosci. Biobehav Rev*, 10: 339-370.
- PAWLAK, W., KEDZIORA, J., ZOLYNSKI, K., KEDZIORA-KORNATOWSKA K., BLASZCZYK, J., and WITKOWSKI, P., 1998. Free radicals generation by granulocytes from men during bed rest. *J Gravity Physiol*, 5(1): 131-132.
- PEHLIVANOĞLU, S., 2005. *Psikososyal Stresin Kardiyovasküler Etkileri Medikal Açından Stres ve Çareleri Sempozyum Dizisi No: 47. Aralık; s.163-169.*

- PEKTEKİN, Ç., 1999. Stress ve Başa Çıkma Yolları, I.Ü.Florance Nightingale Hemşirelik Yüksek Okulu, 78 s.
- PORTH, C.M., 1998. Pathophysiology: Concepts of Altered Health. Chapter 53: Stress and Adaptation. 5. Edition, USA: Lippincott Raven Publishers, p. 1233-1242.
- RAMANOVA, T.P, KARPEL, G.G., BRILL, G.F., and MARKOW, K.M., 1994. Mechanism of disorders of the cerebral blood supply during stress in spontaneously hypertensive rats. Pathology Fizioloji Expn Trminol, 5-8.
- ROBERT, O.P., and FAWZY, I.F., 1989. Stress and psychiatry. In: Harald, I.K., Benjamin, J.S. (Eds.), 5th Edition. Comprehensive Text Book of Psychiatry, Vol; 2. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, p. 3-11.
- ROSERM, L., 1985. Psychoendocrinology. in Wilson JD, Foster DW (Eds), Williams Textbook of Endoc rinology, Philadelphia, WB Saunders Co 7th Edition 653-681.
- ROZANSKI, A., BLUMENTAL, J.A., and KAPLAN, J., 1999. Impact of psychological factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implications for therapy. Circulation, 99: 2192-2217.
- ROZANSKI, A., BLUMENTAL, J.A., DAVIDSON, K.W., SAAB, G., and KUBZANSKY, L., 2005. The epidemiology, pathophysiology, and management of psychosocial risk factors in cardiac practice. J Am Coll Cardiol, 45: 637-651.
- ŞAHİN, E., and GÜMÜŞLÜ, S., 2007. Immobilization stress in rat tissues: Alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 144: 342-347.
- SAMBRANO, G.R., PARTHASARATY, S., and STEINBERG, D., 1994. Recognition of oxidatively damaged erythrocytes by a macrophage receptor with specificity for oxidized low density lipoprotein. Proc Natl Acad Sci USA, 91: 3265-3269.
- SAPOLSKY, RM., 1992. Stress, the Aging Brain and the Mechanisms of Neuron Death. Cambridge; MIT Press; p 423.
- SECKİN, S., ALPTEKİN, N., ABBASOĞLU, S., KOCAK, N., TOKER, G., and UYSAL, M., 1997. The effect of chronic stress on hepatic and gastric lipid peroxidation in long-term depletion of glutathione in rats. Pharmacol Res, 36: 55-57..
- SEIDEL, A., AROLT, V., HUNSTIGER, M., RINK, L., BEHNISCH, A., and KIRCHNER, H., 1996. Major depressive disorder is associated with elevated monocyte counts. Scand J Immunol, 94: 198-204.
- SEIDEL, A., AROLT, V., HUNSTIGER, M., RINK, L., BEHNISCH, A., and KIRCHNER, H., 1995. Cytokine production and serum proteins in depression. Scand J Immunol, 41: 534-538.
- SELYE H., 1991. History and present status of the stress concept. Editors: monat & lazarus. stress and coping: an anthology, 3d edition, Columbia University Press, New York, p.21-35.
- SELYE, H., 1950. The physiology and pathology of exposure to stres. Montreal acta; 950: 4-13.
- ŞENTÜRK, H., 2005. Medikal Açıldan Stres ve Çareleri Sempozyum Dizisi No: 47 Aralık; s.35-38.

- SINGH, L.K., RANG, X., ALEXACOS, N., NETAUMEN, R., and THEOHARIDES L., 1993. Acute immobilization stress triggers skin mast cell degranulation via corticotropin releasing hormone neurotension and substance link to neurogenic skin disorders. *Brain Behav Immunol*, 3: 225–39.
- SONGAR, A., 1990. *Stres ve Hastalıklar*, Ed: Nevzat Tahran, Gri Ajans, İstanbul, s.89.
- SOSNOWSKI, A.S., BLASHOVA, T.S., PRIGOVA, G.V., KUBATIEV, A.A., and PERTSOV, S., 1993. Antioxidant enzymetic activity in the limbic –reticular structures of the rat brain after short –term immobilization. *Bill Eksp Biol Med*, 115(6): 612-614.
- SPENCER, R.L., MILLER, A.H., MODAY, H., STEIN, M., and MCEWEN, B.S., 1993. Diurnal differences in basal and acute stress levels of type I and type II adrenal steroid receptor activation in neural and immune tissues. *Endocrinology*, 133: 1941–1950.
- STAHL, W., and SIES, H., 2002. Introduction: Reactive Oxygen Species. *Research Monographs*, 1-2.
- STAMP, J., and HERBERT J., 2001. Corticosterone modulates autonomic responses and adaptation of central immediate-early gene expression to repeated restraint stress. *Neuroscience*, 107: 465-479.
- STEIN, M., MILLER, A.H., and TRESTMAN, R.L., 1991. Depression, the immune system, and healthy and illness. *Arch Gen Psychiatry*, 48: 171-176.
- STOJANOVIC, G., PALIC, R., TARR, C.H., REDDY, C.M., and MARINKOVIC, L., 1998. N-alkanes and fatty acids of Stress of Life from Molecules to Man. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 3(1): 11–21.
- STOJILJKOVIC, V., TODOROVIC, A., KASAPOVIC', J., PEJIC', S., and PAJOVIC, S.B', 2005. Antioxidant Enzyme Activity in Rat Hippocampus after Chronic and Acute Stress Exposure. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 1048: 373–376.
- SZABO, S., and CHO, C.H., 1988. Animals models for studying the role of eicosanoid in ulcer disease, in Hillier K (ed): *Eicosanoids and the gastrointestinal tract*. Lancaster: MTP Press Ltd, p.75-102.
- TAKAKI, A., HUANG, Q.H., SOMOGYVARI, V.A., and ARIMURA, A., 1994. Immobilization stress may increase plazma interleukin-6 via central and peripheral catecholamines. *Neuroimmunomodulation*, 1: 335-342.
- TALLIS, F., 1993. Primary Hypothyroidism: a case for vigilance in the psychological treatment of dep resion. *Bir J Clin Psychol*, 92: 261-279.
- TANG, J., COLACINO, J.M., LARSEN, S.H., and SPITZER, W., 1990. Virucidal activity of hypericin against enveloped and non-enveloped DNA and RNA viruses. *Antiviral Res*, 13 (6): 313-325.
- TAYLOR, S.E., 1991. *Health psychology*. 2 nd edition, McGraw-Hill Inc. USA, p. 191-259.
- TAYLOR, E.J., 2003. Spirutial Needs of patients with Canser and family Caregivers *Canser Nursing*; 26(4): 260-265.
- TAYLOR, S.E., 1991. *Health psychology*. Editors: monat & lazarus. Stress and coping: an anthology, 3d edition, Columbia University Press, New York, p. 62-80.

