

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEMİR DİKENİ (*TRIBULUS TERRESTRIS*) UYGULAMASININ  
FARE KARACİĞER DOKUSUNDA IL-17 (*İNTERLÖKİN 17*) SALINIMI  
ÜZERİNE ETKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK  
BELİRLENMESİ

Feramuz ŞEN  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI

2019 - KARS

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DEMİR DİKENİ (*TRIBULUS TERRESTRIS*) UYGULAMASININ  
FARE KARACİĞER DOKUSUNDA IL-17 (*İNTERLÖKİN 17*) SALINIMI  
ÜZERİNE ETKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK  
BELİRLENMESİ**

**Feramuz ŞEN**  
**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI**

**2019 - KARS**

TC  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı** Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Feramuz ŞEN tarafından hazırlanmış olan **Demir Dikeni (*Tribulus Terrestris*) Uygulamasının Fare Karaciğer Dokusunda IL-17 (*İnterlökin 17*) Salınımı Üzerine Etkisinin İmmünohistokimyasal Olarak Belirlenmesi** adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/06/2019

Adı Soyadı:

Başkan: Prof. Dr. Şahin ASLAN

Üye: Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI

Üye: Doç. Dr. Buket BAKIR

İmza:  


Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu çalışma halk hekimliğinde kullanılan ve aynı zamanda yetiştiği bölgeler de özellikle küçük baş hayvanlar tarafından tüketilen, Avrupa, Asya, Afrika ve Orta Doğunun birçok yerinde yetişen Demir Dikeni (*Tribulus Terrestris*) nin, sitokinler ailesine üye olan IL-17' nin karaciğer dokusundaki salınımı üzerine etkisinin immünohistokimyasal olarak incelenmesi amacı ile yapılmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana bilgi ve deneyimlerini aktarıp yol gösteren sabrı ve manevi desteği ile her daim yanımda olan değerli danışmanım Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI' ya, tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Şahin ASLAN, Prof. Dr. Serpil DAĞ, Doç. Dr. Turgay DEPREM, Doç. Dr. Serap KORAL TAŞÇI' ya laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğretim Üyesi Hasan ASKER, Dr. Öğretim Üyesi Şükran YEDİEL ARAS, birlikte çalıştığımız Gökhan BAYRAKÇI, Habibe GÜNDOĞDU, Doktora Öğrencisi Serap İLHAN' a, Direniş HARMANKAYA' ya ve manevi desteği ile her daim yanımda olan aileme ve adını yazamadığım emeği geçen herkese çok teşekkürler ederim.

**İÇİNDEKİLER**

<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>IV</b>
<b>TABLO DİZİNİ</b> .....	<b>VII</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>IX</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>X</b>
<b>1. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>1</b>
1.1. Karaciğer .....	2
1.2. Demir Dikeni .....	5
1.3. Sitokinler .....	7
1.4. İnterlökin-17.....	10
<b>2. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>13</b>
2.1. Deney Hayvanı Materyali .....	13
2.2. Histolojik İnceleme .....	13
2.3. İmmünohistokimyasal İnceleme.....	14
<b>3. BULGULAR</b> .....	<b>15</b>
3.1. Histopatolojik Bulgular .....	15
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	19
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>23</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b> .....	<b>27</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>38</b>

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>SİMGE</b>	<b>AÇIKLAMA</b>
g	Gram
kg	Kilo Gram
ml	Mililitre
°C	Santigrat Derece
lt	Litre
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mol	Molar

<b>KISALTMA</b>	<b>AÇIKLAMA</b>
Lig.	Ligament
İTO	Karaciğer Yıldızlı Hücreler
PTN	Protodiosin (Kimyasal Bileşen)
AST	Aspartat Aminotransferaz
ALT	Alanin Aminotransferaz
ALP	Alkalin Fosfataz
TBIL	Total Bilirubin
GSH	Glutasyon Hormonu
GR	Glutasyon Redüktaz
GST	Glutasyon S-Transferaz
IL-17	İnterlökin 17
CD4+T	Yardımcı T Lenfositleri
CTLA-8	Sitotoksik T-Lenfosit İle ilişkili Protein - 8
IL-6	İnterlökin 6
IL-8	İnterlökin 8
CSF	Koloni Stimüle Edici Faktör
PGE2	Prostaglandin E2
Th17	Yardımcı T17 hücreleri
CD8	Sitotoksik T hücreleri
NKT	Doğal Öldürücü T hücreleri
RA	Romatoid Artrit
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus

MS	Multipl Skleroz
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
SSc	Sistemik Sclerosis
TNF- $\alpha$	Tümör Nekrotizan Faktörü Alfa
TGF- $\beta$	Transforming Büyüme Faktörü Beta
KCs	Kuffer Hücreleri





**TABLO DİZİNİ**

**Tablo 1.** Gruplar arası IL-17 immünoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.....19



## VIII

### RESİMLER

Resim 1. Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. Üçlü boyama (Triple).....	16
Resim 2. Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. H&E boyama.....	16
Resim 3. Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. H&E boyama.....	17
Resim 4. DD grubu. Fare karaciğer dokusu. Üçlü boyama (Triple).....	17
Resim 5. DD grubu. Fare karaciğer dokusu. H&E boyama .....	18
Resim 6. Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. IL-17 immünoreaktivitesi.....	20
Resim 7. Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. IL-17 immünoreaktivitesi.....	20
Resim 8. DD grubu. Fare karaciğer dokusu. IL-17 immünoreaktivitesi.....	21
Resim 9. DD grubu. Fare karaciğer dokusu. IL-17 immünoreaktivitesi.....	21
Resim 10. Negatif. Fare karaciğer dokusu.....	22

## ÖZET

**Demir Dikeni (*Tribulus Terrestris*) Uygulamasının Fare Karaciğer Dokusunda IL-17 (İnterlökin 17) Salınımı Üzerine Etkisinin İmmünohistokimyasal Olarak Belirlenmesi.**

Bu çalışmada cinsel iktidarsızlığı gidermek için önerilen, sporcular tarafından kas fonksiyonlarını geliştirmek için tüketilen, besin takviyelerinin bileşenine dahil edilen ve geleneksel halk hekimliğinde ilaç olarak kullanılan Demir Dikeni uygulamasının fare karaciğer dokusunda, proinflatuar bir sitokin olan IL-17' nin salınımı üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu araştırma 16 adet 40 günlük erkek fare (Balb-c cinsi) kullanıldı. Bir haftalık alıştırmaya süresi sonunda her kafeste dört hayvan olacak şekilde fareler rastgele seçilerek iki gruba ayrıldı. Gruplar: Kontrol Grubu (n=8), Demir Dikeni grubu (n=8) olmak üzere iki grup olacak şekilde oluşturuldu. Kontrol Grubundaki farelere herhangi bir uygulama yapılmadı. Demir Dikeni Grubundaki farelere ise 6 mg/kg distile su içinde çözünmüş Demir Dikeni (*Tribulus Terrestris*) ekstratı 7 gün boyunca oral gavaj yöntemiyle verildi. Eter anestezi altında fareler servikal dislokasyon yoluyla ötenazi edilerek karaciğer dokuları histolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar için %10'luk formaldehit solüsyonuna alındı. Karaciğer dokusunu genel yapısını incelemek amacıyla Crossman' ın üçlü boyama tekniği ve Hematoksilen-Eosin boyaması kullanıldı. Alınan bu kesitlerde İmmünohistokimyasal yöntemler uygulandı.

Sonuç olarak kontrol grubunda IL-17' nin birkaç hepatosit sitoplazmasında, Kupffer hücrelerinde ve sinuzoid endotelinde kuvvetli reaksiyon verdiği ve Demir Dikeni' nin IL-17 salınımını azalttığı belirlendi ve elde edilen bu verilerin Demir Dikeni ile ilgili ilerde yapılacak çalışmalara destek sağlayabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Fare, Demir Dikeni (*Tribulus Terrestris*), Karaciğer, İnterlökin-17

## SUMMARY

### **The determination of the effect of Tribulus Terrestris application on the release of IL-17 (Interleukin 17) on the livers of the mice as immunochemically.**

In this study, it was aimed to determine the effect of Tribulus Terrestris application which is recommended to relieve impotency, consumed by athletes to improve muscle function, included in the component of nutritional supplements and used as medicine in traditional folk medicine on the release of IL-17, a proinflammatory cytokine in mouse liver tissue.

This study used 16 male mice (Balb-c) which are 40 days old. After a one week of running-in period the mice were randomly divided into two groups, each cage would have four mice in it. Two group was formed as control group (n=8) and Tribulus Terrestris group (n=8). No practice was implemented on control group. Meanwhile, mice in Tribulus Terrestris group were given tribulus terrestres extract dissolved in distilled water for 7 days through oral gavage. The mice liver samples were placed in 10% formaldehyde solution in order to operate histological and immunohistochemical practices after being euthanized through cervical dislocation. In order to examine the general structure of liver Crossman's trichrome stain technique and hematoxylin-eosin staining practices were implemented. Immunohistochemical methods were applied in these section.

As a result, it was noted that IL-17 reacts strongly in a few hepatocyte cytoplasm, Kupffer cells and sinusoid endothelium. It was also determined that Tribulus Terrestris reduces the IL-17 production and it was realized that this study could deliver a support concerning the studies conducted on this issue.

**Keywords:** Mice, Tribulus Terrestris, Liver, Interleukin-17.

## 1. GENEL BİLGİLER

Demir Dikeni (*Tribulus terrestris*) Avusturalya orjinli bir bitkidir. Akdeniz bölgesinde, Hindistan, Çin, Güney Amerika, Meksika, İspanya, Bulgaristan ve subtropikal ve çöl iklimi bölgelerinde bulunan bir çalılıktır. Geleneksel bir ilaç olarak en fazla Hindistan ve Çin' de kullanılır (Chhatre ve ark. 2014). Bu bitkinin meyvesi (Caltrop fruit) ve kökü farmakolojik olarak önemli olan fitosteroidler, flavonoidler, alkaloidler ve glikosidleri içerir (Wu ve ark.1996). Ayrıca içeriğinde İnulin de bulunmaktadır. İnulin düşük enerji sağlayan bir polisakkarittir ve bu özelliğinden dolayı un, şeker, yağ yerine besin desteklerinde gıda sanayiinde kullanılmaktadır (M.Campennelli ve ark. 2016). Demir Dikeni bitkisi; idrar taşı, Parkinson hastalığı, karaciğer, göz hastalıkları ve iyi huylu prostat hiperplazisi gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Arcasoy ve ark. 1998, Li ve Shi. 1998).

Karaciğer, kırmızı-kahverengi görünümünde olup deriden sonra vücudun en büyük organı ve en büyük bezidir (Erdost ve ark. 2016). Bu organ, embriyonik dönemde diğer organlara göre erken gelişir ve homeostazi sağlar (Şeftalioğlu 1998). Karaciğer vücut ağırlığının %2,5 oluşturur ve erkekte 1400-1600, kadında 1200-1400 gr normal ağırlığa sahiptir (Sarsılmaz 2000). Dışını kaplayan zar sayesinde sağlam ve elastik bir görünüme sahip olmasının yanında kolay parçalanabilen bir yapıdadır (Moore ve Dalley 2007). Sindirim sisteminde besinlerin emilimi sağlanarak vücut tarafından kullanılması ve depolanması gibi endokrin ve ekzokrin fonksiyona sahip bir organdır. Kan akımı yüksektir fakat vasküler direnç düşüktür ve dakikada yaklaşık 1.050 ml kan portal ven yolu ile gelir ve sinuzoidlere dökülür (Rocha ve ark. 2007).

IL-17, 155 aminoasitten oluşur ve CD4 lenfositleri ile birlikte T hücre alt kümesi olan yardımcı T hücreleri tarafından üretilir. Sitokin ailesinden farklı bir protein yapısına sahip olan IL-17 vücut savunmasında önemli rol oynar (Veldhoen ve ark. 2006). IL-17 proinflamatuvar cevabı uyarır, ekstrasellüler patojenleri kontrol eder, matriks yıkımını ve yeni damar oluşumunu indükler

(Gold ve ark. 2008). Ayrıca sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarında B lenfosit proliferasyonu ve antikor üretiminde görev alır ( Yang ve ark. 2009).

### 1.1. Karaciğer

Diyaframın hemen altında ve karın boşluğunun sağ üst bölümüne yerleşmiş şekilde bulunan karaciğer, arka tarafta mide ve bağırsaklar ile üstte ise akciğer tarafından çevrelenmiştir ve abdominal basınç yardımı ile yerinde sabit kalmaktadır (Sarsılmaz 2000)

Karaciğer ilk olarak primitif barsak epitelinde halka şeklinde görülür. Bu halkaya Hepato-pankreatik halka adı verilir. Hepato-pankreatik halkanın ventral taslağı karaciğere ait olup bu taslak epitel kalınlaşması şeklindedir (Kayalı ve ark. 2000). Epitelin kalınlaştığı kısma karaciğer lameli adı verilir. Bu lamelin ventral duvarının kalınlaşması karaciğer divertikülünü oluşturur (Hepaticum diverticulum). Bu divertikülün kranial kısmı karaciğer parçası, kaudal kısmı da safra kesesi parçası şeklinde isimlendirilir (Eşrefoğlu 2016).

