

**MACLURA POMİFERA BİTKİSİNDEN
ELDE EDİLEN SU EKSTRESİNİN
RATLARDA KARRAGENİN İLE OLUŞTURULAN
ENFLAMASYON MODELİ VE SİTOKİNLER ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Kim. Ergün EREMİNSOY
Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Necati UTLU
Doç. Dr. Mesut B. HALICI(Ortak Danışman)
Yüksek Lisans Tezi-2014

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

**MACLURA POMİFERA BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN SU
EKSTRESİNİN RATLARDA KARRAGENİN İLE
OLUŞTURULAN ENFLAMASYON MODELİ VE
SİTOKİNLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ergün Ereminsoy

**Veteriner Biyokimya Anabilimdalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof.Dr. Necati Utlu**

**ERZURUM
2014**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**MACLURA POMİFERA BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN SU
EKSTRESİNİN RATLARDA KARRAGENİN İLE
OLUŞTURULAN ENFLAMASYON MODELİ VE
SİTOKİNLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ergün EREMİNSOY

Tez Savunma Tarihi : 25.02.2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Necati UTLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mesut Bünyami HALICI (Ortak Danışman)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR (Atatürk Üniversitesi)

ONAY

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


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2014

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Enflamasyon Tarihi Süreci	3
2.1.2. Enflamasyon Belirtileri	3
2.1.2.1. Lokal Belirtiler.....	3
2.1.2.2. Sistemik Belirtiler	4
2.1.3.Enflamasyon Çeşitleri.....	4
2.1.3.1.Akut Enflamasyon	5
2.1.3.2. Kronik Enflamasyon	6
2.1.4. Enflamasyonun Kimyasal Medyatörleri	6
2.1.5. Enflamasyon Önleyici ilaçlar	10
2.1.5.1. Nonsteroidal Antienflamatuar İlaçların Etki Mekanizması	11
2.1.5.2. Nonsteroidal Antienflamatuar İlaçların Sınıflandırılması	11
2.2. Maclura Pomifera	14
2.2.1. Maclura Pomiferanın Kimyasal Bileşeni	15
2.3. Sitokinler	16
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Deney Bitkileri.....	23

3.2. Maclura Pomifera'nın Su Ekstresi Hazırlanması	23
3.3. Deney Hayvanları	23
3.4. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler	23
3.5. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar	25
3.6. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	25
3.7. Ratlarda Karragenin İle Enflamasyon Oluşturma	25
3.8. Tümör Nekrozis Faktör Alfa ölçülmesi	26
3.9. İnterlökin-1 beta Ölçülmesi	28
3.10. İstatistiksel Analizler	30
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	44
EKLER	55
EK-1 ÖZGEÇMİŞ	55
EK2 ETİK KURUL ONAY FORMU	56
EK 3 HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI	57

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten Sayın Prof. Dr. Necati UTLU' ya, Yüksek lisansa başladığım ilk günden beri bana her türlü desteğini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Mesut B. HALICI ve sayın Yrd. Doç. Dr. Özgür KAYNAR' a, Arş. Gör. Hüseyin Serkan EROL'a, ayrıca Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD'li akademik ve idari personele,

Bitkilerin temini ve teşhisi için sayın Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU ve Dr. Murat KOÇ'a, hayvanların temini ve deney aşamasında yardımlarından dolayı sayın Doç. Dr. Sinan AKTAŞ'a, istatistiksel çalışmaları yapan Arş. Gör. Mutlu YAĞANOĞLU'na

Yüksek lisansa başladığım ilk günden beri bana desteğini esirgemeyen Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı Başkanı başta olmak üzere tüm akademik ve idari personele, Yüksek lisans yapmam için teşvik eden Yüksek Kimyager Cüneyt Türkeş'e

Hayatımın her safhasında destek olan ve motive eden eşim ve çocuklarım Nur Zişan'a, Ahmet Erinç'e, Muhammed Sirac'a, Mustafa Miraç'a

Teşekkür ederim.

Ergün EREMİNSOY

ÖZET

Maclura Pomifera Bitkisinden Elde Edilen Su Ekstresinin Ratlarda Karragenin ile Oluşturulan Enflamasyon Modeli ve Sitokinler Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Amaç: Araştırmada; Maclura pomifera’ dan elde edilen su ekstresinin ratlarda karragenin ile oluşturulan enflamasyon modeli ve sitokinler üzerine etkilerini tespit etmeye çalıştık.

Materyal ve Metot: Çalışmada, ratlarda karragenin ile enflamasyon modeli oluşturuldu ve maclura pomifera’nın etkisi araştırıldı. IL-1 β , TNF- α sitokin düzeyleri ölçüldü. Çalışma 5’ şer rattan olmak üzere altı grupta yapıldı. Birinci grup sağlıklı, ikinci grup kontrol olup hayvanlara çeşme suyu, üçüncü gruba 25 mg/kg indometazin (IND) ve dördüncü, beşinci ve altıncı gruplara ise sırası ile 0,5, 1 ve 1,5 g/kg dozlarda maclura pomifera su ekstresi (MPSE) oral olarak verildi.

Denemeden bir saat sonra sağlıklı grup hariç bütün ratların ayak pençelerinden 0,1 ml % 1’lik karragenin enjekte edildi. Pençe hacimleri (enflamasyon) pletismometre ve IL-1 β , TNF- α düzeyleri de ELİZA kitleriyle ölçüldü.

Bulgular: MPSE’nin bütün dozlarının önemli oranda enflamasyon oluşumunu ve IL-1 β , TNF- α düzeylerini anlamlı oranda ($p<0.05$) azalttığı belirlendi.