- TAYLOR, S.E., 1991. Health psychology. Editors: monat and lazarus. Stress and coping: an anthology, 3d edition, Columbia University Press, New York, p. 62-80.
- TOLEIKIS, P.M., and GODIN, D.V., 1995. Alteration of antioxidant status in diabetic rats by chronic exposure to physiological stressors. *Pharmacol Biochem Behav*, 52(2): 355-366.
- TORRES, R.L., TORRES, I.L.S., FONTELLA, G.D., SILVEIRA, P.P., and MOREIRA, J.S.R., 2004. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37: 185-192.
- TUNÇER, C., ARSLAN, M., ve AYVAZ, G., 1989. Endoskopi Stresine Prolaktin ve Growth Hormon Cevapları. *Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*; 2: 233-241.
- TUTAR, H., 2000. Kriz ve Stres Ortamında Yönetim, Hayat Yayınları, Kişisel Gelişim Dizisi, No:14, İstanbul, s. 85.
- UEYAMA, T., KAWAI, Y., NEMOTO, K., SEKIMOTO, M., TONE, S., and SENBA, E., 1996. Immobilization stress reduced the expression of neurotrophins and their receptors in the rat brain. *Neurosci Res*, 712: 287-292.
- UYŞAL, M., 1998. Serbest Radikaller, Lipid Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. *Klinik Gelişim II*; s. 336-341.
- VICTOR, V.M., ROCHA, M., DELA, FUENTE, M., 2003. Regulation of macrophage function by the antioxidant N-acetylcysteine in mouse-oxidative stress by endotoxin. *Int Immunopharmacol*, 3(1): 97-106.
- VYAS, A., MITRA, R., SHANKARAN, R.A., and CHATTARJI, S., 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci*, 22: 6810-681.
- WACHNA, V., 1997. Anxiety ,Needs and Coping in Family Members of the Bone Marrow Transplant Patient, *Cancer Nursing*, 20(4): 244-250.
- WALKER, C., PERRIN, M., VALE, W., and RIVIER, C., 1986. Ontogeny of the stress response in the rats: role of the pituitary and hypothalamus. *Endocrinology*, 118: 1445-1451.
- WANG, X., LIU, J., YOKOI, I., KOHNO, M., and MORI, A., 1992. Direct detection of circulating free radicals in rat using electron spin resonance spectrometry. *Free Radic Biol Med*, 121-126.
- YAN, H., CARDOUNEL, A., GURSOY, E., ANDERSON, P., and KALIMI, M., 2000. Anti-stress effects of dehydroepiandrosterone protection of rats against repeated immobilization stress-induced weight loss, glucocorticoid receptor production, and lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology*, 59: 753-762.
- YANBEYİ, S., 1999. Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. *Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi*, Samsun, 88s.
- YOUDIM, K.A., and JOSEPH, J.A., 2001. A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunction: a multiplicity of effects. *Free Radic. Biol. Med*, 30 (6): 583-594.

- YULI, T., and SYNDERMAN, R., 1982. Chemoattractant receptor functions in human polymorphonuclear leukocytes are divergently altered by membrane fluidizers. *Proc Natl Acad Sci U.S.A*; 79: 5906-5910.
- YURDAKOŞ, E., 2001. *Lecture Notes on Neurophysiology*. Nobel Tıp Kitapları, 45s.
- ZAHOOR, A.S., PRAGYA, S.B., and VOHORA, M., 2003. Ginkgo biloba normalises stress-elevated alterations in brain catecholamines, serotonin and plasma corticosterone levels. *European Neuropsychopharmacology*, 13: 321–325.
- ZEZEROVA, I.S., and USHAKOVA, A., 1987. Lipid peroxidation in tissues of rats exposed to head-down tilt, exercise or immobilization stress. *Kosm Biol Aviakosm Med*, 21: 39–43.s

ÖZGEÇMİŞ

01.01.1982'de Şanlıurfa'nın Siverek ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Siverek'te orta ve lise öğrenimini Şanlıurfa'da tamamladı. 2001 yılında K.S.Ü Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2002 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne yatay geçiş yaparak, 2005 yılında buradan mezun oldu. 2005 yılının güz döneminde Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisansa başladı. Ocak 2006'da Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne araştırma görevlisi olarak atandı. Halen bu görevine devam etmektedir.

ÖZET

Stres vücuttaki normal fizyolojik dengenin bozulması ve homeostaziye tehdit eden bir durumla sonuçlanan tüm reaksiyonların toplamı olarak tanımlanır. Stres uluslararası olarak kabul edilmiş bir olgudur. Sanayileşmenin ilerlemesiyle ve modern toplumun yaşamının neticesi olarak yaygın bir fenomen olarak kabul görmüştür. Böylece bugün her insan gün geçtikçe stres dolu ortamlarla yüz yüze gelmektedir.

Stres vücudun normal fizyolojik dengesini ve homeostaziye bozmaya eğilimli uyaranlara karşı vücut reaksiyonu olarak kendini göstermektedir. Ayrıca vücudun maruz kaldığı etkilere karşı tepkileri şeklinde tanımlanmaktadır. Stres, depresyon ve bununla alakalı mental sağlık problemleri modern zamanlarda son derece artmıştır.

Doğal kaynaklardan etkili ve güvenli alternatiflerin özellikle bitkisel ürünlerin araştırılması bu nedenlerle sürdürülmektedir. Adaptöjenlerin daha iyi anlaşılması için çeşitli bitkiler araştırılmıştır. Bu bitkiler daha önceleri adaptöjenik ve gençleştirici özelliklerinden dolayı geleneksel tıp alanında tonik olarak kullanılmıştır. Bitki orijinli ilaçlar artan bir popülerite kazanmaktadır. Yine bu bitkilerin antistres adaptöjenik aktivitesi dahil bir çok hastalıkların tedavisinde kullanımı üzerine araştırmalar yapılmaktadır.