Karaciğer stroması Glisson kapsülü adı verilen kollajen ve elastik iplik içeren ince bir bağ doku kapsülü ile sarıdır (Yıldırım 2004). Glisson Kapsülü tabakalar halinde sıralanarak 'sinuzoid' adı verilen kapiller sistemin yer aldığı süngere benzer bir hücre kütesini örter (Eşrefoğlu 2009).

### Karaciğer Lopçukları

Tip-1 ve Tip-3 kollajen lifler içeren bağ dokudan bölmeler, Glisson kapsülünden içeri doğru uzanır ve karaciğeri lobcuklara ayırır. Lobcukların her biri ortalama 0,2x2 mm boyutlarındadır ve karaciğerin en küçük yapısal ve işlevsel birimlerini oluşturur (Aktümsek 2004, Hatipoğlu 2004).

**Klasik hepatik lobçuk;** Deve ve domuz karaciğerinde görülen bu lobcuk tipinde bağ dokusu fazla olduğu için lobcuklar belirgindir. Diğer hayvanlarda ve insanlarda lobcuklar çok belirgin değildir. Klasik hepatik lobçuklar hegzagonal şekillidir. Bu lobçukların aralarında bulunan bağ doku alanına Kiernan aralığı veya Glisson üçgeni adı verilir. Klasik lobçukların her bir

köşesinde karaciğer üçlüsü olarak da isimlendirilen bir arter, bir ven, bir safra kanalı ve lenfatik damar bulunur (Junqueira ve ark. 1998, Tekelioğlu 2002). Karaciğerin kan dolaşımı fonksiyonel ve arteriyel şekilde olmaktadır. Kanın %70-80' inin girdiği yol olan ve vena porta ile başlayan dolaşım, fonksiyonel dolaşımdır. Vena porta abdominal organlardan gelen ve besin yönünden zengin kanı taşır (Junqueira ve Carneiro 2003).

**Portal lobçuk;** Bu lobçuk üçgen şeklinde görülmektedir ve karaciğer üçlüsü olarak isimlendirilen bölüm portal lobçuğun merkezi olarak kabul edilir. Portal lobçuk terminal portal dalların birim omurgası olarak görev yapar ve kendine özgü karakteristik özellikleri barındırır (Eşrefoğlu 2009).

**Karaciğer asinusleri;** İki farklı klasik hepatik lobçuğun vena sentralislerine doğru uzanan bölgeyi kapsar. Oval ya da eşkenar dörgen şeklinde belirginleşir. Bu bölümün sınırlarını arteria hepatikanın terminal kolları ile vena sentralisler belirler (Ross ve Pawlina 2014) Sinuzoidlere gelen kanın taşıdığı oksijen, besin miktarı ve hepatositlerin metabolik fonksiyonlarına göre üç kısma ayrılır. I.Bölge: klasik lobçuğun en dışındaki bölgedir, kan, oksijen ve besin maddeleri fazlaca bulunur. II. Bölge: orta bölgeye denir ve kan, oksijen ve besin maddelerinin miktarı orta derecede bulunur. III. Bölge: vena sentralisi saran ve oksijence fakir olan bölgedir. Bu bölgedeki hepatositler detoksifikasyonda rol oynar ve hipoksi nedeniyle hasara uğrama ihtimali daha fazladır (Junqueira ve ark. 1998, Özer ve ark. 2016) .

### **Karaciğer Hücreleri**

**Hepatositler;** karaciğerin temel yapı elemanıdır ve karaciğer hücrelerinin %60-70' ini oluşturur. Karaciğer epitel hücreleri olarak da bilinir. Altı veya daha fazla yüzeye sahip ve yaklaşık olarak 20-30 mikrometre büyüklüğündedir. Hematoksilen-Eozin ile boyanan kesitlerde, hepatosit sitoplazmasında mitokondri ve endoplazmik retikulum bol olduğu için sitoplazma eozinofilik görünür (Hall ve ark. 2016). Ekzokrin ve endokrin görevi bulunan hepatositler lobçuklarda birbirleriyle bağlantılı plaklar halinde gruplaşmışlardır ve bu gruplara Remark kordonları adı verilir. Bu plaklar

sinüzoidal kapillerle ayrılır. Hepatositler ile sinüzoidal kapiller arasında Disse aralığı bulunur. Disse aralığında bulunan mikrovilluslar sinüzoid lümenle karaciğer hücreleri arasında madde alış verişine yardımcı olur (Aytekin ve ark. 2006, Ovalle ve ark. 2013). Hepatositlerde hücrelerin fizyolojik olaylarına yardımcı olan ve hücreler arası iletişim fonksiyonu bulunan gap junctionlar mevcuttur (Tekelioğlu 2002).

Hepatositler 600–1200 ml/kg safra salgılar. Barsak lümeninden yağ emilimi, enterohepatik dolaşım yoluyla barsaklarda IgA'nın taşınması, hepatositlerde işlenen ağır metal ve ilaçların metabolik ürünlerinin atılması gibi görevleri bulunan safra, intraselüler safra kanlacıkları ile ekstrasellüler safra kanalcıklarına taşınır (Kumar ve ark. 2017).

**Kupffer hücreleri (Yıldız hücreler);** Monositlerden köken alır ve ilk kez 1876 yılında Von Kupffer tarafından keşfedilmiştir. Karaciğer hücrelerinin %15' ini oluşturur. Karaciğer perisünizoidal bağ dokusu içerisinde, klorid boya tekniği ile yıldızla benzetilerek “Sternzellen (yıldız)” diye isimlendirilmiş ve histoloji kitaplarında yerini almıştır (Ross ve Pawlina 2014).

Savunma mekanizmasında görev alan Kupffer hücreleri, viral enfeksiyonlar, alkol ve bakteriyel toksinlerin uyarıları sonucu çeşitli sitokinler üreterek hepatositlerin dejenerasyonuna sebep olur ve bununla birlikte; prostaglandin, interlökin (IL), tümör nekrozis faktör (TNF) ve diğer sitokinleri salgılar. Bu salgılar lokal hepatositleri etkiler (Stenback ve ark. 2002).

**İTO hücreleri (Karaciğer yıldız hücreler, yağ depolayan hücreler);** Mezenşimal kaynaklı olup Disse aralığında yer alır. Bu hücreler, hepatositler ve Kupffer hücreleri ile Disse aralığına yayılan lenfositler tarafından üretilen sitokinlere yanıt olarak tip 1 kollajen üretir (Junqueira ve Carneiro 2003). Sitokin ve büyüme faktörü salgısı yaparak karaciğerde fibrozun, hücre dışı matriksin ve kollajen sentezinin oluşmasında rolü olan özelleşmiş hücrelerdir. Oksidatif stres ve TGFβ yardımı ile etkin hale gelir. Kupffer hücreleri ile İTO hücreleri arasındaki iletişimi sitokinler sağlar ve bu durum fibrosiz oluşumuna neden olur (Washington ve ark. 2000).



## Karaciğer Fonksiyonları

Karaciğer, mide ve barsak sistemine entegre bir organ olarak detoksifikasyonda ve metabolik faaliyetlerde önemli görevler üstlenmiştir (Weisman ve ark.2006). Karaciğer safra üretiminin yanında (elektrolitler, su, kolesterol, fosfolipidler, bilirubin ve safra asitleri), plazma proteinlerini de üreterek dolaşıma dahil eder. Bu plazma proteinleri; ozmotik basınç ve madde taşınımını sağlayan (non-immün  $\alpha$ -globulinler, beta globulinler), kan pıhtılaşmasının önemli parçası olan (protrombin, fibrinojen), taşımalarda görev alan (glikoproteinler, haptogloblin, transferrin, hemopeksin), plazma hacminin ve doku sıvısının dengesini sağlayan (albüminler) proteinlerdir. Karaciğer ayrıca lipoprotein ve VLDL sentezler (Ross ve ark.2014).

Karaciğer; depolama özelliğine de sahiptir. A vitamini karaciğerde en fazla depolanan vitamindir ve bu vitaminin dolaşımdaki miktarına göre dolaşıma verilmesini de kontrol eder. Demir ve B12 vitamini depolanmasını da sağlar. D vitamini karaciğerde depolanmaz fakat bu vitaminin metabolik dönüşümünde rol oynar. Karaciğerin metabolizma artık ürünleri olan üre ve amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması, ilaçların ve toksinlerin indirgenmesi gibi görevleri de bulunmaktadır (Guyton 2001, Junqueira ve Carneiro. 2003).

Karaciğer, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında ve bu ürünlerin depolanmasında (glikojen) ve dönüştürülmesinde (fruktoz ve galaktozu glukoza çevirme) rol oynar (Raddatz ve Ramadori 2007). Ayrıca bilirubin glukuronat ve bilirubin sülfat'ın oluşmasında da görev alır (Hall ve ark. 2016).

### 1.2. Demir Dikeni

Demir Dikeni, Zygophyllaceae (yabani kimyongiller) ailesine ait yıllık bir bitkidir ve ülkemizde çoban çökerten adı ile de bilinmektedir (Duru ve Şahin 2012). 15-80 cm uzunluğunda toprağın yatayına büyüyen, küçük yapraklı, sarı renkte çiçekleri olan otsu bir bitkidir. Demir Dikeni' nin 10 mm

apında meyveleri vardır ve bu meyvelerin uçları sivrimsidir (Umay ve Bilgin 2010)

Yıl boyunca iek açan Demir Dikeni genellikle halk hekimliğinde kullanıldığı için tıbbi ve farmasötik açıdan önemli bir yere sahiptir. Yapısında steroidal saponinler (protodiosin, furostanol), sukroz, reçine, alkaloid, protein, azot, flavonoidler, peroksidaz, karbonhidratlar, fruktoz, glikozit, diastaz, tanen, diosgenin, gitogenin ve klorogenin gibi uçucu yağ içerirler (Wu ve ark. 1996, Kostova ve Dinchev 2005).

Demir Dikeni bitkisinde bulunan fitokimyasallar ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu; Çinde, Hindistanda ve Bulgaristanda yapılmıştır. Aynı bitkinin türleri ve içerdiği saponinler hakkında ki çalışmalar ise Azerbaycan, Türkiye, Moldova, Avustralya, Romanya, Güney Afrikada bulunmaktadır (Kostova ve Dinchev 2005). Demir Dikeninin Türkiyede yetiştiği bölgeler; özellikle Akdeniz ikliminin hakim olduğu iller ve Güney Doğu Anadolu bölgesi gibi sıcak olan bölgelerdir (Yeşil 2009).

Demir Dikeni meyve ve köklerinin, yapraklarının ve tohumlarının ayrı ayrı yararları bulunmaktadır. Demir Dikeni, yüksek tansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, ödemli hastalar, cilt hastalıkları, erkeklerde iktidarsızlık ve buna bağlı olarak görülen cinsel işlev bozukluklarının giderilmesinde faydaları belirtilmiştir (Kostova ve ark. 2002, Sun ve ark. 2006). Spermatogenezin gelişmesinde, korpus kavernosumun gevşemesinde, yaşlanan erkek ve kadınlarda hormon tedavisinde kullanılmaktadır (Tomova ve ark. 1981, Gauthaman ve Ganesan 2008, Jungmo ve ark. 2013).

Demir Dikeni meyvelerinin analjezik, laksatif ve tonik etkisi vardır. Bununla birlikte üriner sistemdeki enflamasyonun, mide spazmının ve karaciğer toksisitesinin giderilmesinde, böbrek taşlarının erimesinde, göz hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (Li ve Shi 1998, Shinwarl ve Khan 2000, Kamboj ve ark. 2011, Aijima ve ark. 2015).

Bu bitkinin, hipertansiyonda, hiperkolesterolemide ve kolik ağrılarında, ülseratif ağız ve mukoza iltihabının iyileştirilmesinde faydası olmakla birlikte hipoglisemik etkisi de olduğu bildirilmiştir (Arcasoy ve ark. 1998, Adaikan ve ark. 2000). İyi huylu prostat hiperplazisinin giderilmesinde, kasların gelişmesiyle sporcu performansının artmasında faydaları vardır (Lokesh ve ark. 2001, Krcik 2001).

### **1.3.Sitokinler**

Sitokinler, birçok hücre tarafından salgılan protein yapısında hormon benzeri moleküllerdir (Kelso 1989). Sitokin salınımı yapan hücreler: B ve T lenfositler, monositler, makrofajlar, fibroblastlar ve endotel hücreleridir. Sitokinler' in bağışıklık sisteminin düzenlenmesi ya da immün olaylara yanıt verirken doku hasarının giderilmesi, hematopoezis, hücre çoğalması, tümör büyümesi ve hücreler arası iletişim gibi rolleri vardır (Rose ve ark. 1994).

### **İnterlökinler**

İnterlökinler bağışıklık sisteminde salgılanan sitokinlerin önemli bir bölümünü oluşturup genellikle T lenfositler, makrofajlar, mast hücreleri, tarafından salgılanırlar. Bağışıklık sistemi hücrelerinin uyarılması, sekresyonlarının kontrolü gibi birçok biyolojik etkilere sahip çeşitleri vardır.