Sonuç: Elde edilen sonuçlardan, MPSE nin dozlarının enflamasyonu ve buna bağlı olarak IL-1 β , TNF- α düzeylerini azalttığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enflamasyon, maclura pomifera, karragenin, sitokin ve rat

ABSTRACT

Maclura Pomifera Plant Obtained From The Water Extract Carrageenan-Induced Inflammation in Rats Model and Investigation of the Effect on Cytokines

Aim: In the study, obtained from Maclura pomifera created with water extract carrageenan in rats inflammation model and tried to determine the effects on cytokines

Materials and method: In this study, rats with carrageenan inflammation model was created and investigated the effect of maclura pomifera. IL-1 β , TNF- α cytokine levels were measured. 5th in overall study was performed in six groups, including rattan. The first group of healthy, second group served as control to animals with tap water, the third group received 25 mg / kg of indomethacin (IND) and the fourth, fifth and sixth groups are respectively 0.5, 1 and 1.5 g / kg doses maclura pomifer to water extract (MPSE) was given orally.

Trial of the hind paws of all rats one hour after 0.1 ml of 1% carrageenan was injected, except the healthy group. Paw volumes (inflammation) plethysmometer and IL-1 β , TNF- α levels were measured with the ELISA kit.

Results: From the results obtained, MPSE and consequent inflammation of the dose of IL-1 β , TNF- α levels were determined of decrease.

Conclusion: All doses of significant inflammation MPSE formation and IL-1 β , TNF- α levels significantly lower (p <0.05) were found to decrease.

Key words: Inflammation, maclura pomifera, carrageenan, cytokine and rat

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AI	: Antienflamatuar.
ABC	: Avidin-Biotin-Peroxidase Complex
B1R/Bdkrb1	: Bradikinin B1 reseptörü
B2R/Bdkrb2	: Bradikinin B2 reseptörü
CAR	: Karragenin
COX	: Siklooksijenaz
DPA	: Doku Plazminojen Aktivatör
IL	: İnterlökin
IL-1	: İnterlökin1
IL-1β	: İnterlökin-1 beta
IL-6	: İnterlökin-6
IFN	: İnterferon
IFN-γ	: İnterferon gama
IND	: İndometazin
KKS	: Kallikrein-kinin sistemi
LPS	: Lipopolisakkarit
LT	: Lökotrienler
MPSE	: Maclura pomifera'nın su ekstresi
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NO	: Nitrik oksit
NSAI	: Nonsteroidal Antienflamatuar
NSAIİ	: Nonsteroidal Antienflamatuar İlaç
PBS	: Fosfat buffer solüsyon
PG	: Prostaglandin

SSS	: Santral sinir sistemi
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
sTNF	: Sitoplazmik TNF
tmTNF	: TransmembranTNF
TAF	: Trombosit aktive faktör
TMB	: 33'55' tetrametlybenzidine
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör Alfa
TXA2	: Tromboksan A2

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 Akut ve Kronik İnflamasyon Seyri	6
Şekil 2.2 Araşidonik Asit Metabolizması	10
Şekil 2.3 Maclura Pomifera (Osage Orange).....	14
Şekil 3.1 Tümör Nekrozis Faktör Alfa standart eğrisi.....	28
Şekil 3.2 İnterlökin-1 beta Standart eğrisi	30
Şekil 4.1 Maclura Pomifera'nın (0.5, 1, 1.5 g/kg) Dozlarının, IND (İndometazin), Kontrol ve Sağlıklı grupların Pençe Hacimleri Artışı gösteren grafik.....	31
Şekil 4.2 Maclura Pomifera'nın (0.5, 1, 1.5 g/kg) Dozlarının, IND (İndometazin), Kontrol ve Sağlıklı gruplarının İnterlökin-1 beta Düzeylerinin gösteren grafik	32
Şekil 4.3 Maclura Pomifera'nın (0.5, 1, 1.5 g/kg) Dozlarının, IND (İndometazin), Kontrol ve Sağlıklı gruplarının Tümör Nekrozis Faktör Alfa Düzeylerini gösteren grafik.....	33

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.3 Sitokinler.....	19
Tablo 3.1 Tümör Nekrozis Faktör Alfa Kit içeriği	24
Tablo 3.2 İnterlökin-1 beta Kit içeriği	24

1. GİRİŞ

Enflamasyon, vücudun mikrobik ajan ve toksinlere karşı vermiş olduğu tepkidir. Dokularda hasardan sonra oluşan ve organizmanın zararlı yıkıcı etkenlere karşı verdiği yanıttır. Enflamasyon çeşitli organlarda çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır. Örneğin;

- Mide (Gastrit)
- Karaciğer (Hepatit)
- Bağırsak (Enterit)
- Böbrek (Nefrit)
- Akciğer (Pnömoni)¹

Bunların haricinde; obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, gingivitis, göz bozuklukları, metabolik sendrom, enfeksiyonlar, yaralanmalar, artrit, Alzheimer, astım, allerji ve hatta kolon, meme ve akciğer kanserin etyolojisinde rol oynamaktadır.²

Enflamasyon önleyici ilaçlara antienflamatuar denilmektedir. Bu nedenle yaygın kullanımı ve çeşitliliği vardır. Bu ilaçlar enflamasyonu önlemeye çalışırken özellikle gastrointestinal sistemde ülser gibi hasarlara yol açmaktadır. Bu ise hem halkı hemde bilim insanlarını yeni arayışlara sevk etmektedir. Doğadaki bitkiler organik yapıda ve sentetik materyallere göre daha az tehlikeli olması bu gibi sorunlara çözüm olacaktır. Bu bitkilerin antienflamatuar ve antiülser etkilerinin araştırılması ise yeni ufuklar açacaktır.