Çalışmada Fırat Üniversitesi deney hayvanları üretim merkezinden getirilen 250-350 gr ağırlığındaki yetişkin erkek wistar albino sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar polipropilen kafeslerde 22 ± 2 °C oda sıcaklığında, hava alışverişi olan yerde, standart pelet yem ve çeşme suyu verilerek beslenildi. Sıçanlar her kafeste altı sıçan olacak şekilde ve 12 saat aydınlık ve karanlık döngüsüne sahip bir yerde tutuldu. Sıçanlar çalışmaya alınmadan önce 20 gün ortama adaptasyonları sağlandı.

Sıçanlar her grupta altı rat olmak üzere altı gruba ayrıldı; kontrol grubu (K), immobilize stres uygulanmış grup (S), immobilize stres uygulanıp *Hypericum perforatum* ekstresi verilmiş grup (S/H), immobilize stres uygulanıp *Melissa officinalis* ekstresi verilmiş grup (S/M), immobilize stres uygulanıp *Valeriana*

officinalis ekstresi verilmiş grup (S/V), immobilize stres uygulanıp *Passiflora incarnata* ekstresi verilmiş grup (S/P). Sedatif (antistres) özelliğe sahip olan *H. perforatum* L., *M. officinalis* L., *P. incarnata* L. ve *V. officinalis* L. bitki ekstrelerinin subakut immobilize stres modeli uygulanmış sıçanlar üzerindeki etkisini araştırdık.

Çalışılmış çeşitli stres metotları arasında immobilize metodu; hem fiziksel hem de psikolojik değişimlerin neden olduğu stres çalışmalarında çoğu araştırmacı tarafından kullanılan, geniş çapta kabul görmüş bir methoddur. Çalışmamızda immobilize stres oluşturmak için tek hayvanın içine yerleştirilebileceği akrilik plastik tüpler (4.5 cm yarıçapında, 12 cm uzunluğunda) kullanıldı. Sıçanlara ardışık yedi gün boyunca günde 120 dakika subakut immobilize stres uygulandı. Bitki ekstresi verilen gruplara immobilize stres uygulanmadan, bir saat önce bitki ekstresi verildikten sonra stres uygulandı.

Günlük plazma kortikosteron seviyesinin değişimini önlemek için immobilize stres her gün sabah 9.00-11.00 saatleri arasında uygulandı. Sıçanlarda plazma kortikosteron seviyesi sabah saatlerinde en düşük seviyededir. Bundan dolayı çalışmamızda maksimum stres cevabı almak için deneyi gündüz saatlerinde uyguladık. Immobilize stres her gün sıçanlar 2 saat pleksiglas tüplere konularak uygulandı. Ön çalışmalarda plazma kortikosteron miktarı immobilizasyonun 60. dakikasında maksimum seviyeye ulaşarak deney süresi boyunca devam etti. Bundan dolayı çalışmamızda 2 saatlik stres protokolünü kullanıldı.

Sıçanlar stres uygulamasından hemen sonra eter ile anestezi edilerek sakrifiye edildi. Abdomen ve toraks kesilerek açıldıktan sonra kalpten kan alındı. Alınan kanın bir kısmı 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edilerek serumu ayrıştırıldı.

Serum; glikoz, trigliserit, kolesterol, alanin amino transferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), ve kreatin kinaz (CK), gamma glutamil transferaz (GGT), alkali fosfataz (ALP), laktat dehidrojenez (LDH), kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), ürik asit, demir, magnezyum, bilirubin, amilaz, albümin, total protein, kan üre azotu (BUN) parametreleri

otoanalizör ile (Roche, Cobas Integra 400 plus) ve serum hormon parametreleri; kortizol, total tiroid T4, serbest T3 ve serbest T4 kitler kullanılarak otoanalizör (Roche, Immulite 2000) ile ölçüldü.

Total kan kullanılarak eritrosit, lökosit, monosit, granülosit ve lenfosit sayıları otomatik hemogram (Abacus Junior) cihazı ile ölçüldü. Serum, beyin ve mide dokuları alınarak malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), glutatyon S-transferaz (GST) ve katalaz (CAT) analizleri yapıldı. Eritrosit katalaz (CAT) ve glutatyon-S-transferaz (GST) hazırlanmış olan eritrosit paketleri kullanılarak ölçüldü. Hayvanların ağırlık değişimi, su ve yem tüketimleri deney süresinden hayvanların kesimine kadar her gün gözlemlenerek kaydedildi. Çıkan sonuçlar istatistiksel olarak Mann-Whitney testine göre yorumlandı.

Oluşturduğumuz kontrol grubunda (K) deney sonuna kadar %0.57 oranında bir ağırlık artışı gözlemlenirken, farklı bitki ekstraktları uygulanan ama aynı koşul ve yemlerle beslenen S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarında sırasıyla %,4.84 %1.57, %0.97, %2.21, %1.83 oranında ağırlık azalması kaydedildi.

Kontrol grubu serum MDA (nmol MDA/ml) seviyesi 79.5 ölçülürken, S grubu 88.6, grup S/P 77.2, grup S/H 80.6, grup S/V 76.5 ve grup S/M 68 ölçüldü. S/P, S/V ve S/M gruplarının serum MDA değerinin S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir azalış gösterdikleri tespit edildi.

Kontrol grubu beyin MDA (nmol MDA/100 mg beyin yaş ağırlık) seviyesi 83.9 ölçülürken, S grubu 118.8, grup S/P 81.1, grup S/H 92.3, grup S/V 107.8 ve grup S/M 95.3 ölçüldü. S ve S/V gruplarının beyin MDA değerinin K grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış gösterirken, S/M, S/P ve S/H gruplarının S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir azalış gösterdikleri tespit edildi.

Kontrol grubu mide MDA (nmol MDA/100 mg mide yaş ağırlık) seviyesi 54.4 ölçülürken, S grubu 59.2, grup S/P 58.3, grup S/H 58.1, grup S/V 57.7 ve grup S/M 56.4 ölçüldü. S, S/P ve S/H gruplarının mide MDA değerinin K grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış gösterdikleri tespit edildi.

Kontrol grubu serum GSH (nmol GSH/ml) seviyesi 236.8 ölçülürken, S grubu 229, grup S/P 293.6, grup S/H 319.3, grup S/V 312.6 ve grup S/M 303.2 ölçüldü. S/H, S/V ve S/M gruplarının serum GSH değerinin K grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış gösterdikleri tespit edildi.

Kontrol grubu beyin GSH (nmol GSH/100 mg yaş beyin dokusu) seviyesi 229.2 ölçülürken, S grubu 214.8, grup S/P 197.7, grup S/H 221.8, grup S/V 202.7 ve grup S/M 219.9 ölçüldü.