**İnterlökin-1 (IL-1);** ilk olarak 1977 yılında keşfedilmiştir ve 11 çeşidi vardır. (Özbay 2000, Akdis ve ark.2011)

**İnterlökin-2 (IL-2);** ilk olarak 1976 yılında keşfedilmiştir ve 15.5 kD malokül ağırlığındadır (Akdis ve ark. 2011).

**İnterlökin-3 (IL-3);** IL-3 kromozom 5 bölgesinde üretilen, koloni stimulan faktör olarak bilinen grubun üyesidir (Itoh ve ark. 1990).

**İnterlökin-4 (IL-4);** 15 kD molekül ağırlığında, yardımcı T2 (Th2), mast hücreleri, bazofil ve eozinofiller tarafından salgılanır (Wang ve ark. 2009).

**İnterlökin-5 (IL-5);** 40 Kd molekül ağırlığında, genellikle CD4, CD8, yardımcı T2 (Th2) ve mast hücreleri tarafından salgılanır (Lalani ve ark 1999).

**İnterlökin-6 (IL-6);** 184 aminoasitten oluşur, 26 kD ağırlığında ve aktive olmuş B ve T lenfositleri tarafından sentezlenir (Kishimoto 1989, Hurst ve ark.2001).

**İnterlökin-7 (IL-7);** 25 kD molekül ağırlığında, B hücresi büyüme faktörü ve lenfopietin-1 olarak da bilinen homeostatik bir sitokindir (Welch ve ark. 1989, Kılıçturgay 2003).

**İnterlökin-8 (IL-8);** nötrofiller, kreatonositler, T lenfositleri, endotel hücreleri, fibroblastlar ve fagositler tarafından üretilir (Abbas ve ark. 1991).

**İnterlökin-9 (IL-9);** aktive olmuş T lenfositleri tarafından üretilir (Akyol ve ark. 1994)

**İnterlökin-10 (IL-10);** makrofajlar, mast hücreleri, T lenfositler tarafından sentezlenir (Kim ve ark. 1992, Özbay 2000).

**İnterlökin-11 (IL-11);** stroma hücreleri, fibroblastlar, endotel hücreleri tarafından üretilmektedir (Uesniau 1992).

**İnterlökin-12 (IL-12);** interferon gama üretimini uyardığı, NK, ve CD8 sitotoksitesini artırdığı da belirtilmiştir (Kobayashi ve ark 1989).

**İnterlökin-13 (IL-13);** aktive olmuş yardımcı T2 (Th2) hücreler, mast hücreleri, basofil, eosinofil, doğal öldürücü hücreler tarafından üretilir (Baier 1997).

**İnterlökin-14 (IL-14);** 90 kD ağırlığındadır. B lenfositler tarafından üretilir (Güner ve ark. 1997).

**İnterlökin-15 (IL-15);** 13-15 kD ağırlığındadır. İmmün olmayan hücreler ile immün hücreler tarafından doğal immüniteyi uyarmak için üretilir (Baier 1997).

**İnterlökin-16 (IL-16);** T hücreleri, epitel hücreler, fibroblastlar, eosinofiller ve monositler tarafından üretilir (Baier 1997).

**İnterlökin-18 (IL-18);** makrofajlar, T hücreleri, Kupfferin hücreleri ve osteoblastlar tarafından üretilir (Okamura ve ark.1995)

**İnterlökin-19 (IL-19);** 35-40 kD ağırlığındadır. Makrofajlar ve B hücreleri tarafından üretilir (Gallagher ve ark. 2000).

**İnterlökin-20 (IL-20);** monositler, epitel hücreleri, endotel hücreler ve keratinositler tarafından üretilir (Blumberg ve ark. 2001).

**İnterlökin-21 (IL-21);** T hücreleri, doğal öldürücü hücreler, yardımcı T17 (Th17) ve CD8 hücreleri tarafından üretilir (Parrish ve ark. 2000, Coquet ve ark. 2007).

**İnterlökin-22 (IL-22);** aktive edilmiş T hücreler, doğal öldürücü hücreler, yardımcı T17 ve T22 hücreleri tarafından üretilir (Wolk ve ark. 2002, Wolk ve ark. 2004).

**İnterlökin-23(IL-23);** makrofajlar, aktive edilmiş dentritik hücreler, barsakta, akciğerlerde ve bu iki organın çevre dokularında üretilir (Oppman ve ark. 2000), Parham ve ark.2002).

**İnterlökin-24 (IL-24);** melanositler, T hücreleri ve monositlerde üretilir (Jiang ve ark.1995).

**İnterlökin-25 (IL-25);** IL-17E olarak da adlandırılan bir sitokindir. Yardımcı T2 (Th2) hücreler, mast hücreleri, eosinofil ve basofiller tarafından üretilir (Fallon ve ark. 2006).

**İnterlökin-26 (IL-26);** Herpes virüs transformasyonundan sonra insan T hücrelerinde keşfedilmiştir (Knappe ve ark.2000).

**İnterlökin-27 (IL-27);** yardımcı T1 (Th1) hücreleri ve dentritik hücreler tarafından üretilir (Pflanz ve ark. 2002).

**İnterlökin-28 (IL-28);** yardımcı T1 hücreleri, monositler ve dentritik hücreler tarafından üretilir (Pflanz ve ark. 2002).

**İnterlökin-29 (IL-29);** IL-28 ile aynı şekilde tanımlanmıştır (Kotenko ve ark. 2003).

**İnterlökin-30 (IL-30);** IL-27 ile aynı olarak tanımlanmıştır (Dahl ve ark. 1992).

**İnterlökin-31 (IL-31);** aktive edilmiş yardımcı T hücreler ve CD8 hücreleri tarafından üretilir (Dillon ve ark. 2004).

**İnterlökin-32 (IL-32);** aktive edilmiş T hücreler ve epitel hücrelerinden üretilir (Dahl ve ark. 1992).

**İnterlökin-33 (IL-33);** IL-1 ailesinin bir parçası olarak tanımlanmıştır (Shmitz ve ark. 2005).

#### **1.4. İnterlökin-17 (IL-17)**

Sitokin ailesinden olan IL-17, 1990 yılında CD4 T lenfositleri tarafından üretilen bir proinflamatuvar olarak keşfedilmiştir (Aggarwal ve Gurney 2002). CTLA-8 olarak da adlandırılan IL-17, 1993 yılında da dokuları tahrip eden aktive edilmiş T hücresi hibridomasında klonlanmıştır (Rouvier ve ark.1993). Yapısında 155 aminoasit içerir (Yao ve ark 1995). IL-17 CD8, doğal öldürücü hücreler, monosit, makrofaj, dentritik hücreler, mikroglia, nötrofil, eozinofil, astrositler, oligodentrositler, tarafından da salgılanmaktadır (Hisakata ve ark. 2010). IL17 ailesinin üyelerinin monomer molekül ağırlığı 17 ile 21 kDa arasında değişmektedir (Yao ve ark.1995).

IL-17 enflamasyonun tipine ve bölgesine bağlı olarak belirli farklılıklar ile pro-enflamatuar tepkilere etki gösterir. IL-17 ailesi Th17 hücreleri ile diğer yardımcı T hücreleri tarafından üretilen bir sitokin olarak konak savunmasında ve enflamatuar hastalıklarda düzenleyici fonksiyonu bulunur (Geddes ve ark. 2011). IL-17 fibroblastları, epitelyal, sinovyal ve endotel hücreleri baskılayarak IL-6, IL-8, granülosit-makrofaj-CSF ve PGE2' nin salınımına yardımcı olur (Aarvak ve ark.1999).

IL-17' nin memelilerde enfeksiyonlara karşı konakçı savunmasında önemli rol oynadığı, doku hasarına ve doku iltihabına yol açan otoimmün hastalıklarda katkısının olduğu bununla birlikte beyinde nöral devre fonksiyonlarını belirlemede yardımcı olduğu ifade edilmiştir (Gaffen 2011). Stafilokok aureus, Citrobakter rodentium, Klesibsiella Pnömoni gibi cilt, kolon ve akciğere bulaşan bakterilere karşı savunmada işlev görür (Aujla ve Chan 2008, Cho ve ark. 2010). Bakteri tüberküloz, Listeria monositogenes, Salmonella typhimurium gibi hücre içi bakterilerin ortaya çıkardığı enfeksiyonda IL-17 ve onu üreten hücrelerin varlığı da tespit edilmiştir (Nakae ve ark. 2003, Lockhard ve ark. 2006, Hamada ve ark. 2008). Pneumomocitis carinii enfeksiyonu sırasında IL-17' nin blokajı için antikor uygulaması sonrasında enfeksiyonun şiddetinin ve patojen mikroorganizmanın yükünün artışı bildirilmiştir (Rudner ve ark.2007).

Anit-IL-17 uygulamasının romatoid artritte kıkırdak erozyonunu önlediği klinik semptomların şiddetini azalttığı, sedef hastalığı ve üveit tedavisinde olumlu yönde etki ettiği belirlenmiştir (Genovesse ve ark. 2010, Hueber ve ark. 2010) Ayrıca, IL-17 nin hücre içi edezyon molekül-1'in hücre yüzeyinde etkinleşmesine neden olduğu ortaya konmuştur (Bro Meyer 1996).

IL-17 altı aileden oluşur. Bunlar; IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E ve IL-17F'dir.Bunlardan IL-17A yaygın olarak IL-17 olarak da bilinir. (Weber ve ark. 2007).

- **IL-17A;** miyeloid ve lenfoid hücrelerin savunmasında etkili olan proinflamatuvar bir sitokindir (Huang ve ark. 2004).

- **IL-17B;** 2000 yılında 5q32 kromozomunda bulunan IL-17B, nötrofillerde, B hücrelerinde, nöronlarda, stromal hücrelerde, barsak epitelinde salgılanmaktadır. Ayrıca kötü seyirli mide ile meme kanserinde yüksek oranda salınım gösterir (Bie ve ark. 2017).

- **IL-17C;** 2000 yılında 16q24 kromozomunda keşfedilmiştir. İmmün hücreler ve epitel hücreleri tarafından salınır. Cilt enflamasyonlarında,

psoriatik lezyonlu ciltte ve atopik dermatitte aşırı salgılanmaktadır (Johansen ve ark. 2010, Johnston ve ark. 2013, Vandeghinste ve ark. 2018).

- **IL-17D**; 2002 yılında 13q12 kromozomunda ilk defa tespit edilmiştir. İskelet kası, beyin, yağ, kalp, akciğer ve pankreas gibi çeşitli dokularda bulunurken, lenfosit ve monositler gibi aktifleşmiş immün hücreler tarafından zayıf bir şekilde salgındığı, endotel hücreler tarafından sitokin üretimini modüle ettiği bildirilmiştir (Starnes ve ark.2002). Viral enfeksiyonların kontrolünde ve kansere karşı koruyucu işlevi bulunmaktadır (Seelige ve ark.2016)

- **IL-17E**; IL25 olarak da bilinir. 2001 klonlanan IL17E 14q11 kromozuna ilk defa bulunmuştur (Gaffen 2011). IL17 ailesinin en farklı sitokinidir. Birçok hücre tarafından üretilir. Bunlar; epitelyal hücreler, endotel hücreleri, bağışıklık hücreleri (T hücreleri, makrofajlar, tip-2 myeloid hücreler ve eozinofiller) şeklinde sıralanmaktadır (Angkasekwina ve ark. 2007, Xu ve Dong 2017). Ayrıca barsaktaki enflamasyon tipine göre IL17E' nin hem anti inflamatuvar ve hemde proinflamatuvar fonksiyonu bulunmaktadır (Caruso ve ark. 2009).

- **IL-17F**; 2001 yılında 6p12 kromozomunda ilk defa bulunan IL-17F, IL-17A ya en homolog sitokindir (Johansen ve ark. 2009, Soderstrom ve ark. 2017). IL17A ile IL17F aynı immün hücreler tarafından salgılanır (Akimzhanov ve ark. 2007).

Bu çalışmada cinsel iktidarsızlığı gidermek için önerilen, sporcular tarafından kas fonksiyonlarını geliştirmek için tüketilen, besin takviyelerinin bileşenine dahil edilen ve geleneksel halk hekimliğinde ilaç olarak kullanılan Demir Dikeni uygulamasının fare karaciğer dokusunda, proinflamatuvar bir sitokin olan IL-17' nin salgınımı üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



## 2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma için Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan (28.06.2018 tarihli 2018/06 sayılı ve KAÜ-HADYEK/2018-069 kodu ile) onay alınmıştır. Deney aşaması ve ilgili çalışmalar Kafkas Üniversitesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

### 2. 1. Deney Hayvanı Materyali

Deney hayvanları Erzurum İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğünden temin edildi. Çalışmada daha önceden çiftleşmemiş ve hiçbir çalışmada kullanılmamış 16 adet 40 günlük Balb c cinsi erkek fare kullanıldı. Fareler  $25 \pm 2$  °C sıcaklıkta, %60-65 düzeyinde nemin ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsünün uygulandığı koşullarda günlük temizliği yapılan kafeslerde ve her kafeste 4 hayvan olacak şekilde *ad libitum* olarak beslendi. Bir haftalık alıştırma süresi sonunda fareler rastgele seçilerek aşağıda belirtilen şekilde gruplar oluşturuldu.