Literatürde bazı bitki ekstraktlarının ve metabolitlerinin antienflamasyon etkilerinin incelendiği bazı araştırmalara rastlanmıştır. Enflamasyonun önlenmesinde oksidatif süreç üzerinde bu bitkilerin etkili olup olmadığının tespit edilmesi hakkında ise bilgiler oldukça sınırlıdır. Süleyman ve ark likenler üzerine yaptıkları çalışmada Lobaria Pulmonaria liken türünün antienflamatuar ve antiülser etkilerini bulmuşlardır.³

Bu bitkilerden biriside Türkiye de süs bitkisi olarak yetiştirilen Moracea familyasına ait bir tür olarak adlandırılan Maclura pomiferadır. Bölgelere göre halk arasında yalancı portakal, at elması, sahte portakal, çit elması olarak da adlandırılmaktadır. Ağacının yaprakları ve meyvesi yeşil renktedir.⁴⁻⁶ Maclura türleri halk arasında ilaç olarak kullanılmaktadır. Kuzey Amerika’da yaşayan Komanşiler, Maclura pomifera ‘nın köklerini kaynatarak göz yaralarının tedavisinde ^{4, 7}, Bolivya’da diş ağrısı, yaprakları ve çıkarılan özünün uterus kanamalarında kullanıldığı belirtilmektedir.⁸ Ayrıca antibakteriyal, antifungal, antiviral, antitümör ve antimalariyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.^{4, 9-11} Maclura pomifera’ nın güçlü antioksidan özelliği yapısındaki izoflavinler, osajin ve pomiferinden oluştuğu bildirilmiştir.^{5, 11-13}

Hem akut hemde kronik enflamasyon araştırmalarında çeşitli deneysel modeller geliştirilmiştir. Karragenin enflamasyon modeli maddelerin enflamasyonun akut fazına, cotton pellet granuloma testi ise kronik fazına etkilerini araştırmak için kullanılmaktadır.^{14, 15}

Enflamatuar yanıtta rol alan maddeler sitokinler olup, ilk yükselenler ise interlökin-1 beta (IL-1 β) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α)’ dır.

Bu çalışmada; ratlarda karragenin ile oluşturulan akut enflamasyon modeli kullanılarak MPSE’nin in vivo antienflamatuar etkileri ve bu etkilerin sitokinler üzerine etkileri tespit edilmeye çalışıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enflamasyon Tarihi Süreci

Enflamasyonun temel bulguları olan “rubor” (kızarıklık), “tumor” (şişkinlik), “calor” (ısı artışı) ve “dolor” (ağrı) eski Mısır dokümanlarında (M.Ö. 3000) tespit edilmiştir. Virchow ise bunlara “functio laesa” (fonksiyon kaybı) eklemiştir. 1793’ te John Hunter enflamasyonun bir hastalık olmadığını ve uyarana karşı başlatılmış nonspesifik bir cevap olduğunu bildirmektedir. 1870’li yıllarda ise Julis Cohnheim tarafından mikroskop ile enflamasyonda kapiller yatakta meydana gelen permeabilite artışını, lökosit göçünü ve ekstrasvazasyonu tespit edilmiştir. 1882’de Elie Metchnikoff enflamasyonun asıl amacının fagositik hücrelerin hasarlı alana transferi olduğunu, Paul Ehrlich ise uyarılara karşı sadece hücresel elemanların (fagositler) değil aynı zamanda serum faktörlerinin (antikorlar) da önemli rol oynadıklarını bildirmiştir. Sir Thomas Lewis ise enflamasyonda kimyasal medyatörlerin (histamin) etkisi ile vasküler yatakta değişiklikler olduğunu söylemektedir.¹⁶

2.1.2 Enflamasyon Belirtileri

2.1.2.1 Lokal Belirtiler

Enflamasyonun lokal beş tip belirtisi vardır.

- 1) Kızarıklık: Enflamasyon alanda birçok medyatörün etkisi sonucu damar geçirgenliği ve damar genişliği arttığı için bölge daha fazla aktif olarak kanlanmakta olup, yangının erken evresi ve hafif seyreden reaksiyonlarda, oldukça tipik görülmektedir.
- 2) Isı artışı: Damar genişlemesi sebebiyle bölgeye daha fazla kan akımından dolayı sürtünme arttığından ısı artışı oluşmaktadır. Organizmada ısı dengesi son derece önemli olup, akut enflamasyonun en önemli bulgusudur.

- 3) Şişkinlik: Damar geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak bölgede kan plazmasının sızmasından oluşmaktadır. Şişkinliğin tek sebebi olmayıp, proliferatif karakterde enflamasyonlarda meydana gelen granülomlar veya hiperplaziler, fibrotik değişiklikler de önemli faktördür. Dışarıdan görülebilen enflamatuar reaksiyonlarda ön planda olmasına rağmen görünmeyen kısımlarda ise daha önemsizdir. Örneğin; akciğerde oluşan şişkinliği gözlemlemek imkânsızdır. Zira bu organda meydana gelen akut bir pnömoni, akciğerlerden köpüklü sıvı gelmesine veya patolojik akciğer seslerinin duyulmasına neden olmaktadır.
- 4) Ağrı: Şekillenmesindeki en önemli iki sebep; yangıyı tetikleyici prostaglandinlerin ve enflamatuar şişkinlikliğin sinir uçlarına baskı yapmasıdır. Bazen kronik durumlarda arka planda kalmasına rağmen, romatoid artrit gibi bozukluklarda ön plana çıkmaktadır.
- 5) Fonksiyon Kaybı: Doğal olarak inflamasyonlu organ fonksiyonlarını yerine tam olarak getirememektedir.¹⁷

2.1.2.2 Sistemik Belirtiler

Ateş, en önemli sistemik belirti olup, başlıca İnterlökin-1 (IL-1) ve tümör nekrozis faktör (TNF) oluşmasında rol oynamaktadır. Lökositöz enflamatuar reaksiyonlarda, özellikle bakteriyel enfeksiyonlarda önemli bir bulgudur. Lökositöz başlangıçta kemik iliğinden postmitotik rezerv havuzundan (IL-1 ve TNF nin sebep olduğu) hücrelerin hızlanmış çıkışıyla meydana gelmekte ve kanda immatür nötrofil artışıyla belirlenmektedir.¹⁸

2.1.3 Enflamasyon Çeşitleri

Enflamasyon akut ve kronik olmak üzere iki ayrı formda sınıflandırılır.¹⁸

2.1.3.1 Akut Enflamasyon

Vasküler olaylarda temel rol uyarıcı etkene karşı dokuda ilk oluşan cevap olup, üç komponenti ;

1-Vasküler çap değişikliği (Vazodilatasyon), kan akımında artış (konjesyon-staz)

2-Mikrovasküler sahada değişiklikler, permeabilite artışı, buna bağlı plazma proteinleri ve lökositlerin damar dışına çıkışı (eksüdasyon)

3-Lökositin endoteli geçerek (transmigrasyon) enflamasyon bölgesinde toplanmasıdır.