Kontrol grubu mide GSH (nmol GSH/100 mg yaş mide dokusu) seviyesi 326.4 ölçülürken, S grubu 252.7, grup S/P 293.5, grup S/H 259.5, grup S/V 281.9 ve grup S/M 351.6 ölçüldü. S/H grubunun mide GSH değerinin K grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış gösterdiği ve S/M grubunun mide GSH değerinin ise S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış gösterdiği tespit edildi

Kontrol grubu eritrosit katalaz (KAT) (EU/ml), seviyesi 16.3 ölçülürken, S grubu 15.5 grup S/P 15.6, grup S/H 15.6, grup S/V 13.7 ve grup S/M 15.8 ölçüldü. S/M grubunun eritrosit katalaz değerinin K grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir azalış ve S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış gösterdiği tespit edildi.

Kontrol grubu beyin katalaz (KAT) (EU/mg), seviyesi 2.3 ölçülürken, S grubu 2.1 grup S/P 2.2, grup S/H 2.4, grup S/V 2.0 ve grup S/M 2.4 ölçüldü.

Kontrol grubu mide katalaz, seviyesi 4.7 ölçülürken, S grubu 4.2 grup S/P 4.6, grup S/H 4.5, grup S/V 4.8 ve grup S/M 6.0 ölçüldü.

Kontrol grubu eritrosit GST (EU/ml), seviyesi 0.713 ölçülürken, S grubu 0.559 grup S/P 0.713, grup S/H 0.713, grup S/V 0.617 ve grup S/M 0.559 ölçüldü.

Kontrol grubu beyin GST (EU/mg), seviyesi 10.4 ölçülürken, S grubu 8.4 grup S/P 8.9, grup S/H 10.2, grup S/V 10.9 ve grup S/M 10 ölçüldü.

Kontrol grubu mide GST (EU/mg), seviyesi 11.0 ölçülürken, S grubu 7.5 grup S/P 11.0, grup S/H 13.0, grup S/V 10.3 ve grup S/M 16.4 ölçüldü. S/H, S/V ve S/M grubunun mide GST değerinin S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir yükseliş gösterdiği tespit edildi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının ürik asit miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 1.94 mg/dl, 3.45 mg/dl, 3.17 mg/dl, 2.29 mg/dl, 1.83 mg/dl ve 2.1 mg/dl. S ve S/P grupları K grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış olduğu gözlenirken, S/H, S/V ve S/M gruplarında S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir azalma olduğu tespit edildi.

Kontrol grubu total bilirubin seviyesi 0.14 mg/dl ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının total bilirubin seviyesi sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 0.09 mg/dl, 0.13 mg/dl, 0.16 mg/dl, 0.16 mg/dl, ve 0.14 mg/dl. S grubunda K grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir azalış olduğu gözlenirken, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarında S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış olduğu tespit edildi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının ferritin miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 133.3 mg/dl, 131.7 mg/dl, 116.7 mg/dl, 131.5 mg/dl, 143.5 mg/dl ve 110.4 mg/dl.

Kontrol grubu GGT seviyesi 0.76 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının total bilirubin seviyesi sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 0.34 U/L, 0.40 U/L, 0.47 U/L, 0.50 U/L ve 0.64 U/L. Kontrol grubuna göre S, S/P ve S/H gruplarında anlamlı ($p<0.05$) bir azalma görülürken, S grubuna göre S/M grubunda anlamlı ($p<0.05$) artış gözlemlendi.

Kontrol grubu AST seviyesi 120 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 83.7 U/L, 113.69 U/L, 103.5 U/L, 150.9 U/L ve 133.5 U/L. Kontrol grubuna göre S grubunda anlamlı ($p<0.05$) azalma görülürken, S/H, S/V ve S/M gruplarının S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak artış gösterdiği tespit edildi.

Kontrol grubu ALT seviyesi 73.4 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 73.41 U/L, 59.7 U/L, 82.39 U/L, 81.12 U/L, 78.48 U/L ve 86.15 U/L. S grubuna göre S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarında anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu gözlemlendi.

Kontrol grubu ALP seviyesi 151.8 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 115.5 U/L, 162.2 U/L, 151.2 U/L, 198.3 U/L ve 160.9 U/L. K grubuna göre S grubunda anlamlı azalma ($p<0.05$) ve S/V grubunda anlamlı artış ($p<0.05$) gözlenirken S grubuna göre S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarında anlamlı ($p<0.05$) bir artış gözlemlendi.

Kontrol grubu LDH seviyesi 2573 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 695 U/L, 1137 U/L, 1226 U/L, 2098 U/L ve 1841 U/L. K grubuna göre tüm grupların anlamlı ($p<0.05$) bir şekilde azaldığı gözlenirken S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) artış gösterdiği gözlemlendi.

Kontrol grubu kreatin kinaz (CK) seviyesi 741 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 212 U/L, 299 U/L, 349 U/L, 602 U/L, ve 495 U/L. S, S/P, S/H ve S/M gruplarının kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir şekilde azaldığı gözlenirken, S/H, S/V ve S/M gruplarının S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) yükseldiği tespit edildi.

Kontrol grubu amilaz seviyesi 2037 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının seviyesi sırasıyla şu şekilde ölçüldü 1885 U/L, 2476 U/L, 2433 U/L, 2311 U/L ve 1945 U/L. S/P ve S/H gruplarının K grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) yükseldiği gözlenirken, S/P, S/H ve S/V gruplarının S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir şekilde arttığı tespit edildi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının kan üre azot (BUN) miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 40.2 mg/dl, 23.13 mg/dl, 24.13 mg/dl, 26.7 mg/dl, 25.3 mg/dl ve

25.45 mg/dl. K grubuna göre tüm gruplarda anlamlı ($p<0.05$) bir azalış gözlenirken, S/H grubunda S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu gözlemlendi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının kreatinin miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 0.45 mg/dl, 0.35 mg/dl, 0.38 mg/dl, 0.34 mg/dl, 0.36 mg/dl ve 0.35 mg/dl. K grubuna göre tüm grupların belirgin ($p<0.05$) bir şekilde azaldığı tespit edildi.

Kontrol grubu total protein seviyesi 7.38 mg/dl ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının total bilirubin seviyesi sırasıyla şu şekilde ölçüldü 7.32 mg/dl, 7.32 mg/dl, 7.32 mg/dl, 7.24 mg/dl, ve 7.36 mg/dl. K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının globülin miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 3.03 mg/dl, 3.11 mg/dl, 2.95 mg/dl, 2.84 mg/dl, 2.84 mg/dl ve 2.91 mg/dl.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının demir miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 150.4 mg/dl, 172.29 mg/dl, 151.13 mg/dl, 132.49 mg/dl, 162.2 mg/dl ve 129.9 mg/dl S/H ve S/M gruplarında S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir azalma olduğu tespit edildi.