- **Kontrol Grubu (n=8):** Bu gruptaki fareler normal fare yemi ile beslendi ve herhangi bir uygulama yapılmadı.
- **Demir Dikeni Grubu (n=8):** Bu gruptaki farelere 6 mg/kg olacak şekilde distile su içinde çözülmüş ticari amaçla satılan katkısız Demir Dikeni ekstraktı 7 gün boyunca oral gavaj yöntemiyle uygulandı (Jagadeesan ve ark. 2006).

### 2. 3. Histolojik İnceleme

Yedi günlük deney sonunda eter anestezi uygulanan fareler servikal dislokasyon yoluyla ötenazi edilerek karaciğer doku örnekleri alındı. Alınan karaciğer doku örnekleri histolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar için %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi.

Karaciğer doku örnekleri tespit edildikten sonra rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafinde bloklandı. Bloklardan alınan 5 µm'lik

kesitlere dokunun genel yapısını göstermek amacıyla Crossman'ın üçlü boyama tekniği (Triple) ve Hematoksilen-Eosin ( H&E) boyaması uygulandı.

#### **2. 4. İmmünohistokimyasal İnceleme**

Karaciğer dokusundan hazırlanan kesitlere IL-17 immüno lokalizasyonunu incelemek için Avidin- Biotin Peroksidaz Kompleksi (ABC) yöntemi uygulandı (Hsu ve ark. 1981). Krom alum jelatin ile kaplı lamlara 5 µm'lik kesitler alınarak deparafinizasyon ve dehidrasyon işlemlerinden geçirildi. Endojen peroksit aktivitesini önlemek için hidrojen peroksitin metanoldeki (%3) çözeltisinde 20 dk bekletilen kesitler PBS (Fosfatlı Buffer Solüsyonu) (pH 7.4) ile yıkandıktan sonra antijenik reseptörlerin açığa çıkması için sodyum sitrat buffer (pH 6.0) solüsyonu içerisinde 600 watt mikrodalga fırında 20 dk bekletildi. PBS'den geçirilen kesitler Blocking Solüsyon A' da (İnvitrogen-Histostatin Plus Bulk Kit) 10 dk boyunca inkübe edildikten sonra anti-IL-17 antibody (1: 500) (Abcam Ab118869) ile +4 °C'de 24 saat boyunca primer antikor uygulaması yapıldı. Daha sonra PBS ile yıkanan kesitler biotinli sekonder antikor ile 30 dk inkübe edildi ve PBS ile yıkanarak Streptavidin preoksidaz solüsyonunda 30 dk bekletildi. Dokulardaki antikor reaksiyonunu göstermek amacıyla kesitlere DAB kromojen solüsyonu eklendi ve ışık mikroskobu ile incelendi. İmmüno reaktivitenin durumu kontrol edilerek reaksiyon PBS ile durduruldu. Distile su ile yıkanan kesitler zıt boyama için Harris'in hematoksilen boyamasına tabi tutuldu. Daha sonra kesitler entellan ile kapatıldı.

Kesitlerde boyanma derecesi kriter alınarak semikantitatif yöntem ile skorlama yapıldı. Değerlendirmede boyanmanın yoğunluğu; zayıf boyanma (+), orta derecede boyanma (++) ve kuvvetli boyanma (+++) özelliklerine göre derecelendirme yapıldı. İmmünohistokimyasal boyamanın spesifik olup olmadığını belirlemek amacıyla tüm gruplara bütün işlemler aynı olmak koşulu ile primer antikor ilave edilmeksizin (negatif kontrol) diğer işlemler uygulandı. Histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda (Olympus Bx53) değerlendirildikten sonra fotoğraflandırıldı.

### **3. BULGULAR**

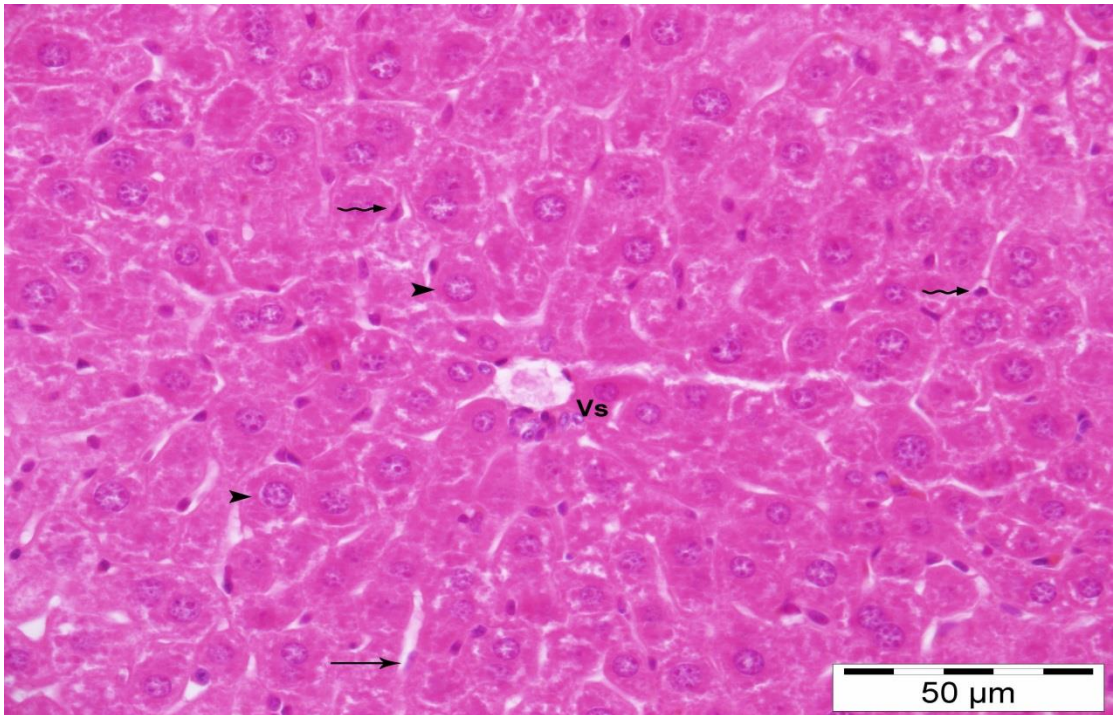
#### **3. 1. Histopatolojik Bulgular**

Kontrol grubu farelerin karaciğer dokusunda Remark kordonları, sinuzoidler, hepatositler ile çekirdeklerinin normal yapıda olduğu görüldü. Sinuzoidlerin duvarlarında ise Kupffer hücrelerinin yerleştiği belirlendi. Portal lobçukta karaciğer üçlüsünün: vena interlobularis, arteriya hepatica ve duktus biliferusun normal histolojik yapıya sahip olduğu saptandı (Resim 1, 2). Bunun yanında üç adet farenin karaciğer dokusunda birkaç iri yağ damlacığına rastlandı (Resmi 3).

Demir Dikeni grubundaki farelerin karaciğer dokusunun kontrol grubundakiler ile benzer histolojik yapıya sahip olduğu gözlemlendi (Resim 4, 5).



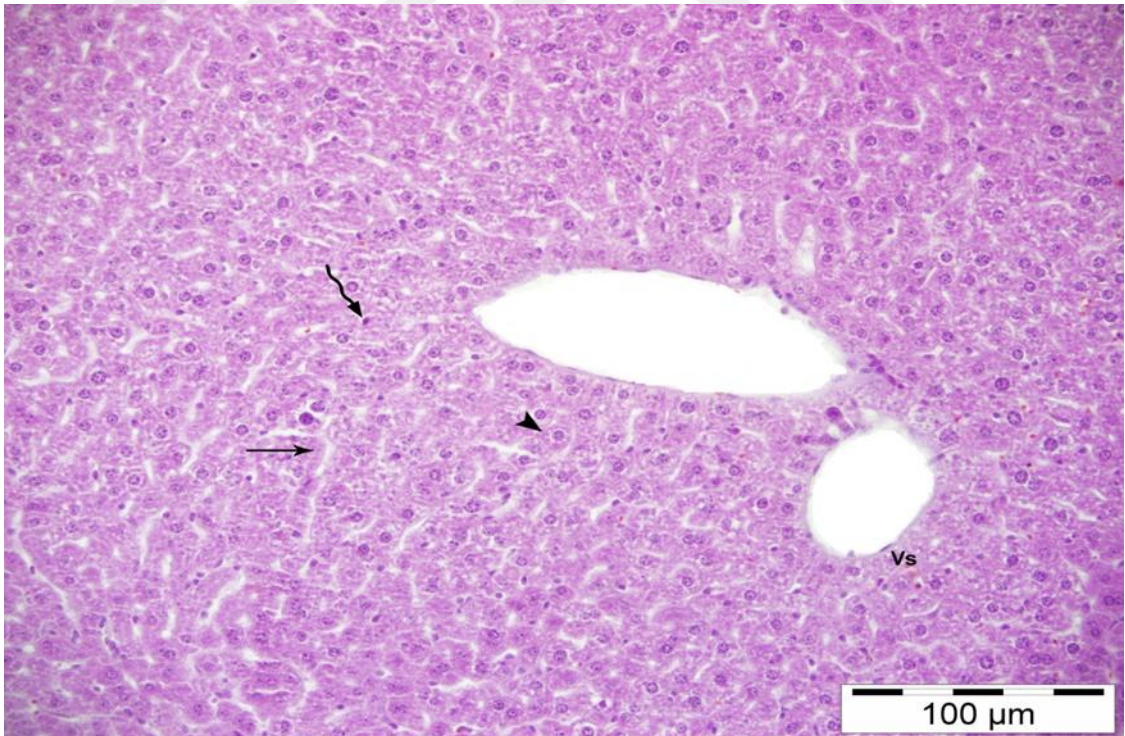
**Resim 1.** Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. **Ok:** Sinuzoid. **Ok başı:** Hepatosit. **Kıvrık ok:** Kupffer hücresi. **Db:** Duktus biliferi. **Ah:** Arteriya hepatica. **Vi:** Vena interlobularis. Üçlü boyama (Triple).



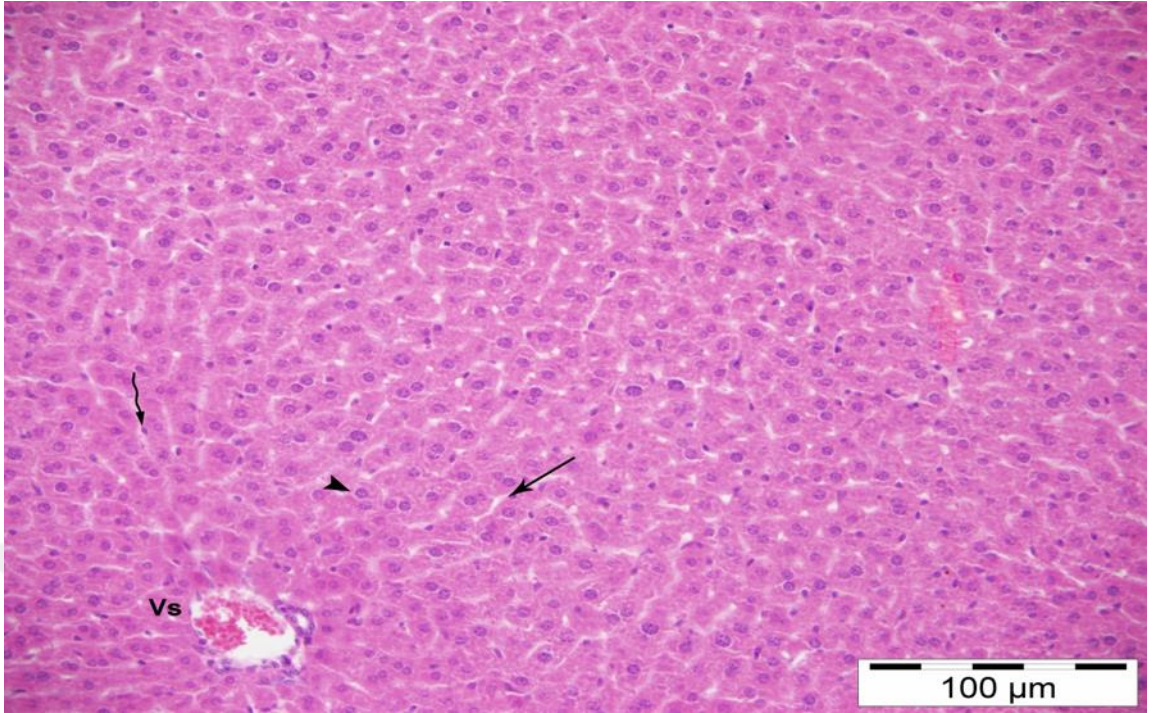
**Resim 2.** Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. **Ok:** Sinuzoid. **Ok başı:** Hepatosit. **Kıvrık ok:** Kupffer hücreleri. **Vs:** Vena sentralis. H&E boyama.