Vasküler çap değişiklikleri zedelenmeden hemen sonra oluşan geçici vazokonstriksiyonla başlar ve hemen arteriol, kapiler yatak ve venülden oluşan mikrosirkülasyonu sahada vazodilatasyon gelişir. Kan akımı artar, ortaya çıkan staz hem lökosit hareketlerine zemin hazırlar, hemde bu sırada vasküler sistemdeki geçirgenlik artışına bağlı ekstravasküler alana sıvı çıkışı olur.¹⁹

Vasküler geçirgenlikteki artış, endotel hücre kontraksiyonu (histamin, bradikinin ve lökotrienlerce), endotelyal hücre bağlantılarında ayrılmalar TNF ve IL -1 gibi sitokin medyatörlerince) ve endotelyal hücre hasarının şiddeti ile oluşan hücre kaybı nedeniyle ortaya çıkan bir durumdur.²⁰

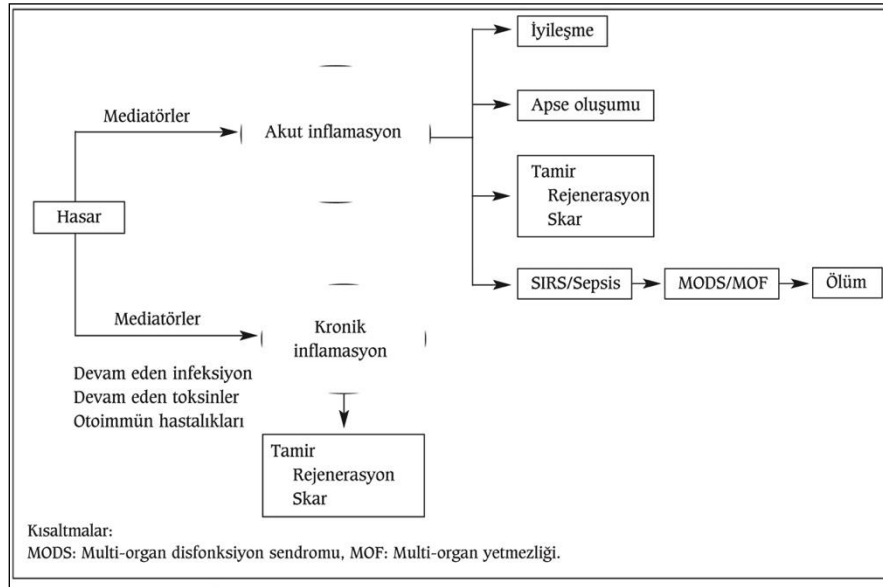
Zedelenen dokuda nötrofil, lökosit ve monosit birikimi enflamasyonun karakteristik özeliği olarak bilinir. Lökositlerin kümelenmesi ve enflamasyon alanında etkileri şu şekilde sıralanır.

1. Damar iç yüzeyine yayılma
2. Hücre göçü
3. Lökositlerin hasarlı bölgeye göçü
4. Yüzeye yapışan parçacıkların öldürülmesi

5. Ekstraselüler lökosit ürünlerinin serbestleşmesidir.²¹

2.1.3.2 Kronik Enflamasyon:

Aktif enflamasyon ve iyileşme süreçlerinin birlikte görüldüğü uzun süreli bir enflamasyon olup, akut enflamasyonu izlemektedir. Bu geçiş zedeleyici etkenlerin devam etmesi veya iyileşme süreçlerindeki bozukluklardan kaynaklanmaktadır. Zedelenmenin bazı türlerinde etkene karşı yanıt başlangıçtan itibaren kronik enflamasyon olup, ortaya çıkaran zedeleyici etkenler akut enflamasyon yapanlardan daha az toksik olmalarına rağmen, iyileştirme prosesleri daha uzun süre almaktadır. Fibrozis birçok kronik inflamatuvar hastalığın ortak özelliği olup, organ disfonksiyonunun önemli nedenlerinden biridir. Kronik enflamasyon; inatçı enfeksiyonlar potansiyel toksik ajanlara uzun süre maruz kalma ve otoimmün hastalıklar sırasında oluşabilmektedir.^{18, 22-24} Akut ve kronik enflamasyonun seyri Şekil 2.1’de görülmektedir.



Şekil 2.1. Akut ve Kronik Enflamasyon Seyri¹⁶

2.1.4. Enflamasyonun Kimyasal Medyatörleri

Enflamatuar doku yanıtı oluşmasında aracılık eden kimyasal medyatörlerden, ilk keşfedilen histamin olup, daha sonra birçok sayıda oldukları tesbit edilmiş, hasarlı

dokudan ve plazmadan köken alan kimyasal maddeler olduğu belirtilmiştir. Özellikleri aşağıda sıralanmıştır;

1. Plazmadan köken alanlar (örneğin: komplemanlar) biyolojik aktivitelerini kazanmak için bir dizi proteolitik değişiklikler geçirirler. Hücreden köken alan medyatörler normalde intrasellüler granüllerde (örneğin: histamin mast hücrelerinde) bulunmaktadır. İhtiyaç olduğunda salgılanır veya bir uyarıya karşı yeniden sentez edilirler (örneğin: prostaglandinler (PG)).

2. Aktive edilince ve hücreden salınınca bu medyatörlerin çoğu kimyasal değişikliğe uğrar (örneğin: araşidonik asid metabolitleri) veya enzimler tarafından inaktive edilir (örneğin: kininaz bradikininini inaktive eder).