Kontrol grubu total demir bağlama (TIBC) seviyesi 309.5 mg/dl ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının total demir bağlama seviyesi sırasıyla şu şekilde ölçüldü 309.5 mg/dl, 331.8 mg/dl, 399.6 mg/dl, 429.6 mg/dl, 364.2 mg/dl ve 395.0 mg/dl. Kontrol grubuna göre S/H grubunda anlamlı ($p<0.05$) artış gözlenirken, S grubuna göre S/H ve S/M grubunda anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu tespit edildi.

Kontrol grubu glikoz seviyesi 141.6 mg/dl ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının glikoz seviyesi sırasıyla şu şekilde ölçüldü 280.5 mg/dl, 244.32 mg/dl, 187.15 mg/dl, 180.73 mg/dl ve 168.7 mg/dl. K grubuna göre tüm gruplarda anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu gözlenirken, S grubuna göre S/P, S/H, S/M ve S/V gruplarında anlamlı ($p<0.05$) bir azalış olduğu tespit edildi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının trigliserit miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 63.4 mg/dl, 29.6 mg/dl, 52.0 mg/dl, 40.7 mg/dl, 54.7 mg/dl ve 27.8 mg/dl. K grubuna göre S/H, S/M, S/V ve S gruplarında anlamlı ($p<0.05$) azalma gözlenirken, S grubuna göre S/P, S/H ve S/V gruplarında anlamlı ($p<0.05$) artma gözlemlendi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının kolesterol miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 57.4 mg/dl, 54.3 mg/dl, 58.0 mg/dl, 58.1 mg/dl, 52.6 mg/dl ve 49.9 mg/dl. S/M grubunun; K ve S grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının HDL miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 58.4 mg/dl, 54.2 mg/dl, 50.5 mg/dl, 55.9 mg/dl, 47.7 mg/dl ve 51.1 mg/dl. K grubuna göre S/P ve S/V gruplarında anlamlı ($p<0.05$) azalış gözlemlendi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının LDL miktarları sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 7.7 mg/dl, 1.8 mg/dl, 5.3 mg/dl, 5.2 mg/dl, 6.0 mg/dl ve 6.4 mg/dl. K grubuna göre S grubunda anlamlı ($p<0.05$) azalma görülürken, S/P ve S/H gruplarında artış gözlemlendi. S grubuna göre S/P, S/H, S/M ve S/V gruplarında anlamlı ($p<0.05$) artış gözlemlendi.

Kontrol grubu kortizol seviyesi 1.88 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının glikoz seviyesi sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 3.24 U/L, 2.01 U/L, 2.03 U/L, 1.80 U/L ve 2.06 U/L. Kontrol grubuna göre S grubunda anlamlı ($p<0.05$) artış gözlenirken, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarında anlamlı ($p<0.05$) şekilde azalarak kontrole yakın seviyede oldukları gözlemlendi.

Kontrol grubu serbest T4 miktarı 31.79 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M grupları şu şekilde ölçüldü 46.58 U/L, 44.65 U/L, 43.96 U/L, 44.73 U/L ve 38.4 U/L. K grubuna göre S, S/P, S/H ve S/V gruplarının anlamlı ($p<0.05$) arttığı gözlenirken, yalnız S/M grubunun S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) azaldığı gözlemlendi.

Kontrol grubu serbest T3 miktarı 6.36 U/L olarak ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının ise şu şekilde ölçüldü 6.91 U/L, 6.8 U/L, 5.93 U/L, 6.89 U/L ve

4.94 U/L.S/M grubunun K ve S grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) bir şekilde azaldığı tespit edildi.

Kontrol grubu total T4 miktarı 60.1 U/L ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 83.88 U/L, 83.88 U/L, 84.51 U/L, 92.37 U/L ve 77.58 U/L.K grubuna göre tüm gruplarda anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu gözlenirken, S grubuna göre S/V ve S/M gruplarında anlamlı ($p<0.05$) azalış olduğu tespit edildi.

K, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının eritrosit sayısı sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 8.94 ($10^{12} L^{-1}$), 8.35 ($10^{12} L^{-1}$), 9.04 ($10^{12} L^{-1}$), 8.81 ($10^{12} L^{-1}$), 8.64 ($10^{12} L^{-1}$) ve 8.67 ($10^{12} L^{-1}$). K grubu S grubuna göre anlamlı bir şekilde azalırken, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarında S grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi.

Kontrol grubu hemoglobin miktarı 17.02 g/dl ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının miktarı sırasıyla şu şekilde ölçüldü; 16.05 g/dl, 16.58 g/dl, 16.13 g/dl, 16.38 g/dl ve 15.82 g/dl. K grubuna göre S ve S/M gruplarında anlamlı azalma gözlemlendi.

Kontrol grubu trombosit sayısı $891.6/mm^3$ ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının sayısı sırasıyla şu şekilde ölçüldü; $752.8/mm^3$, $853.3/mm^3$, $844.5/mm^3$, $769.5/mm^3$ ve $822.8/mm^3$. K grubuna göre S ve S/V gruplarında anlamlı azalma görülürken S/P, S/H ve S/M gruplarında S grubuna göre anlamlı artış olduğu gözlemlendi.

Kontrol grubu lökosit sayısı (WBC) $4.59 (10^9 L^{-1})$ ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının lökosit sayısı sırasıyla şu şekilde ölçüldü; $2.33 (10^9 L^{-1})$, $2.82 (10^9 L^{-1})$, $3.04(10^9 L^{-1})$, $3.61 (10^9 L^{-1})$ ve $2.82 (10^9 L^{-1})$. K grubuna göre tüm gruplarda anlamlı bir azalma görülürken S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarında S grubuna göre anlamlı artış olduğu gözlemlendi.

Kontrol grubu lenfosit $2.32 (10^9 L^{-1})$ ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının lenfosit sayısı sırasıyla şu şekilde ölçüldü; $1.27 (10^9 L^{-1})$, $1.45 (10^9 L^{-1})$, $1.77 (10^9 L^{-1})$, $2.15 (10^9 L^{-1})$ ve $1.16 (10^9 L^{-1})$. K grubuna göre S, S/P, S/H ve S/M gruplarında anlamlı bir azalma görülürken S/H ve S/V gruplarında S grubuna göre anlamlı artış olduğu gözlemlendi.

Kontrol grubu monosit $1.21 (10^9 L^{-1})$, ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının lenfosit sayısı sırasıyla şu şekilde ölçüldü; $0.39 (10^9 L^{-1})$, $0.42 (10^9 L^{-1})$, $0.40 (10^9 L^{-1})$, $0.51 (10^9 L^{-1})$ ve $0.40 (10^9 L^{-1})$. K grubuna göre tüm gruplarda anlamlı bir azalma görülürken S/V grubunda S grubuna göre anlamlı artış olduğu gözlemlendi.