**Resim 3.** Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. **Ok (Y):** Yağ damlacığı. H&E boyama



**Resim 4.** Demir Dikeni grubu. Fare karaciğer dokusu. **Ok:** Sinuzoid. **Ok başı:** Hepatosit. **Kıvrık ok:** Kupffer hücreleri. **Vs:** Vena sentralis. Üçlü boyama (Triple).



**Resim 5.** Demir Dikeni grubu. Fare karaciğer dokusu. **Ok:** Sinuzoid. **Ok başı:** Hepatosit. **Kıvrık ok:** Kupffer hücreleri. **Vs:** Vena sentralis. H&E boyama.

### 3. 2. İmmünohistokimyasal Bulgular

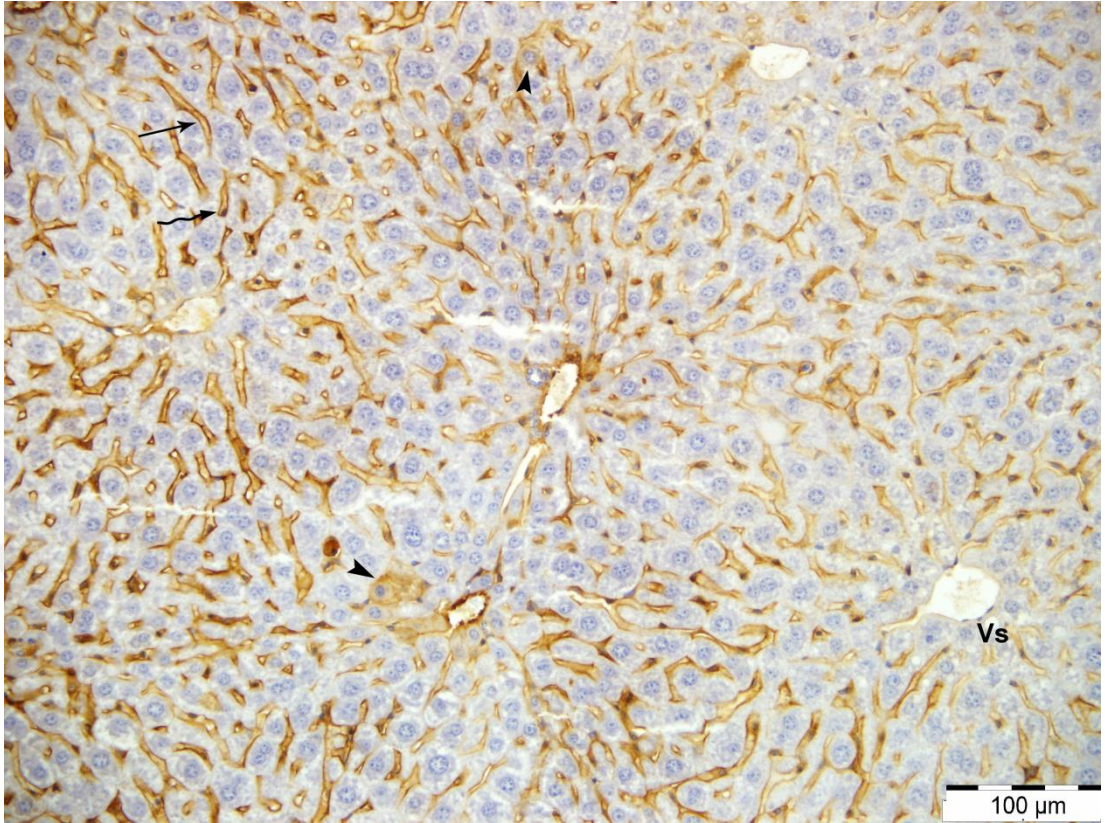
Kontrol ve Demir Dikeni grubundaki farelerin karaciğer dokusu IL-17 dağılımı ve immünoreaktivite derecesi yönünden incelendiğinde her iki grupta da sinuzoid endoteli, Kupffer hücreleri ve birkaç hepatositde IL-17 immünoreaktivitesi belirlendi.

Kontrol grubu farelerin karaciğer dokusunda sinuzoid endoteli, Kupffer hücreleri ve birkaç hepatositde kuvvetli IL-17 immünoreaktivitesine rastlandı (Resim 6, 7).

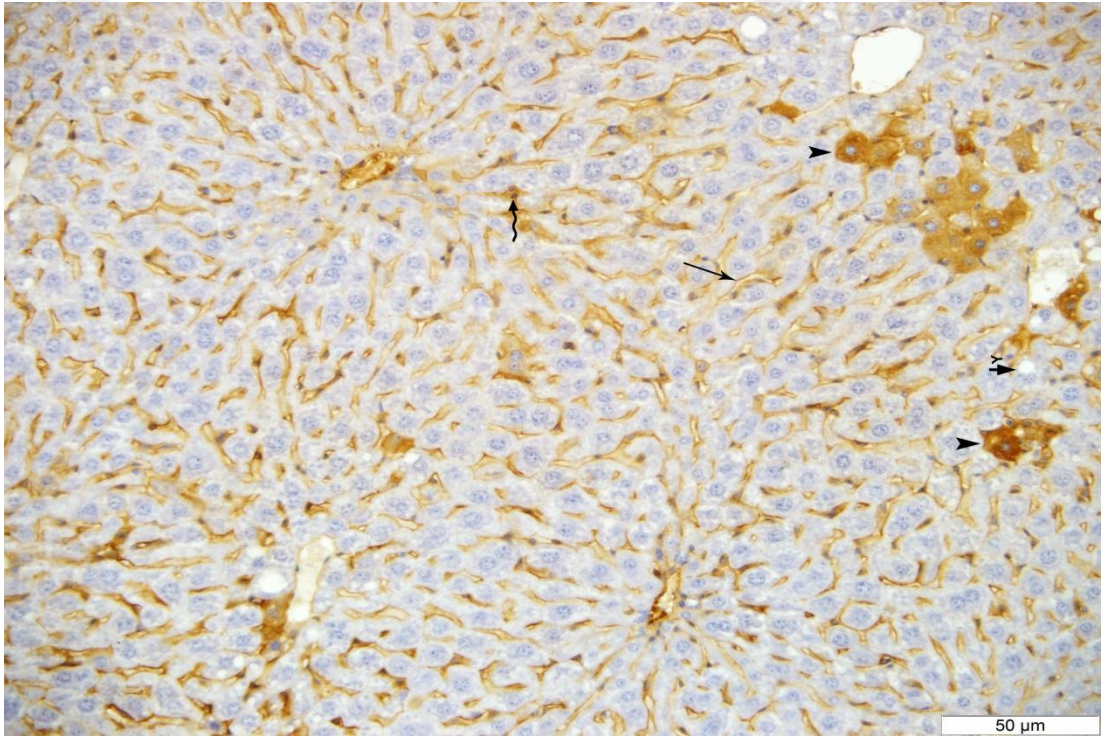
Demir Dikeni grubundaki farelerin karaciğer dokusunda ise sinuzoid endotelinde, Kupffer hücrelerinde, birkaç hepatositde orta derecede IL-17 immünoreaktivitesi belirlendi (Resim 8, 9).

**Tablo 1.** Gruplar arası IL-17 immünoreaktivitesinin semikantitatif analiz

	<b>Kontrol</b>	<b>Demir Dikeni</b>
<b>Sinuzoid endoteli</b>	+++	++
<b>Hepatosit</b>	+++	++
<b>Kupffer hücreleri</b>	+++	++

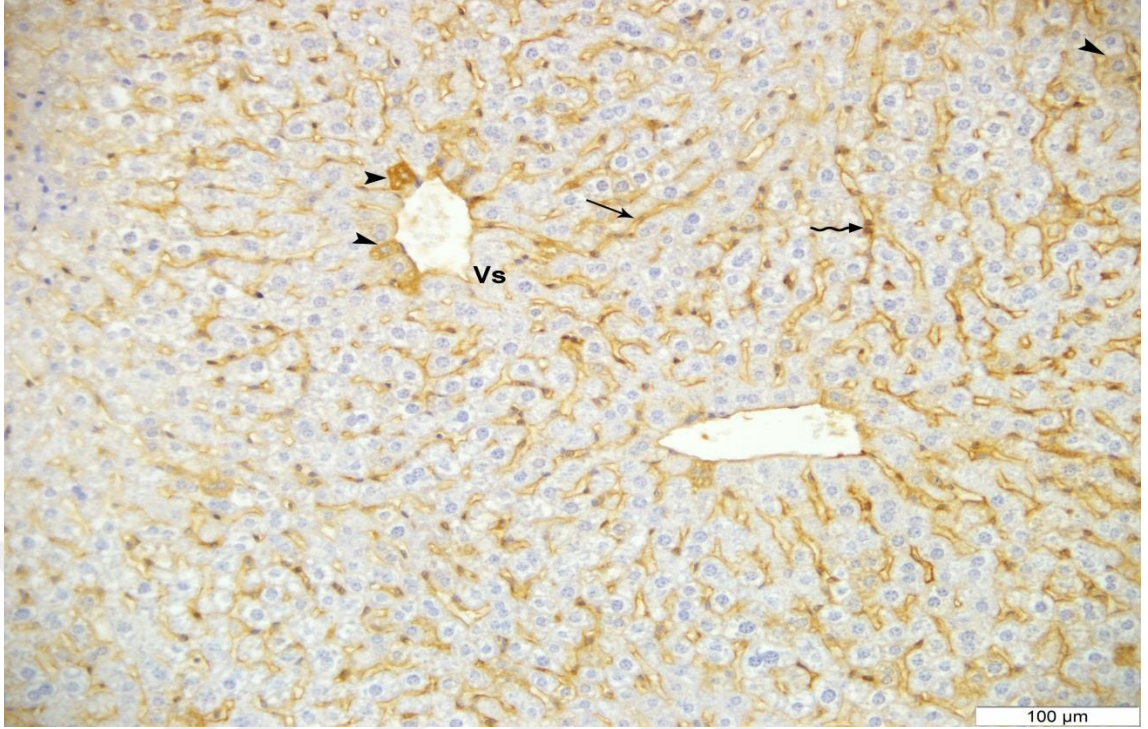


**Resim 6.** Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. IL-17 immünoaktivitesi. **Ok:** Sinuzoid. **Ok başı:** Hepatosit. **Kıvrık ok:** Kupffer hücreleri. **Vs:** Vena sentralis.

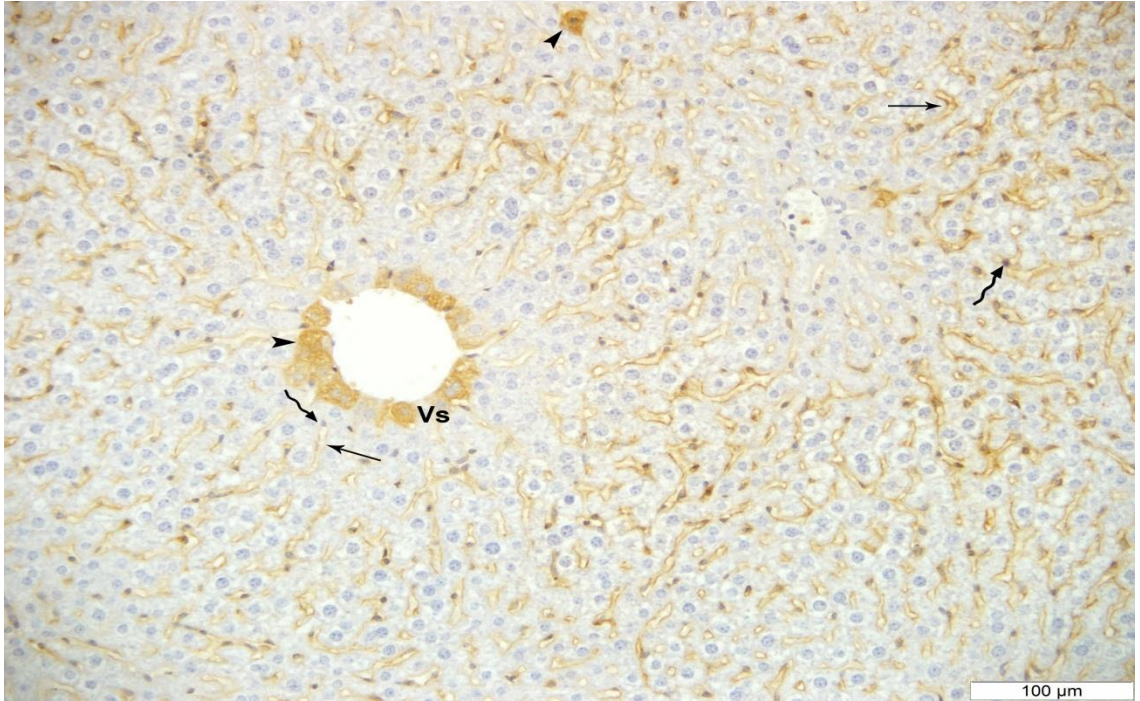


**Resim 7.** Kontrol grubu. Fare karaciğer dokusu. IL-17 immünoaktivitesi. **Ok:** Sinuzoid. **Kıvrık ok:** Kupffer hücresi. **Ok (Y) :** Yağ damlacığı.