3. Tamamı hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak aktivite gösterirler.

4. Bir kimyasal medyatör hedef hücreye etkiyerek ikincil medyatör çıkışını uyarabilir. İkincil medyatörler başlangıçtaki medyatörlere benzeyebilir, aynı olabilir ve bununla birlikte karşıt aktivite de gösterebilirler.^{25, 26}

Kompleman Sistemi:

Bu sistemde yer alan plazma proteinleri vücudun savunma sisteminin önemli kısmını oluşturup, kemoatraksiyon, opsonizasyon, aktivasyon ve hücre lizisinde önemli rol oynamaktadırlar. Kanın ekstrakorporeal devrelerle teması ile alternatif yol komplement 3a (C3a), komplement 5a (C5a), protamin antagonizasyonu ile de klasik yol komplement 4a (C4a), C3a aktive olmaktadır.

Kompleman sistem aktivasyonu ve klinik seyir arasında ilişki tam açıklanamamış olsada birçok çalışmada postoperatif morbidite ile kompleman aktivasyonu arasında anlamlı ilişki bulunduğu belirtilmiştir.²⁷

Kinin sistemi:

Kallikrein-kinin sistemi (KKS) bradikinin dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktif kinin peptitler ve bunların türevlerini üreten çok kompleks, enzim kaskadı oluşturduğu bildirilmiştir. Güçlü vazodilatatör ve enflamatuar yanıt aracısı olması klasiğine ek olarak son çalışmalarda KKS ile oksidatif stres arasında bağlantı olabileceği düşünülmektedir. Kininler doku ya da plazma kallikreinler ve diğer serin proteazlar ile kininojenler proteolitik bölünme ile üretilip, reseptör üzerinden etki ettiği bildirilmiştir. Bradikinin B1 reseptörü (B1R) enflamasyon ve diyabet de dahil olmak üzere stres koşulları altında meydana gelirken bradikinin B2 reseptörü (B2R) yapısal olarak, çoğu dokuda bulunmaktadır. B1R, B2R ile birleştirilmiş transmembran reseptörlerdir. İkisi de G-proteinidir Uyarılması hücre içi Ca^{++} konsantrasyonları fosfolipaz A2 etkinliğini yükseltir. Çeşitli araçların salınmasına yol açmaktadır.²⁸

Fibrinolitik Sistem

Trombüs içindeki fibrin doku plazminojen aktivatörünün (DPA) aktivasyonu için en önemli stimülasyon olduğu bildirilmektedir. DPA trombüs varlığında stimüle olunca karaciğerden sentezlenen plazminojeni plazmine çevirerek çapraz bağları olan fibrini parçalayarak fibrin yıkım ürünleri oluşturur.²⁹

Vazoaktif Aminler

Histamin ve serotonin akut enflamasyonun en başında artmış permeabiliteden sorumlu medyatörlerdendir.

a. Histamin: En zengin kaynak kan damarlarına bitişik olan konnektif dokudaki mast hücreleridir. Ayrıca kan bazofilleri ve trombositlerde saklanmaktadır. Mast hücrelerinden histamin salınımı, degranülasyonuna yol açan çeşitli fiziksel uyarılar (travma ve soğuk/sıcak vb.), antikor bağlanmasını içeren otoimmün olaylar, anafilatoksin diye adlandırılan kompleman şekilleri, nötrofillerden salınan katyonik

lizozomal proteinler ve bazı nöropeptidler aracılığıyla olmaktadır. Böylece arteriolar dilatasyon ve venüllerin vasküler geçirgenliğinin artmasına neden olup, eozinofiller için de kemotaksis rol oynar ve histaminaz ile inaktive edilmektedir.

b. Serotonin: Trombositlerde ve mast hücrelerinde granüllerde saklanırlar. Trombositlerden çıkışını takiben, kollagenle veya antijen antikor kompleksleri ile temastan sonra uyarılmaktadır. IgE aracılı reaksiyonlarda mast hücrelerinden kaynaklanan trombosit aktive faktör (TAF), trombositlerden histamin ve serotonin salınımına ve trombosit agregasyonuna neden olmaktadır.³⁰

Nöropeptidler

Büyük ölçüde nöromodülatör ve nörohormon olarak görev yapmasına ilaveten lokal nörotransmitter fonksiyonlarında olduğu söylenmektedir.

Peptidlerin fonksiyonu peptidazla sonlandırılmaktadır. Aynı nöronda peptidler ve basit nörotransmitterler bulunabilmektedir.

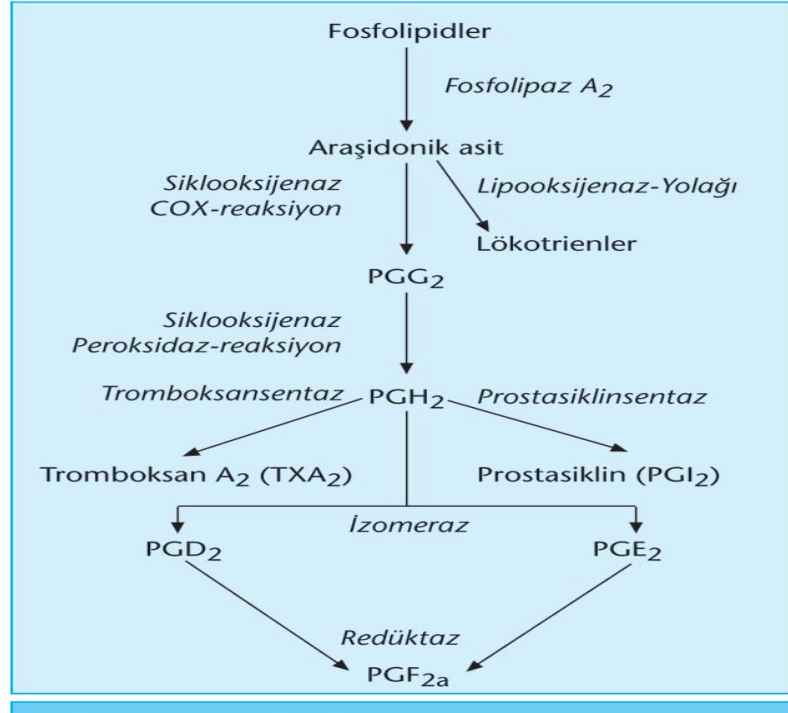
Şimdiye kadar tesbit edilen nöroaktif peptidlerin sayısı yüzden fazla olduğu söylenmektedir. Araştırmacılar merkezi sinir sistemi (MSS)'de belkide üç yüzden fazla peptid olabileceği varsayılmaktadır. Beynin tümünde yer almakla birlikte en fazla limbik sistemde yer aldığı bildirilmektedir. Peptid nörotransmitterlerin en önemlileri endojen opiyoidler, hipotalamik hormonlar, kolesistokinin, norotensin, somatostatin, P maddesi ve vazopressin olarak sınıflandırılmaktadır.³¹