Kontrol grubu granülosit $1.48 (10^9 L^{-1})$, ölçülürken, S, S/P, S/H, S/V ve S/M gruplarının granülosit sayısı sırasıyla şu şekilde ölçüldü; $0.84 (10^9 L^{-1})$, $0.88 (10^9 L^{-1})$, $1.42 (10^9 L^{-1})$, $0.96 (10^9 L^{-1})$ ve $1.15 (10^9 L^{-1})$. K grubuna göre S, S/P, S/V ve S/M gruplarında anlamlı bir azalma görülürken S/V, S/H ve S/M gruplarında S grubuna göre anlamlı artış olduğu gözlemlendi.

İmmobilize stres sırasında oksidatif stresin zamanla tüm dokularda artarak tahribat oluşturduğunu ve antioksidan savunmanın bu hasarı kısmen de olsa engellediği sonucuna vardık. Uyguladığımız bitkilerin *Melissa officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Hypericum perforatum* ve *Valeriana officinalis* ekstrelerinin stres komplikasyonlarını anlamlı derecede azalttığı ve immobilize stres sonucu oluşan serbest radikallere karşı antioksidan özellik gösterdikleri gözlemlendi.

Bu çalışmanın önemli bulgusu özellikle fizyolojik bakımdan uygun ve düşük dozlu *Melissa officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Hypericum perforatum* ve *Valeriana officinalis* ekstrelerinin subakut stresin neden olduğu lipid peroksidasyon artışını engellemesi olmuştur. *Melissa officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Hypericum perforatum* ve *Valeriana officinalis* ekstrelerinin insanlara ilaç olarak verilmesinin ratlarla yaptığımız bu çalışmadaki gözlemlerimize benzer klinik antioksidan etkilerinin olup olmadığını incelemek ayrı bir öneme sahiptir.

SUMMARY

Stress can be described as the sum total of all the reactions of the body, which disturb the normal physiological equilibrium and result in a state of threatened homeostasis. Stress is an internationally recognized phenomenon fortified by advancement of industrialization and a demanding civilization. Thus, every person today faces stressful situations in day to day life.

Stress represents reaction of body to stimuli that tend to disturb its normal physiological equilibrium or homeostasis and has been defined as nonspecific response of the body to any demand imposed on it. Stress and depression and associated mental health problems have increased tremendously in modern times.

The search for effective and safe alternatives from natural sources especially plant products should, therefore, continue. Since the introduction of adaptogens, several plants have been investigated, which were once used as tonics due to their adaptogenic and rejuvenating properties in traditional medicine. The drugs of plant origin are gaining increasing popularity and are being investigated for remedies of a number of disorders including antistress adaptogenic activity.

The rats were used for the study. Adult male Wistar albino rats (250–350 g) were obtained from the Central Animal House Facility of Firat University, Elazığ, Turkey. The animals, kept in poly- propylene cages, were housed in air conditioned room at 22 ± 2 °C and maintained on standard pellet feed and water was given ad libitum. The rats were housed (6 animals /cage) under a controlled light / dark cycle (12/12-h light/dark). The rats were kept for 20 days in laboratory for habituation.

Rats (N=6) were divided into the following six groups: control (C), immobilization stress (S), immobilization stress administration of *Hypericum perforatum* (S/H), immobilization stress administration of *Melissa officinalis* (S/M), immobilization stress administration of *Valeriana officinalis* (S/V) and immobilization stress administration of *Passiflora incarnata* (S/P). We report the investigations the adaptogenic property of standardised extract of *H. perforatum* L.,

M. officinalis L., *P. incarnata L.* and *V. officinalis L.* against subacute immobilization stress model in rats.

Among the various methods employed, immobilization has been used extensively and accepted widely for studying the stress-induced physical as well as psychological alterations and the consequences of the stress. In our experiments, the stress was produced by restraining individual animal inside an acrylic hemicylindrical plastic tube (4.5-cm diameter, 12 cm long). The rats exposed to immobilization stress for 120 min for seven consecutive days in subacute stress, were intragastric with extracts for seven days, one hour prior to each exposure of stress.

To prevent variation in plasma corticosterone levels from day to day, we carried out our immobilization stress experiments daily (7 days a week) between 9:00 and 11:00 a.m. The plasma corticosterone level is lowest during the morning in rats. Therefore, we chose morning hours to perform our experiments to get the maximum stress response. The immobilization stress was induced daily for 2 hr by putting the animals in plexiglass tubes. Preliminary experiments showed that the peak level of plasma corticosterone was reached within 60 min of immobilization stress and lasted as long as the experimental duration. Therefore, we used a 2-hr stress protocol in our experiments.

The rats were sacrificed immediately after stress under ether anaesthesia, the abdomen and thorax were cut open, and blood was collected through cardiac puncture. The blood was centrifuged at 3000 rpm-15 min the serum was separated.

The serum was used to estimate glucose, triglyceride, cholesterol, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and creatine kinase (CK), gamma glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), cholesterol, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), uric acid, ferritin, magnesium, bilirubin, amylase, albumin, total protein, blood urea nitrogen (BUN) using autoanalyzer (Roche, Cobas Integra 400

plus) and serum hormones parameters as cortisol, total thyroid T4, free T3 and free T4 using autoanalyzer (Roche, Immulite 2000) with their respective kits.

Total blood was used to estimate erythrocyte, white blood cell, monocytes, granulocytes and lymphocytes number. Brain and stomach were dissected for malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT) analyses. Erythrocyte catalase (CAT) and glutathione-S-transferase (GST) were measured from the prepared erythrocyte packs. The results that came out were statistically interpreted according to Mann-Whitney test.

The body weight, water and fed consumption of the animals was determined at the beginning of the experiment, every day during the experiment and 24 hr prior to decapitation. In control group (K) that we assigned, while a 0,57% weight increase was observed until the end of the experiment, among the groups which were treated with different plant extracts but which were fed by same conditions and food, weight decrease was recorded in S, S/P, S/H, S/V, and S/M groups, 4,84%, 1,57%, 0,97% 2,21%, 1,83% consequently.

It was found that serum MDA amount of control (nmol MDA/ml) group was 79.5, group S was 88.6, group S/P was 77.2, group S/H was 80.6, group S/V was 76,5 and group S/M was 68. It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) decrease in group S/P S/V and S/M when compared to group S.

While brain MDA value of K group (nmol MDA/100 mg brain wet weight) was 83.9, group S was measured as 118.8, group S/P was measured as 81.1, group S/H was measured as 92.3, group S/V was measured as 107.8 and group S/M was measured as 95.3. It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S and S/V compared to group K but It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) decrease in group S/P S/H and S/M when compared to group S.

While stomach MDA value of control group (nmol MDA/100 mg stomach wet weight) was 54.4 nmol, group S was measured as 59.2, group S/P was measured as

58.3, group S/ H was measured as 58.1, group S/V was measured as 57.7 and group S/M was measured as 56.4. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) increase in group S, S/P and S/H compared to group K.