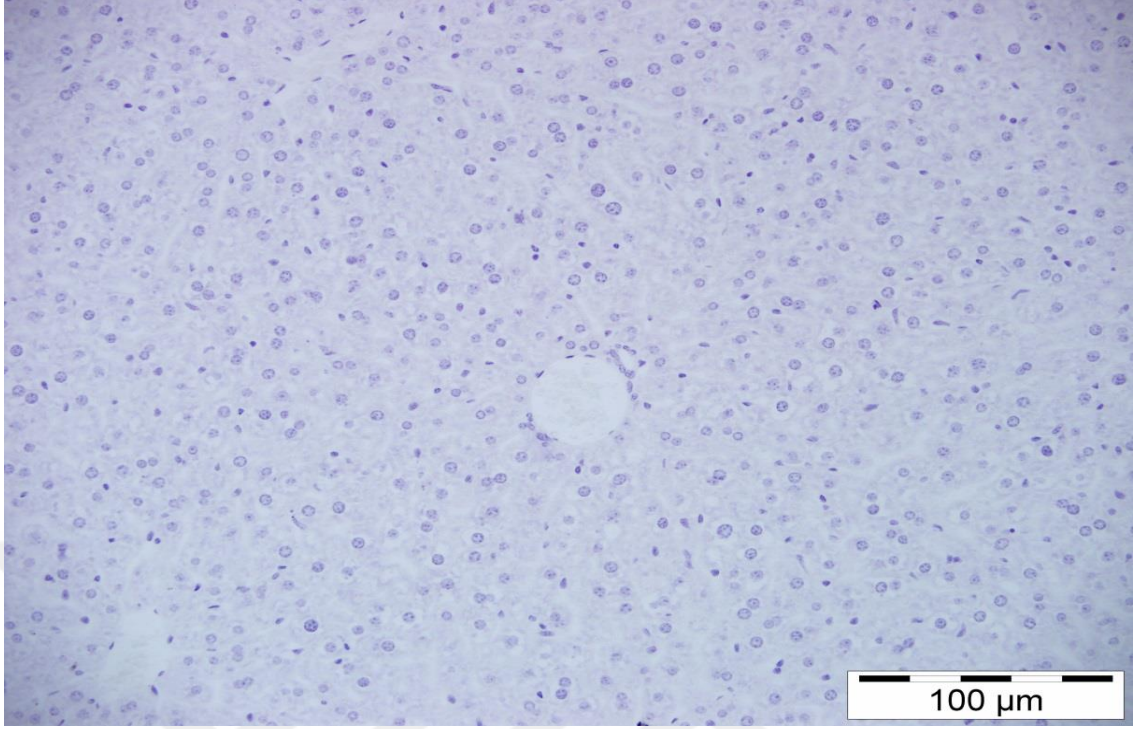




**Resim 8.** Demir Dikenli grubu. Fare karaciğer dokusu. IL-17 immünoreaktivitesi. **Ok:** Sinuzoid. **Ok Başı:** Hepatosit. **Kıvrık Ok:** Kupffer hücreleri. **Vs:** Vena sentralis.



**Resim 9.** Demir Dikenli grubu. Fare karaciğer dokusu. IL-17 immünoreaktivitesi. **Ok:** Sinuzoid. **Ok Başı:** Hepatosit. **Kıvrık Ok:** Kupffer hücreleri. **Vs:** Vena sentralis.



**Resim 10.** Demir Dikeni grubu. Fare karaciğer dokusu. Negatif kontrol.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

IL-17' nin, enflamatuar ve otoimmün hastalıklarda önemli bir yer tutmasının yanında, farklı bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda koruyucu bir role sahip olduğu bildirilmiştir (Cho ve ark. 2010, Puel ve ark. 2011, Okada ve ark. 2015). IL-17' nin kemokinleri, C-reaktif proteini, birincil hepatositleri ve çeşitli inflamasyonlarla ilgili genleri uyardığı belirtilmiştir (Sparna ve ark.2010). IL-17 'nin karaciğer inflamasyonuna sebep olan diğer sitokinleri harekete geçirdiği fakat hepatositlerde apoptozun oluşumuna karşı koruyucu etkisinin bulunduğu öne sürülmüştür (Sun ve ark. 2006).

Karaciğerdeki *listeria monositogenes* enfeksiyonunda,  $\gamma\delta$  T hücreleri tarafından üretilen IL-17'in, enfeksiyonun çok erken aşamasında doğal immün hücreler tarafından üretildiği ve hastalığı iyileştirdiği yapılan çalışmada tespit edilmiştir (Hamada ve ark. 2008). Alkole bağlı karaciğer hasarı çalışmasında plazmada IL-17 nin varlığının yanı sıra karaciğer dokusunda T hücreleri ve ayrıca Th17 ile nötrofil varlığının artmış halde bulunması, karaciğer hasarında bu kompenetlerin toplamının etkisinin olduğunu düşündürmüştür (Lemmers ve ark.2009). Akut ve kronik karaciğer hastalıklarında IL-17' nin dolaşımdaki seviyesinin ve IL-17 üreten hücrelerin sıklığının arttığı belirtilmiştir (Beringer ve Miossec 2018).

IL-17' nin karaciğerde CD4 T hücreleri ile CD8 T hücreleri tarafından salındığı, kemokin ve nötrofil varlığını artırdığı bildirilmiştir. Hepatositlerde IL-17 immünoreaktivitesinin olup olmadığının ise belirsizliğini koruduğu öne sürülmüştür (Hammerich ve ark. 2010). IL-17' nin karaciğerde CD45, CD3, CD4, CD8a, NK1.1, CD11b, Kupffer hücreleri ve aktive olmuş karaciğer yıldızsı hücreleri (*ito*), hematopoetik hücreler tarafından salındığı Fanlı ve ark. (2012) ve Hammerich ve ark. nin (2010) belirttiğinin aksine hepatosilerde özellikle primer hepatositlerde salınımın olabileceği öne sürülmüştür.

Karaciğer fibrozunda karaciğerde TGF- $\beta$  ve IL-6' nin varlığının IL-17' nin artışına neden olduğu ve bununla birlikte IL-17' nin fibroblastlarda da reaksiyon verdiği belirtilmiştir (Veldhoen ve ark. 2006, Wen ve ark. 2013).

Çalışmamızda sinuzoid endotelinde, Kupffer hücrelerinde ve hepatositlerde IL-17 salınımı olduğu gözlemlendi.

Sürekli ve aşırı beslenmenin trigliserid depolamaya bağlı olarak adipositlerin büyümesine yol açtığı ve trigliserid depolama ihtiyacının adipositlerin kapasitesini aşarak karaciğer gibi adipoz dışı organlara dağıldığı bildirilmiştir (Kopelman ve ark. 2009). Tang ve arkadaşları (2011) alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmasında yardımcı Th17 hücreleri varlığı ve IL-17'nin salınımını araştırmak amacıyla fareleri yüksek yağlı diyet ve normal diyet (*ad libitum*) grubu olmak üzere iki gruba ayırmıştır. Her iki gruptaki farelerin karaciğerinde yağlanma olduğu tespit edilmiştir. Fakat yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin karaciğerine göre normal beslenen (*ad libitum*) farelerde 2 kat daha az yağlanma görülmüştür. Yardımcı Th17 hücrelerinin sayısı ve karaciğer makrofaj hücrelerinde IL-17 ekspresyonunun yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde normal beslenen (*ad libitum*) farelere göre 2 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin karaciğerinde hasar tespit edilmiştir.

Erkek ratlarda alkolik olmayan yüksek yağlı diyetle karaciğer yağlanması oluşturulmuş ve dozları giderek artan ( 500 mg ile 1000 mg/kg, 5 hafta kadar) oranda Demir Dikeni ekstraktı uygulaması yapılmıştır. Çalışma sonunda karaciğerde oluşan yağlanmanın küçüldüğü ve yer yer kaybolduğu bildirilmiştir. Çalışmada Demir Dikeni ekstratının içerdiği flavonoidler' in yağ dokusunda ve kas dokusunda insülin direncini ve insülin gereksinimini azalttığı, insülin benzeri ve lipogenez enzimi üzerinde de engelleyici etkiye sahip olduğu öne sürülerek Demir Dikeni ekstratında bulunan flavonoidlerin karaciğerde yağ vakuollerinin küçülmesine ve yer yer kaybolmasına neden olduğu sonucuna varılmıştır (Alması ve ark. 2017).

Diyabet oluşturulmuş ratlarda Demir Dikeninin karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisi araştırılmış, diyabetin hepatositlerde bozulmaya ve sinuzoidlerde açılmalara neden olduğu ancak Demir Dikeni verilmiş grupta

karaciğer yapısının normale daha yakın görüldüğü saptanmıştır (Amr ve ark. 2006).

Demir Dikenî' nin içeriğinde bulunan steroidal saponin verilen ratların karaciğerinde hepatik hasarın ana belirteçleri olan serumdaki AST (Aspartate aminotransferas), ALT(Alanine aminotransferas), ALP (Alkaline phosphatas) düzeylerinde azalma olduğu ve antioksidan etkisi bulunan GSH (Glutathione hormon) ile birlikte GR (Glutathione reductase) ve GST (Glutathione S transferas) miktarında ise artış olduğu saptanmıştır. Yüksek dozda verilen (510 mg/kg/day) steroidal saponinin bilirubin seviyesini yükselttiği ve hepatositlerin stoplazmasında vaskülerizasyona ve kanaliküler kolestaza yol açarak karaciğere hasar verdiği öne sürülmüştür. Çalışmada düşük ve orta düzey doz da uygulanan Steroidal saponinin antioksidan etkide bulunduğu yüksek doz uygulamada ise bilirubinün yükseldiği ve hepatositlerde dejenerasyona yol açtığı öne sürülmüştür (Yuan ve ark. 2009). İran' ın Horasan eyaletinde keçilerin Demir Dikenî ile beslenmesi sonucu keçilerde karaciğer ve böbrek hastalıklarının görüldüğü, karaciğerde yer yer fibrotik oluşumlar gözleendiği ve bu durumun Demir Dikenî ile aşırı beslenmeden kaynaklandığı öne sürülmüştür (Aslani ve ark. 2004). Her iki çalışma karşılaştırıldığında (Yuan ve ark. 2009, Aslani ve ark. 2004) Demir Dikenî bitkisinin aşırı alımında karaciğerde harabiyet orta ve düşük dozlardaki uygulamaların ise antioksidan etki oluşturabileceği düşünölmüştür.

Çalışmamızda kontrol ve Demir Dikenî grubundaki farelere istediği kadar besine ulaşılabilir (ad libitum) şekilde beslenmesi için uygun koşullar sağlanmıştır. Kontrol grubunda ad libitum olarak beslenen üç farede karaciğer yağlanması görölmese buna rağmen karaciğer hasarının bulunmaması Kopelman ve arkadaşları (2009) ile Tang ve arkadaşlarının (2011) belirttiği bulgulara benzerlik göstermiştir. Ayrıca 7 gün boyunca 6 mg/kg dozda Demir Dikenî uygulaması sonucunda bu gruptaki hiçbir farede karaciğer yağlanması ile karşılaşılması ise yağlanma yönünden Demir Dikenî' nin karaciğer üzerinde koruyucu özelliğe sahip olduğunu düşündürmektedir.

Demir Dikeni' nin diüretik, ödem, idrar yolu enfeksiyonları ve osteoartritte IL-6 ve IL-10 salınımı üzerine etki göstererek enflamasyonları iyileştirdiği bildirilmiştir (Young ve ark. 2017). Lipopolisakkaritler ile uyarılan RAW264.7 makrofajların IL-6, IL-10 ve TNF $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırdığı saptanmış ve Demir Dikeni uygulamasının bu proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığı böylece Demir Dikeni' nin tedavi amaçlı kullanılabileceği öne sürülmüştür (Hyun ve ark. 2016).

Sinir ve beyin dokuda hasar oluşturularak proinflamatuvar sitokin olan IL-1 $\beta$  ve IL-6 nın salınımı ve Demir Dikeni'nin bu proinflamatuvar sitokinlere etkisi araştırılmış ve Demir Dikeni uygulanan ratların sinir ve beyin dokusunda IL-1 $\beta$  ve IL-6' nın azaldığı bildirilmiştir (Gautam ve Ramanathan 2018). Demir Dikeni grubundaki farelerin karaciğer dokusunda Remark kordonları, sinuzoidler, hepatositler ile çekirdeklerinin normal histolojik yapıda olduğu, IL-17 salınımının ise kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görüldü.

Antioksidan özelliğinin yanında birçok yararı bulunduğu bildirilen Demir Dikeni uygulamasının proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6 ve TNF $\alpha$ ' nın salınımını baskılayıcı etkisi göz önünde bulundurularak IL-17' nin fare karaciğer dokusundaki salınımı üzerine etkisi immunohistokimyasal olarak incelendi. Sonuç olarak kontrol grubunda IL-17' nin birkaç hepatosit sitoplazmasında, Kupffer hücrelerinde ve sinuzoid endotelinde kuvvetli reaksiyon verdiği ve Demir Dikeni' nin IL-17 salınımını azalttığı belirlendi ve elde edilen bu verilerin Demir Dikeni ile ilgili ilerde yapılacak çalışmalara destek sağlayabileceği sonucuna varıldı.