Araşidonik Asit Metabolitleri

İskemiyle birlikte sitozolik kalsiyum seviyesi yükselir, bu da fosfolipaz A2 yi aktive ederek hücre membran fosfolipidlerinden araşidonik asit sentezine yol açmaktadır. Araşidonik asit başlıca iki yol ile metabolize olmaktadır. Siklooksijenaz (COX) yolu ile prostaglandin(PG) ve tromboksan A2 (TXA2), lipooksijenaz yoluyla lökotrienler (LT) oluşmaktadır. İskemiyle birlikte gelen sitozolik kalsiyum yükselmesi

aynı zamanda hem lipooksijenazı hemde siklooksijenazı aktive etmektedirler.³²

Araşidonik asit metabolizması Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Araşidonik Asit Metabolizması³³

2.1.5. Enflamasyonu Önleyici ilaçlar

Antienflamatuar (Aİ), analjezik ve antipiretik etkileri olan bir ilaç grubu olup, kimyasal yapıları genellikle birbirinden farklı, terapötik ve yan etkileri birbirine benzemektedir. Bu grup ilaçların primer etkileri olan antienflamatuar etkinliği sentetik veya doğal en güçlü antienflamatuar steroid olan glukokortikoidlerinkine göre zayıf etkiye sahiptir. Analjezik etkinlikleri, güçlü analjezikler olan fakat Aİ etkisi bulunmayan narkotik analjeziklere göre genellikle daha zayıftır. Nonsteroidal antienflamatuar (NSAİİ)lar bağımlılık, uyuşukluk ve bilinç bulanıklığı oluşturmadıklarından çoğunlukla ağrılı hastalıklarda kullanılmaktadır. Özellikle artrit, osteoartrit ve benzeri romatizmal hastalıklar, genellikle enflamasyona bağlı ve uzun süre analjezik ilaç verilmesi gereken durumlarda yararlıdırlar. Bağımlılık yapmamaları,

antienflamatuar etkilerinin bulunması ve terapötik etkilerine karşı tolerans oluşmaması bu grup ilaçların terapötik değerini arttırmaktadır. NSAİİ'lar narkotik olmayan analjezikler olarak da adlandırılmaktadır.³⁴

2.1.5.1 Nonsteroidal Antienflamatuar İlaç'ların Etki Mekanizması

NSAİİ'ların prototipi aspirindir, yaklaşık 100 yıldan beri kullanılır ve steroidlerin güçlü anti-enflamatuarlar etkilerinin gösterilmesinden üç yıl sonra 1949 yılında fenilbütazon bulunmasını takiben kullanılmaya başlanmıştır. Esas etkilerini PG sentezini baskılayarak (COX inhibisyonu) göstermelerine ilaveten, lizozomal enzim salınımını azaltmak, kompleman aktivasyonunun ve serbest oksijen radikallerinin inhibisyonu, kininlerin aktivite ve artışını baskılamak, serotonin salınımını azaltmak, lipooksijenaz inhibisyonu ile LT sentezini azaltmak, enflamatuar hücrelerin fonksiyonlarını ve çoğalmalarını baskılamak gibi etkiler de göstermektedirler.³⁵

2.1.5.2 Nonsteroidal Antienflamatuar İlaç'ların Sınıflandırılması

A-Aspirin ve Salisilatlar

Aspirin zayıf bir organik asittir ve siklooksijenazı geriye dönüşümsüz olarak asetillediği için diğerlerinden farklı olup, vücuttaki esterase tarafından hızla asetillenerek salisilata çevrilir.

Salisilatların antipiretik ve Aİ etkileri hipotalamusun termoregülatuar bölgesindeki ve etkili olduğu periferik dokulardaki PG sentezini engellemesi ile sağlanır. Subkortikal alanlardaki (talamus ve subtalamus) ağırlı uyaranları da baskılayabilmektedir.

Aspirin de dahil olmak üzere NSAİİ lerin tedavide üç temel özelliklerinden yararlanır; enflamasyonu (antienflamatuar) ve ağrıyı azaltırlar (analjezi), ateşi düşürürler (antipiretik).

B-Propyionik asit türevleri

İbuprofen bu grubun kullanıma giren ilk üyesi olup, daha sonra

- Fenopropen
- Naproksen
- Ketoprofen
- Flurbiprofen
- Oksaprozin geliştirilmiştir.

Bu ilaçların hepsi analjezik, antipiretik ve Aİ etkili olup, romatoid artrit ve osteoartritin kronik tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar, çünkü gastrointestinal sisteme etkileri aspirinden daha zayıftır. Bu ilaçlar COX`u geriye dönüşümlü olarak inhibe etiklerinden asprin gibi PG`lerin sentezini engelerken LT`lere etki göstermez, karaciğerde metabolize edilir ve böbrekler ile atılırlar.

C- İndolasetik asit

Bu grup ilaçlar;

- İndometazin (İND)
- Sulindak
- Etodolak`tan oluşmaktadır.