While serum GSH of control group was 236.8 (nmol GSH/ml), group S was measured as 229, group S/P was measured as 293.6, group S/H was measured as 319.3, group S/V was measured as 312.6 and group S/M was measured as 303.2. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) increase in group S/H, S/V and S/M compared to group K.

While brain GSH of control group (nmol GSH/100 mg brain wet weight) was 229.2, group S was measured as 214.8, group S/P was measured as 197.7, group S/H was measured as 221.8, group S/V was measured as 202.7 and group S/M was measured as 219.9.

While stomach GSH of control (nmol GSH/100 mg stomach wet weight) group was 326.4, group S was measured as 252.7, group S/P was measured as 293.5, group S/H was measured as 259.5, group S/V was measured as 281.9 and group S/M was measured as 351.6. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) increase in group S/H, compared to group K and It was observed that there was a significant ($p<0.05$) increase in group S/M, compared to group S.

It was found that erythrocyte catalase (CAT) amount of control group was 16.3 (EU/ml), group S was 15.5, group S/P was 15.6, group S/H was 15.6, group S/V was 13.7 and group S/M was 15.8.

It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in group S/M, compared to group K and a significant ($p<0.05$) increase in group S/M, compared to group S.

While brain CAT value of control group was 2,3 (EU/mg), group S was measured as 2.1, group S/P was measured as 2.2, group S/ H was measured as 2.4, group S/V was measured as 2.0 and group S/M was measured as 2.4.

While stomach CAT value of control group was 4.7 (EU/100 mg) group S was measured as 4.2, group S/P was measured as 4.6, group S/ H was measured as 4.5, group S/V was measured as 4.8 and group S/M was measured as 6.0.

It was found that erythrocyte GST amount of control group was 0.713 (EU/ml), group S was 0.559, group S/P was 0.713, group S/H was 0.713, group S/V was 0.617 and group S/M was 0.559.

While brain GST value of control group was 10.4 (EU/mg, group S was measured as 8.4, group S/P was measured as 8.9, group S/ H was measured as 10.2, group S/V was measured as 10.9 and group S/M was measured as 10.0.

While stomach GST value of control group was 11.0 (EU/mg) group S was measured as 7.5, group S/P was measured as 11.0, group S/H was measured as 13.0, group S/V was measured as 10.3 and group S/M was measured as 16.4. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) increase in group S/M, S/V and S/H compared to group S.

While the uric acid value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 1.94 mg/dl, 3.45 mg/dl, 3.17 mg/dl, 2.29 mg/dl, 1.83 mg/dl and 2.1 mg/dl. A significantly ($p<0.05$) increase when compared to the control group was observed in S and S/P groups and It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in group S/M, S/V and S/H compared to group S.

In control group while Total bilirubin value was measured as 0.14 mg/dl, it was measured as 0.09 mg/dl, 0.13 mg/dl, 0.16 mg/dl, 0.16 mg/dl, and 0.14 mg/dl in groups S, S/P, S/H, S/V and S/M. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in group S compared to group K and It was observed that there

was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/P, S/H, S/V and S/M compared to group S.

While control group albumin result was measured as 4.30 mg/dl, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 4.21 mg/dl, 4.36 mg/dl, 4.40 mg/dl, 4.49 mg/dl, and 4.34 mg/dl. While the ferritin value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 133.3 mg/dl, 131.7 mg/dl, 116.7 mg/dl, 131.5 mg/dl, 143.5 mg/dl and 110.4 mg/dl.

While GGT level of control group was measured as 0.76 U/L, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 0.34 U/L, 0.40 U/L, 0.47 U/L, 0.50 U/L and 0.64 U/L. GGT levels of groups S, S/P and S/H a significant ($p < 0.05$) decrease when compared to group K and It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/M compared to group S.

While AST values of group K was measured as 120 U/L, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 83.7 U/L, 113.69 U/L, 103.5 U/L, 150.9 U/L and 133.5 U/L. It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) decrease in group S and S/H compared to group K and there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/V and S/M compared to group K. It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/P, S/H, S/V and S/M compared to group S.

While ALT amount of group K was measured as 73.4 U/L, group S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 73.41 U/L, 59.7 U/L, 82.39 U/L, 81.12 U/L, 78.48 U/L and 86.15 U/L. It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/P, S/H, S/V and S/M compared to group S.

While ALP amount of group K was measured as 151.8 U/L, group S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 115.5 U/L, 162.2 U/L, 151.2 U/L, 198.3 U/L, and 160.9 U/L. It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) decrease in group S compared to group K and there was a significant ($p < 0.05$) increase in groups S/V. It

was observed that there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/P, S/H, S/V and S/M compared to group S.

While LDH amount of group K was measured as 2573 U/L, group S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 695 U/L, 1137 U/L, 1226 U/L, 2098 U/L, and 1841 U/L. It was found that all groups indicated a significant decrease when compared to group K and It was observed and that there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/P, S/H, S/V and S/M compared to group S.

While creatine kinase (CK) amount of group K was measured as 741 U/L, group S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 212 U/L, 299 U/L, 349 U/L, 602 U/L, and 495 U/L. It was found that S, S/P, S/H and S/M groups indicated a significant decrease when compared to group K and It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/H, S/V and S/M compared to group S.

While amylase amount of group K was measured as 2037 U/L, group S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 1885 U/L, 2476 U/L, 2433 U/L, 2311 U/L, and 1945 U/L. It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/P and S/H compared to group K and there was a significant ($p < 0.05$) increase in group S/P, S/H and S/V compared to group S.

While the blood urea nitrogen (BUN) value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 40.2 mg/dl, 23.13 mg/dl, 24.13 mg/dl, 26.7 mg/dl, 25.3 mg/dl and 25.45 mg/dl. While there was a significant decrease in all groups when compared to group K and there was a significant increase in S/H group when compared to group S.

While the creatinin value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 0.45 mg/dl, 0.35 mg/dl, 0.38 mg/dl, 0.34 mg/dl, 0.36 mg/dl and 0.35 mg/dl. It was found that all groups indicated a significant decrease when compared to group K.

While Total protein value was measured as 7.38 mg/dl, it was measured as 7.32 mg/dl, 7.32 mg/dl, 7.24 mg/dl, and 7.36 mg/dl in groups S, S/P, S/H, S/V and S/M. While the globulin value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 3.03 mg/dl, 3.11 mg/dl, 2.95 mg/dl, 2.84 mg/dl, 2.84 mg/dl and 2.91 mg/dl.

While the serum iron value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 150.4 mg/dl, 172.29 mg/dl, 151.13 mg/dl, 132.49 mg/dl, 162.2 mg/dl and 129.9 mg/dl. While there was a significant decrease in S/H and S/M when compared to group S.