## 5.KAYNAKLAR

Aarvak T, Chaboud M, Miosec P: Natvig JB. IL-17 is produced by some proinflammatory Th1/Th0 cells but not Th2 cells. *J. Immunol.* , 162: 1246-1251, 1999.

Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS: Cellular and molecular immunology, Philadelphia, B.Saunders Company: 19-21, 1991

Adaikan PG, Gauthaman K, Prasad RNV: Proerectile pharmacological effects of Tribulus terrestris extract on the rabbit corpus cavernosal smooth muscle in vitro. *Ann. , Acad. , Med. , Singapore*, 29: 22–26, 2000.

Aggarwal S, Gurney AL: IL-17, Prototype member of an emerging cytokine family. *J. Leukoc. Biol.* , 71: 1–8, 2002.

Aijima R, Wang B, Takao T, Mihara H, Kashio M, Ohsaki Y: The thermosensitive trpv3 channel contributes to rapid wound healing in oral epithelia. *Faseb. J.* , 29: 182-192, 2015.

Akdis M, Bugler S: Interleukins, from 1 to 37, and interferon- $\gamma$ : Receptors, functions, and roles in diseases, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(3): 701-721, 2011.

Akimzhanov AM, Yang XO, Dong C: Chromatin remodeling of interleukin-17 (IL-17) - IL-17F cytokine gene locus during inflammatory helper T cell differentiation. *J. Biol. Chem.* , 282(9): 5969–5972, 2007.

Aktümsek A: *Anatomi ve Fizyoloji*, 2. Baskı, Nobel Yayıncıları, Ankara. s. 366-370, 2004.

Akyol G, Şengil Z, Baysal B: İnterlökinler. *S Ü Tıp Fak Derg.* , 10: 117-123, 1993.

Alması F, Khazaei M, Chehrei S, Ghanbari A: Hepatoprotective effects of tribulus terrestris hydro-alcoholic extract on non-alcoholic fatty liver- induced rats. *Int. J. Morphol.*, 35(1): 345-350, 2017.

Amr A, Lotfy M, Shafiullah M, Adeghate E: The protective effect of Tribulus terrestris in Diabetes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* , 1084: 391-401, 2006.

Angkasekwinai P, Park H, Wang YH, Wang YH, Chang SH, Corry DB: Interleukin 25 promotes the initiation of proallergic type 2 responses. *J. Exp. Med.*, 204(7): 1509–1517, 2007.

Arcasoy HB, Erenmemişoğlu A, Tekol Y, Kurucu S, Kartal M: Effect of *Tribulus terrestris* L. Saponin mixture on some smooth muscle preparations; a preliminary study. *Bollettino Chimico Farmaceutico*, 137(11): 473-475, 1998.

Aslani MR, Movassaghi AR, Mohri M, Ebrahim V, Mohebi AN: Experimental *Tribulus terrestris* poisoning in goats. *Small Ruminant Research*, 51: 261–267, 2004.

Aujla SJ, Chan YR: IL-22 mediates mucosal host defense against gram negative bacterial pneumonia. *Nat. Med.* , 14: 275–281, 2008.

Aytekin Y. ve Solakoğlu S: *Temel Histoloji*. 10. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara. s. 332-344, 2006.

Baier M, Bannert N, Werner A, Lang K, Kurth R: Molecular cloning, sequence, expression and processing of the interleukin 16 precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* , 94: 5273-5277, 1997.

Beringer A, Miossec P: IL-17 and IL-17-producing cells and liver diseases with focus on autoimmune liver diseases. *Immunogenomics and Inflammation Research Unit EA 4130*, 2018.

Bie Q, Jin C, Zhang B, Dong H: IL-17B; a new area of study in the IL-17 family. *Mol Immunol*, 90: 50–6, 2017.

Blumber H, Conklin D, Xu W, Grossmann A, Brender T, Carollo S: Interleukin 20; discovery, receptor identification and role in epidermal function. *Cell*,104: 9-19, 2001.

Bro Meyer HE: Is interleukin-17, an inducible cytokine that stimulates production of other cytokines, merely a redundant player in a sea of other biomolecules. *J. Exp. Medicine*, 183: 2411-2415, 1996.

Campanelli M, Thomas RD, Tenaglia RL: Priapism caused by *Tribulus terrestris* *International Journal of Impotence Research*, 28: 39–40, 2016.

Caruso R, Sarra M, Stolfi C, Rizzo A, Fina D, Fantini MC: Interleukin-25 inhibits interleukin-12 production and Th1 cell-driven inflammation in the gut. *Gastroenterology*, 136(7): 2270–2279, 2009.

Chhatre S, Nesari T, Somani G, Kanchan D, Sathaye S: Phytopharmacological overview of *Tribulus terrestris*. *Pharmacogn Rev.* ,8: 45–51, 2014.



Cho JS, Pietras EM, Garcia NC, Ramos RI, Farzam DM, Monroe HR: IL-17 is essential for host defense against cutaneous *Staphylococcus aureus* infection in mice. *J. Clin. Invest.* , 120: 1762–1773, 2010.

Coquet JM, Kyparissoudis K, Pellicci DG, Besra G, Berzins SP, Smyth MJ: IL-21 is produced by NKT cells and modulates NKT cell activation and cytokine production. *J. Immunol.*, 178: 2827-2834, 2007.

Dahl CA, Schall RP, He HL, Cairns JS. Identification of a novel gene expressed in activated natural killer cells and T cells. *J. Immunol.* , 148: 597-603, 1992.

Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, Bilsborough J, Rosenfeld FM, Presnell SR: Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nat. Immunol.* , 5: 752-760, 2004.

Duru M, Şahin M: Effects of Dietary Puncture Vine (*Tribulus terrestris*) Powder in Different Carriers on Growth Performance, Carcass Characteristics and Blood Parameters of Broiler Chicks. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* , 18(3): 359-365, 2012.

Erdost HA, Özkardeşler S, Akan M, İyilikci L, Ünek T, Ocmen E, Dalak RM, Astarcioglu I: Diagnostic Classifications for Acute Renal Injury in Patients Undergoing Liver Transplantation. *Transplantation Proceedings*, 48(6): 2112-2118, 2016.

Eşrefoğlu M: Özel Histoloji, İstanbul Tıp Kitapevi. 2 baskı. İstanbul. s. 100-103, 2016.

Eşrefoğlu M: Özel Histoloji, 1. baskı. Medipres Matbaacılık ve Yayıncılık. Malatya. s. 106-120, 2009.

Fanlı M, Kai W, Tomonori A, Sergei IG, Yonghan P, David S, Min C, Keiko I, Xiao L, Mingjun Z, Christoph HÖ, Felix SK, David AB, Tatiana K: Interleukin-17 Signaling in Inflammatory, Kupffer Cells, and Hepatic Stellate Cells Exacerbates Liver Fibrosis in Mice. *Gastroenterology*, 143: 765-776, 2012.

Fallon PG, Ballantyne SJ, Mangan NE, Barlow JL, Dasvarma A, Hewett DR: Identification of an interleukin (IL)-25-dependent cell population that provides IL-4, IL-5, and IL-13 at the onset of helminth expulsion. *J. Exp. Med.* ,203: 1105-1116, 2006.

Gaffen SL: Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Curr. Opin. Immunol.* , 23(5): 613–619, 2011.

Gautam M, Ramanathan M: Saponins of *Tribulus terrestris* attenuated neuropathic pain induced with vincristine through central and peripheral mechanism. *Inflammopharmacology*, 27: 1-12, 2018.

Gauthaman K, Ganesan AP: The hormonal effects of Tribulus terrestris and its role in the management of male erectile dysfunction; an evaluation using primates, rabbit and rat. *Phytomedicine*, 15(1-2): 44-54, 2008.

G. Gallagher, H. Dickensheets, J. Eskdale, L.S. Izotova, O.V. Mirochnitchenko, J.D: Cloning, expression and initial characterization of interleukin-19 (IL-19), a novel homologue of human interleukin-10 (IL-10). *Genes Immun*, 1: 442-450, 2000

Geddes K, Rubino SJ, Magalhaes JG: Identification of an innate T helper type 17 response to intestinal bacterial pathogens. *Nat. Med.* ,17: 837–844, 2011.

Genovesse MC, Bosch F, Robertson SA: A humanized antiinterleukin- 17 monoclonal antibody, in the treatment of patients with rheumatoid arthritis: a phase I randomized, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept study. *Arthritis Rheum.* , 62: 929–939, 2010.

Gold R, Luhder F: Interleukin-17-extended features of a key player in multiple sclerosis. *Am. J. Pathol.* , 172(1): 8–10, 2008.

Guyton A, Hall J: *Tıbbi Fizyoloji* 10 ed. Nobel Tıp Kitabevleri. Ankara. s. 258-259, 2001.

Güner İ, Özmen D, Bayındır O: Sitokinler *T Klin J Med Sci.* ,17: 65-73, 1997.

Hall J, John E, Guyton A. , *Guyton And Hall Textbook Of Medical Physiology*. Philadelphia: 261-262, 2016.

Hamada S, Umemura M, Shiono T, Tanaka K, Yahagi A, Begum MD: IL-17A produced by gammadelta T cells plays a critical role in innate immunity against listeria monocytogenes infection in the liver. *J. Immunol.* , 181: 3456–3463, 2008.

Hammerich L, Heymann F, Tacke F: Role of IL-17 and Th17 Cells in Liver Diseases *Clinical and Developmental Immunology*, Article ID 345803; 12, 2010.

Hatipoğlu MT: *Anatomi ve Fizyoloji*, 14. baskı. Hatipoğlu Yayınevi. Ankara. s. 32-36, 2004.

Hisakata Y: Current perspectives on the role of IL-17 in autoimmune disease. *J. Inflamm. Res.* ,3: 33, 2010.

Hsu SM, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 29: 577-580, 1981.

Huang W, Paul L, Li N, Paul FS: The Journal of Infectious Diseases, Voi. , 190(3): 624–631, 2004.

Hueber W, Patel DD, Dryja T: Effects of AIN457, a fully human antibody to interleukin-17A, on psoriasis, rheumatoid arthritis and uveitis. *Sci. Transl. Med.* , 2: 52-72 2010.

Hurst SM, Wilkinson TS, McLoughlin RM, Jones S, Horiuchi S, Yamamoto N: IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity.* , 14(6): 705-714, 2001.

Hyun A, Eun KA, Seong SH and Joa S: Anti-inflammatory effect of tribulusamide D isolated from *Tribulus terrestris* in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Molekuler Medicine Reports*, 16 (4): 4421- 4428, 2016.

Itoh N, Yonehara S, Schreurs J. Gorman DM. Maruyama K. Ishii A: Cloning of an interleukin-3 receptor gene; a member of a distinct receptor gene family *science*, 247: 324-327, 1990.

Jagadeesan G and Kavitha AV, Recovery of phosphatase and transaminase activity of mercury intoxicated *Mus musculus* (Linn.) Liver tissue by *Tribulus terrestris* (Linn.) (*Zygophyllacea*) extract. *Tropical Biomedicine.* , 23(1): 45-51, 2006.

Jiang H, Lin JJ, Su ZZ, Goldstein NI, Fisher PB: Subtraction hybridization identifies a novel melanoma differentiation associated gene, *mda-7*, modulated during human melanoma differentiation, growth and progression. *Oncogene*, 11: 2477-2486, 1995.

Johansen C, Usher PA, Kjellerup RB, Lundsgaard D, Iversen L, Kragballe K: Characterization of the interleukin-17 isoforms and receptors in lesional psoriatic skin. *Br. J. Dermatol.* , 160(2): 319–324, 2009.

Johnston A, Fritz Y, Dawes SM, Diaconu D, Al-Attar PM, Guzman AM: Keratinocyte overexpression of IL-17C promotes psoriasiform skin inflammation. *J. Immunol.* ,190(5): 2252–2262, 2013.

Jungmo DO, Seemin C, Jaehwi C and Jae SH: Effects and mechanism of action of a *Tribulus terrestris* extract on penile erection. *Korean J. Urol.* , 54(3): 183-188, 2013.

Junqueira LC, Carneiro J: *Temel Histoloji*, 3 baskı. Nobel Tıp Kitapevi. Ankara. s. 332-333, 2003.

Kamboj P, Aggarwal M, Puri S, Singla SK: Effect of aqueousextract of *Tribulus terrestris* on oxalate-induced oxidative stress in rats. *Indian J. Nephrol*, 21: 154-159, 2011.

Kayalı H, Şatıroğlu G, Taşyürekli M: İnsan Ebriyolojisi, 7. baskı. Alfa Basın Yayın. İstanbul. s. 166- 167, 2000.

Kelso A, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Royal Melbourne Hospital, Victoria, Australia, 2: 215-225, 1989.

Kim JM, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Khan TA, Moore KW: Structure of the mouse IL-10 gene and chromosomal localization of the mouse and human genes. J. Immunol. ,148: 3618-3623, 1992.

Kishimoto T: The biology of interleukin-6. Blood, 74: 1-10, 1989.

Knappe A, Hor S, Wittmann S: Fickenscher H. Induction of a novel cellular homolog of interleukin-10 by transformation of T lymphocytes with herpesvirus saimiri. J. Virol. , 74: 3881-3887, 2000.