İndometazin (İND): Aİ etkileri aspinden daha güçlü olup, ancak romatoid hastaların tolere edebildikleri dozlarda salisilatlar daha üstündür.

Ancak akut gut artritli, ankilozan spondilit ve kalça osteoartritinde asprine ve diğer NSAİİ `lara göre enflamasyonu gidermede daha etkilidir.

Tedavide güçlü Aİ etkilerine rağmen toksik etkileri kullanımını yukarıda sayılan klinik durumlarla sınırlamaktadır. Aynı zamanda üveite bağlı gözün cerrahi girişiminden sonra ortaya çıkan ağrının kontrolünde ve Hodgkin lenfoma hastalığında ateş diğer ilaçlara dirençli olduğunda antipiretik olarak etkilidir. Aspirin gibi indometazin de

uterusun kontraksiyonlarını azaltarak doğumu geciktirir. Patent ductus arteriyozusun tedavisinde etkilidir.

Oral yolla uygulandıktan sonra üst gastrointestinal sistemden hızla ve tamamen emilmektedir. Karaciğer tarafından metabolze edilerek metabolitleri ile birlikte safra ve idrarla atılmaktadır.

İndometazin Yan etkileri:

Tedavi edilen hastaların %50' sinde yan etki gösterir, fakat hastaların yaklaşık %20'si bu etkileri tolere edemezler. Üst gastrointestinal sistemde perforasyon ve kanamalara neden olur. Kronik İND kullananlarda santral sinir sistemine (SSS) ait en sık ve en şiddetli yan etki hastaların yaklaşık % 25-50 'sinde görülen frontal baş ağrısıdır. Diğer SSS yan etkileri dengesizlik, baş dönmesi, göz kararması ve mental konfüzyondur. Akut pankreatitte saptanmıştır. Karaciğere toksik etkileri nadir olup az sayıda ölümle sonuçlanan hepatit ve sarılığa rastlanmıştır. Hemopoetik sistemde İND nötropeni, trombositopeni ve nadir görülen aplastik anemidir.

D-Oksikam Türevleri

Bu grup ilaçlardan proksikam sadece ABD de kullanılmaktadır.

E-Fenematlar

- Mefanamik asit
- Meklofenamat

G-Diğer İlaçlar

- Diklofenak
- Ketorolak
- Tolmetin
- Nabumetin³⁶

2.2 Maclura Pomifera

Osage orange (yalancı portakal) olarak bilinen, açık güneşli alanlarda ortaya çıkan, kuraklığa toleranslı, toprak tipleri ve toprak nem koşulları geniş bir yelpazede yetişmektedir. Bununla birlikte, pH 4,5 'lik bir alt toprak sınırı olan, iyi drene topraklarda yetişen ve çit ya da çayırlarda sık bulunmayan, düzensiz ormanlarda bulunan bir bitkidir. Hintliler sert ahşap, yay ve mobilya yapmak için kullanmaktadırlar. Nisan ve Haziran aylarında göze çarpmayan yeşil çiçekler halinde izlenir, kaba sarı yeşil olgun dokulu, ağır yeşil toprak halinde Ekim ve Kasım aylarında düşer, asitli ve sütlü olup, yenmeyen bir meyvedir.³⁷ Meyve Şekil 2.3’de görülmektedir.



Şekil 2.3 Maclura Pomifera(Osage Orange)³⁸

Osage orange ağacının birkaç bileşiği, izole edilmiş, tespit edilmiştir. Örneğin, kök kabuğu, çeşitli fenolik bileşikler, dört ksanthonları tespit edilmiş (osanjaxanthone, alvaxanthone, macluraxanthone ve 8 -prenyltoxyloxanthone) olup, iki flavanones

(euchrestaflavanone B ve C euchrestaflavanone) Ksantonlar sadece çok ilginç bir aile olmayıp, birkaç bitki ailesi olarak ortaya çıkmaktadır. Dahada önemlisi farmakolojik özellikleri sayesinde, antimikrobiyal, antienflamatuar, antitümöral antidepresan özellikleri tespit edilmiştir.³⁹

Moraceae, 37 cinse ait 1179 tür barındıran tohumlu bitkilerin en geniş familyasıdır. Maclura bu ailenin en kapsamlı cinsindendir. Maclura pomifera (Yalancı Portakal) 36 türden biridir.^{40, 41} Sistematığı aşağıdaki gibidir.

Alem : Plantae (bitkiler)

Divisio(Bölüm) : Spermatophyta (Tohumlu bitkiler)

Subdivisio(Alt bölüm): Gymnospermae (Açıktohumlular)

Klassis : Magnoliopsida (Dicotyledoneae = Çift Çenekli Bitkiler)

Subklassis : Hamamelidae

Familya : Moraceae (Dutgiller)

Genus (cins) : Maclura

Tür :Maclura pomifera (Raf.) C.K. Schneid. Yalancı portakal^{40, 42}

2.2.1 Maclura Pomiferanın Kimyasal Bileşeni

Maclura pomifera tohumunda, sırasıyla: % 5.88 kül, % 6.72 yağ, % 32.75 yüksek protein içeriği, % 33.89 nem, karbonhidrat içeriği %20,76 mg/100 g yağ olarak potasyum 421,65±0.01, kalsiyum 218,56±0.06, magnezyum 185,00±0.001, demir 3.25±0.07, çinko 2.61±0.02, bakır 1.15±0.01 mg/100g kuru madde miktarı olduğu bulunmuştur.

Yağın fiziko-kimyasal özellikleri:

Sabunlaşma sayısı 174,57, iyot değeri 141,43 g/100 g yağ olarak - anisidin değeri 1.86; peroksit değeri 2.33 meqO₂/kg, asit değeri 0.66; karotenoid içeriği 0.59 mg/100 g yağ; klorofil içeriği 0.02 (mg/100 g yağ) ve kırılma indeksi 1.45.