While the total Iron-binding capacity (TIBC) value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 309.5 mg/dl, 331.8 mg/dl, 399.6 mg/dl, 429.6 mg/dl, 364.2 mg/dl and 395.0 mg/dl. While there was a significant increase in S/H when compared to group K and there was a significant increase in S/H and S/P when compared to group S.

In control group while glucose value was measured as 141.6 mg/dl, it was measured as 280.5 mg/dl, 244.32 mg/dl, 187.15 mg/dl, 180.73 mg/dl, and 168.7 mg/dl in groups S, S/P, S/H, S/V and S/M. It was observed that there was a significant ($p < 0.05$) increase in all groups compared to group K and there was a significant ($p < 0.05$) decrease in group S/P, S/H, S/M and S/V compared to group S.

While the triglyceride value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 63.4 mg/dl, 29.6 mg/dl, 52.0 mg/dl, 40.7 mg/dl, 54.7 mg/dl and 27.8 mg/dl. While there was a significant ($p < 0.05$) decrease in S/H, S/M, S/V and S when compared to group K and there was a significant ($p < 0.05$) increase in S/P, S/H and S/V when compared to group S.

While the cholesterol value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 57.4 mg/dl, 54.3 mg/dl, 58.0 mg/dl, 58.1 mg/dl, 52.6 mg/dl and 49.9

mg/dl. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in S/M group compared to groups K and S.

While the HDL value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 58.4 mg/dl, 54.2 mg/dl, 50.5 mg/dl, 55.9 mg/dl, 47.7 mg/dl and 51.1 mg/dl. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in S/P and S/V groups compared to group K.

While the LDL value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 7.7 mg/dl, 1.8 mg/dl, 5.3 mg/dl, 5.2 mg/dl, 6.0 mg/dl and 6.4 mg/dl. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in S group but a significant ($p<0.05$) increase S/P and S/H compared to group K. There was a significant ($p<0.05$) increase in S/P, S/H, S/M and S/V groups compared to group S.

While cortisol level of control group was measured as 1.88 U/L, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 3.24 U/L, 2.01 U/L, 2.03 U/L, 1.80 U/L and 2.06 U/L. Cortisol levels of S group indicated a significant increase when compared to group K. Groups S/P, S/H, S/V and S/M reduced this increase and significantly approximated to group K.

While free T4 level of control group was measured as 31.79 U/L, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 46.58 U/L, 44.65 U/L, 43.96 U/L, 44.73 U/L and 38.4 U/L. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) increase in S, S/P, S/H and S/V groups compared to group K and there was a significant ($p<0.05$) decrease in S/M group compared to group S.

While free T3 level of control group was measured as 6.36 U/L, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 6.91 U/L, 6.8 U/L, 5.93 U/L, 6.89 U/L and 4.94 U/L. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in S/M group compared to groups K and S.

While total T4 level of control group was measured as 60.1 U/L, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 83.88U/L, 83.88 U/L, 84.51 U/L, 92.37 U/L and 77.58 U/L. While there was a significant increase in all groups when compared to group K. There was a significant ($p<0.05$) decrease in S/V and S/M groups compared to group S.

While the red blood cell (RBC) value of groups K, S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as $8.94 (10^{12} L^{-1})$, $8.35 (10^{12} L^{-1})$, $9.04 (10^{12} L^{-1})$, $8.81 (10^{12} L^{-1})$, $8.64 (10^{12} L^{-1})$ and $8.67 (10^{12} L^{-1})$. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in S group compared to group K and there was a significant ($p<0.05$) increase in S/P, S/H, S/V and S/M groups compared to group S.

While haemoglobin level of control group was measured as 17.02 U/L groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 16.05, 16.58 U/L, 16.13 U/L, 16.38 U/L and 15.82 U/L.). It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in S and S/M groups compared to group K.

While platelets (thrombocytes) level of control group was measured as 891.6, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as 752.8, 853.3, 844.5, 769.5 and 822.8.). It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in S and S/V group compared to group K and there was a significant ($p<0.05$) increase in S/P, S/H and S/M groups compared to group S.

While white blood cell (WBC) level of control group was measured as $4.59 (10^9 L^{-1})$, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as $2.33(10^9 L^{-1})$, $2.82(10^9 L^{-1})$, $3.04(10^9 L^{-1})$, $3.61(10^9 L^{-1})$ and $2.82(10^9 L^{-1})$. It was observed that there was a significant ($p<0.05$) decrease in all groups compared to group K and there was a significant ($p<0.05$) increase in S/P, S/H, S/V and S/M groups compared to group S.

While lymphocyte level of control group was measured as $2.32 (10^9 L^{-1})$, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as $1.27 (10^9 L^{-1})$, $1.45 (10^9 L^{-1})$, $1.77 (10^9 L^{-1})$, $2.15 (10^9 L^{-1})$ and $1.16 (10^9 L^{-1})$. It was observed that there was a significant

($p < 0.05$) decrease in S, S/P, S/H and S/M groups compared to group K and there was a significant ($p < 0.05$) increase in S/H and S/V groups compared to group S.

While monocyte level of control group was measured as $1.21 (10^9 L^{-1})$, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as $0.39 (10^9 L^{-1})$, $0.42 (10^9 L^{-1})$, $0.40 (10^9 L^{-1})$, $0.51 (10^9 L^{-1})$ and $0.40 (10^9 L^{-1})$. While there was a significant decrease in all groups when compared to group K and there was a significant ($p < 0.05$) increase in S/V group compared to group S.

While granulocyte cell level of control group was measured as $1.48 (10^9 L^{-1})$, groups S, S/P, S/H, S/V and S/M was measured as $0.84 (10^9 L^{-1})$, $0.88 (10^9 L^{-1})$, $1.42 (10^9 L^{-1})$, $0.96 (10^9 L^{-1})$ and $1.15 (10^9 L^{-1})$. While there was a significant decrease in S, S/P, S/V and S/M groups when compared to group K and there was a significant ($p < 0.05$) increase in S/V, S/H and S/M groups compared to group S.

We concluded that oxidative stress increased in immobilization stress in time and caused damage in all tissues and antioxidant defence prevented this damage even in part. the plants that we treated, we observed that especially *Melissa officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Hypericum perforatum* and *Valeriana officinalis* reduced stress complications significantly parameters, and were found to show antioxidant properties for oxidative stress generated during immobilization stress.

We feel that the important finding of present study is that especially *Melissa officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Hypericum perforatum* and *Valeriana officinalis* used in stress protection prevented the increased lipid peroxidation induced by subacute stress at a low, physiologically relevant dosage. There, it is important to examine whether *Melissa officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Hypericum perforatum* and *Valeriana officinalis* administration in humans would have clinical antioxidant effects similar to those observed by us in rats.