Kostova I, Dinchev D: Saponins in Tribulus terrestris, chemistry and bioactivity. Phytochemistry reviews, 4(2-3): 111-137, 2005.

Kostova I, Dinchev D, Rentsch GH, Ivanova A: Two New Sulfated Furostanol Saponins from Tribulus terrestris. Phytochemistry Reviews, 57(c): 33-38, 2002.

Krcik JA: Performance-enhancing substances; what athletes are using. Clev. Clinic J. Med. , 68: 283-302, 2001.

Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick HM, Clark SC, Chan C: Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes, J. Exp. M, 170:827-845, 1989.

Kopelman PG, Caterson ID, Dietz WH: Clinical Obesity in Adults and children, Wiley-Blackwell, Third education: 71-73, 2009.

Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, Antes AL, Shen M, Shah NK: IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct classII cytokine receptor complex. Nat Immun. , 4: 69-77, 2003.

Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Basic Pathology E-Book: Elsevier Health Sciences; 637- 679, 2017.

Lalani T, Simmons RK, Ahmed AR: Biology of IL-5 in health and disease. Ann. Allergy Asthma Immunol. , 82: 317-332, 1999.

Lemmers A, Moreno C, Gustot T: The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease, *Hepatology*, 49(2): 646–657, 2009.

Li JX, Shi Q: Tribulusamide A and B new Hepatoprotective Lignanamide from the fruits of *Tribulus terrestris*; Indications of cytoprotective activity in murine hepatocyte culture, *Planta Med.* ,64(7): 628-631, 1998.

Lokesh U, Tripathi K, Kulkarni KS, Upadhyay L: A study of prostane in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Phytotherapy Res.* ,15: 411-415, 2001.

Moore KL, Dalley F: *Clinically Oriented Anatomy*, 7nd. Baltimore Bobel Lippincott Williams & Wilkins. USA. p. 198-201, 2007.

Mutlu M: *Tribulus terrestris* L. (Deve Çökerten) (Zygophyllaceae) Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktların Kimyasal İçeriklerinin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniv. Yay, 50, 2002.

Nakae S, Nambu A, Sudo K, Iwakura Y: Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J. Immunol.* , 17: 6173–6177, 2003.

Okada S, Markle JG, Deenick EK, Mele F, Averbuch D, Lagos M: Impairment of immunity to *Candida* and *Mycobacterium* in humans with bi-allelic RORC mutations. *Science*, 349: 606–613, 2015.

Okamura H, Tsutsi H, Komatsu T, Yutsudo M, Hakura A, Tanimoto T: Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature.* , 378: 88-91, 1995.

Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B: Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity.* , 13: 715-725, 2000.

Ovalle WK, Nahirney PC. *Netter's Essential Histology*. Second Edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 175-177, 2013.

Özbay Y: *Temel İmmünoloji*, 2. baskı. Kayseri Üniv. Tıp Yay. Kayseri. s.150-171, 2000.

Özer A, Alabay B, Aslan Ş, Erdost H, Ergün L, Girgin A, Gülmez N, Liman N, Özfiliz N, Özcan Z, Yörük M, Zık B: *Veteriner Özel Histoloji*, 1. baskı. Dora Yayıncılık. Bursa. S. 192-193, 2016.

Parham C, Chirica M, Timans J, Vaisberg E, Travis M, Cheung J: A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *J. Immunol.* ,168: 5699-5708, 2002.

Parrish-Novak J, Dillon SR, Nelson A, Hammond A, Sprecher C, Gross JA: Interleukin 21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function. *Nature*, 408: 57-63, 2000.

Puel A, Cypowyj S, Bustamante J, Wright JF, Liu L, Lim HK: Chronic mucocutaneous candidiasis in humans with inborn errors of interleukin-17 immunity. *Science*, 332: 65–68, 2011.

Pflanz S, Timans JC, Cheung J, Rosales R, Kanzler H, Gilber J: IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EBI3 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4(+) T cells *Immunity*, 16: 779-790, 2002.

Raddatz D, Ramadori G: Carbohydrate metabolism and the liver; actual aspects from physiology and disease. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 45 (1): 51-62, 2007.

Rocha SM, Coelho E, Zrostlíková J, Delgadillo I, Coimbra MA: Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry of monoterpenoids as a powerful tool for grape origin traceability. *J. Chromatogr A*, 1161 (1-2): 292-299, 2007.

Rose S, John P, HEINRICH C: Soluble Receptors for Cytokines and Growth Factor: Generation and Biological Function, *Biochem. J.*, 300: 281-290, 1994.

Ross MH, Pawlina W. *Histoloji / Konu Anlatımı ve Atlas, İlişkili Hücre Biyolojisi ve Moleküler Biyoloji ile*. 6 ed. Ankara: Palme Yayıncılık; 402-407, 2014.

Rouvier E, Luciani MF, Mattei MG, Denizot F, Golstein P: CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J Immunol*. 150(12): 5445–5456, 1993.

Rudner XL, Happel KI, Young EA, Shellito JE: Interleukin-23 (IL-23)–IL-17 cytokine axis in murine *Pneumocystis carinii* infection. *Infect Immun*. 75: 3055–3061, 2007.

Sarsılmaz M: *Anatomi*, 2 baskı. Nobel Yayıncılık. Ankara. s. 154-155, 2000.

Seelige R, Washington A J, Bui JD: The ancient cytokine IL-17D is regulated by Nrf2 and mediates tumor and virus surveillance. *Cytokine*, 91: 10–12, 2017.

Shinwarl MI, Khan MA: Folk use of medicinal herbs of Margalla Hills National Park, Islamabad. *J. Ethnopharmacology*, 69: 45–56, 2000.

Schimtz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK: IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*, 23: 479-490, 2005.

Soderstrom C, Berstein G, Zhang W, Valdez H, Fitz L, Kuhn M: Ultra-sensitive measurement of IL-17A and IL-17F in psoriasis patient serum and skin. *AAPS J.* , 19(4): 1218–1222, 2017.

Sparna T, Retey J, Schmich K: Genome-wide comparison between IL-17 and combined TNF-alpha/IL17 induced genes in primary murine hepatocytes. *BMC Genomics*, 11(1), 2010.

Starnes T, Broxmeyer HE, Robertson MJ, Hromas R: IL-17D, a novel member of the IL-17 family, stimulates cytokine production and inhibits hemopoiesis. *J. Immunol.* , 169(2): 642–646, 2002.

Stenback A, Meurling S, Cantar C, Lundholm M, Wallander J, Johnsson C: The effect of mesenteric lymphadenectomy and Kupffer cell depletion on bacterial translocation. *J. Surg Res.* , 102: 207-214, 2002.

Sun R, Park O, Horiguchi N: STAT1 contributes to dsRNA inhibition of liver regeneration after partial hepatectomy in mice, *Hepatology*, 44(4); 955– 966, 2006.

Şeftalioğlu A: Genel & Özel İnsan Ebriyolojisi.1. Baskı. Tıp ve Teknik Yayıncılık. Ankara. s. 187-192, 1998.

Tekelioğlu M: Özel Histoloji 2. Baskı. Ankara Üniversitesi Yayınevi. Ankara. s. 176-179, 2002.

Tomova M, Gjulemetova R, Zarkova S: Steroidal saponins from *Tribulus terrestris* L. with a stimulating action on the sexual functions. In *International Conference of Chemistry and Biotechnology of Biologically Active Natural Products*, 21–26: 298–302, 1981.

Uesniau VFJ: Interleukin 9, 10, 11 and 12 and kit ligand: A brief overview. *Res Immunol.* ,143: 385-400, 1992.

Umay A, Bilgin R, Stoechas L, Officinalis M: Chemical composition of subcritical water extraction extract of *Tribulus Terrestris*. *French- Ukrainian Journal of Chemistry*, 6(2): 54-58, 2010.

Vandeghinste N, Klattig J, Jagerschmidt C, Lavazais S, Marsais F, Haas JD: Neutralization of IL-17C reduces skin inflammation in mouse models of psoriasis and atopic dermatitis. *J. Invest Dermatol.* 138(7): 1555–1563, 2018.

Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B: TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity*: 24(2): 179–189, 2006.

Wang X, Lupardus P, Laporte SL, Garcia KC: Structural biology of shared cytokine receptors *Rev Immunol.* , 27: 29-60, 2009.

Washington K, Wright K, Shyr Y: Hepatic stellate cell activation in nonalcoholic steatohepatitis and fatty liver. *Hum Pathol.* , 31: 822-828, 2000.

Weber CB, Akdis M, Akdis CA: Th17 cells in the big Picture of immunology. *J Allergy Clin Immunol.* , 120: 247-254, 2007.

Weisman J, Miller D: Lipoid liver disease and steatitis in a captive sapphire damselfish, *Pomacentrus pavo*. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 2(36): 99-104, 2006.

Welch PA, Namen AE, Goodwin RG, Armitage R, Cooper MD: Human IL-7; a novel T cell growth factor. *J. Immunol.* , 143: 3562-3567, 1989.

Wen JD, Jun HZ, Zhao QZ, Zhao MZ, Yan X, Lai YQ and Shi JC: Expression of Interleukin-17 associated with disease progression and liver fibrosis with hepatitis B virus infection: IL-17 in HBV infection. *Diagnostic Pathology*, 8: 40, 2013.

Wolk K, Kunz S, Asadullah K, Sabat R: immune cells as sources and targets of the IL-10 family members *J. Immunol.* , 168: 5397-5402, 2002.

Wolk K, Kunz S, Witte E, Friedrich M, Asadullah K, Sabat R: IL-22 increases the innate immunity of tissues. *Immunity*, 21: 241-254, 2004.

Wu G, Jiang F, Jiang S, Zhu D, Wu H: Steroidal glycosides from *Tribulus terrestris*. *Phytochemistry*, 42(6): 1677-1681, 1996.

Xu M, Dong C: IL-25 in allergic inflammation. *Immunol Rev.* , 278(1): 185–91, 2017.

Tang Y, Bian Z, Zhao L, Liu Y, Liang S, Wang Q, Han X, Peng Y, Chen X, Shen L, Qui D, Li Z and Ma X: Interleukin-17 exacerbates hepatic steatosis and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One*, 4(7): 281-290, 2011.

Yang J, Chu Y, Yang X, Gao D, Zhu L, Yang X, Wan L, Li M: Th17 and natural Treg cell population dynamics in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* , 60: 1472 – 1483, 2009.

Yao Z, Fanslow WC, Seldin MF, Rousseau AM, Painter SL, Comeau MR: Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity*, 3(6): 811–821, 1995.

Yeşil Y, Akalın E: Folk medicinal plants in Kürecik Area, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6/3: 207-220, 2009.



Yıldırım M: İnsan Anatomisi, 4. baskı. Nobel Tıp Kitapevi. Ankara. s. 220-221, 2004.

Young JP, Young RC, Joa SO and Eun KA: Effects of Tribulus terrestris on monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis pain in rats. Molecular medicine reports, 16(4): 5303-5311, 2017.

Yuan Q, Xiaohua W, Wen H, Guohua G, Dan L, Yang H, Yinlan Z: Acute toxicity and sub-chronic toxicity of steroidal saponins from Dioscorea zingiberensis. J. Ethno. ,126: 543-550, 2009.



## 6. ÖZGEÇMİŞ

25.06.1984 yılında Malatya' da doğdum. İlk öğrenimi; Dilek İlköğretim Okulu' nda, lise öğrenimini; Mersin Atatürk Lisesi' nde, 2002-2007 yılları arasında Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Sağlık Eğitimi Bölümünde ise lisans eğitimini tamamladım. 2009 yılında Kars Serhat Sağlık Meslek Lisesi' ne Hemşirelik/Sağlık Alanı Öğretmeni olarak atandım. 2014 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladım. Evli ve bir kız çocuğu babasıyım.







KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(KAÜ-HADYEK)

Sayı: 2018/069  
Konu: Araştırma

28.06.2018

Sayın Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI  
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi - KARS

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce değerlendirilip çalışma onayı istenen **KAÜ-HADYEK/2018-069** Kodlu ve **"Demir Dikeni (Tribulus Terretstris) Uygulamasının Fare Karaciğer Dokusunda IL-17 (İnterlökin 17) Salınımı Üzerine Etkisinin İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi"** adlı araştırmanızın KAÜ-HADYEK yönergesi ilkelerine uygun olarak planlandığı ve projenin 12 ay süreli ve KAÜ-HADYEK/2015-039 kodlu araştırma kapsamında daha önce alınıp uygun koşullarda saklanan 16 adet fare dokusu üzerinde yürütülmesinin hayvan kullanım etiği ve mevzuatı açısından **"UYGUN"** olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Saygılarımla.

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN  
KAÜ-HADYEK Başkanı

EK:

1. Etik Kurul Kararı (1 Adet)

**Yazışma Adresi**

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
(KAÜ-HADYEK) Başkanlığı  
Kafkas Üniversitesi Rektörlüğü, 36100 KARS

Tel: 0 474 2251158 – 2426836  
Faks: 0 474 2251161  
E-Posta: hadyek@kafkas.edu.tr