Ham yağın yağlı asitler (%13.87) oleik, (%76.19) stearik, (%6.76) ve palmitik asit (%2.40). Çoklu doymamış triaçilgliseroller (TAG) LLL, PLL, POL + SLL, OLL, OOL (L: linoleik asit, O: Oleik, P: palmitik linoleik asit ve S: stearik asit) asitler büyük TAG'lar bulunmuştur.

Maclura pomifera tohumu yağı. 852,93 mg/100 g tohum yağı oluşturan steroller, Sterol işaretleyici - Sitosterol, toplam sterol içeriğinin %81' ini oluşturduğu tohum yağı ve kampesterol (%7,4), stigmasterol (%4,2) , Lupeol (% 4,1) ve izlemektedir. 5-avenesterol (%3,2) Tohum yağı, aşağıdaki bileşim ile tokoferol yönünden zengin (mg/100g): α-tokoferol 18,92, γ-tokoferol 10,80, β-tokoferol 6,02 ve δ-tokoferol 6,29 mg/100g olduğu kimyasal olarak belirlenmiştir.⁵

2.3 Sitokinler

Enflamatuar ve immun cevabın başlangıç ve efektör basamaklarında yer alan, cevabın şiddetini ve süresini düzenleyen düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir. Spesifik bir uyarana cevaben belli hücre tiplerinden salınarak hedef hücrenin fonksiyonu, farklılaşmasını, hareketi ve büyümesini etkileyebilmektedirler. Benzer ve zıt fonksiyonlara sahip olabildikleri gibi tek başlarına ya da birbirleriyle ilişkili olarak salınabilirler. Öncelikle birbirlerini etkileyerek, sonra hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak ve daha sonra da hücre fonksiyonu üzerine ‘sinerjistik’ veya ‘antagonistik’ etki göstererek bir ağ içerisinde etkileşirler. Pek çok fizyolojik cevapta önemli rol oynayan geniş bir hücre grubu tarafından üretilmelerine rağmen, kaynakları makrofajlar ve T hücreleridir.⁴³

Lökositler ve hücreler arasındaki kimyasal iletişimciler olarak çalışan diğer hücreler tarafından üretilen çözünür proteinlerdir.

Çoğu salgılanan sitokinler, büyümesini veya farklılaşmasını düzenleyen hedef hücrelerin yüzeyi üzerinde spesifik reseptörlere bağlanır.

IL, interferon (IFN) ve TNF içerirler. Bunlar, immün ve enflamatuvar tepkileri düzenlemek ve optimize etmek için lökositlerin farklı aktivitesini kontrol ederek, normal fizyolojik koşullar altında hareket etmektedirler. Bağışıklık sistemini ve hücrelerin fonksiyonunu düzenler⁴⁴ ve immün sistemin önemli araçlarıdır. Lokal olarak örneğin otoimmün saldırı altındaki nakledilen greft veya organlar gibi enflamasyon bölgelerinde, bağışıklık işlemlerini anlamada gereklidir.⁴⁵

Çoğalma ve farklılaşma gibi önemli hücre tepkilerini düzenleyen proteinlerdir. Sitokin sinyal iletiminde önemli olaylar iyi bir şekilde tanımlanmış olup, sitoplazmik tirozin kinazların janus kinaz (JAK) ailesinin üyeleri aktivasyonuna yol açan, reseptör toplanmasını teşvik etmektedir. Buna karşılık, transkripsiyon faktörleri ailesinin üyeleridir. Sinyal Dönüştürücüler ve Transkripsiyon Aktivatörleri (STAT) dimerize ve promoters 1, 2, 3, 4 ve STAT tanıma siteleri ile genlerin transkripsiyonunu arttırmak, fosforile edilmesini sağlamaktadır.⁴⁶

Enflamasyonun oluşmasında rol alan en önemli sitokinler; interlekin (IL-1, IL-8), tümör nekrozis faktör (TNF- α ve β), interferon gama (IFN- γ) ve kemokinlerdir. Sistemik akut faz reaksiyonlarını stimüle eden bu sitokinlerin endotel, lökositler ve fibroblastlar üzerine lokal etkileri de bulunmaktadır^{47, 48}

Lenfositler, monositler, iltihabi hücreler ve endotelial hücreler gibi immün sistem hücreleri arasındaki etkileşimleri düzenleyerek aktivitelerini yönlendiren polipeptid yapısında kısa etkili ve çözünür moleküllerdir. Lökositlere etki eden monokin

ve lenfokinlere IL adı verilmektedir. Bu mediyatörler kaynaklarına göre gruplandırılmaktadır;

- Lenfosit kaynaklı sitokinler (lenfokin); IL-2, IL-4, IL-5, IL-12, IL-15, TGF- β (transforming growth factor). IL-10 ve TGF- β immün cevabı azaltırken, IL-2, IL-4 lenfosit gelişimini indüklemektedir.

- Makrofaj/monosit kaynaklı sitokinler (monokin); IL-1 α ve β , TNF- α ⁴⁹

Sitokinlerin kaynağı ve görevleri Tablo 2.3 de gösterilmiştir.

Tablo 2.3 Sitokinler⁵⁰

SİTOKİNLER		
Kaynağı		Görevleri
IL-2	CD4(+)T	T hücre büyüme faktörüdür.(Otokrin etkisi vardır). T ve B lenfositler üzerinde etkisi vardır. B Hücre proliferasyonunu uyarır. NK hücrelerin major uyarandır. Asıl görevi hücre sel immunitenin uyarılması
IL-3	T Lenfosit	Kemik iliği üzerine etkilidir. CSF olarak farklılaşır. Kemik iliğinde miyeloid ve eritroid farklılaşma ve Üremeyi uyarır.
IL-4	CD4(+)TH2	Humoral immüniteyi uyarır.TH2'leri TH1leri inhibe eder.
IL-5	CD4(+)TH2	Eozonofil üretimi ve kemotaksisi. Ig E sentezini uyarır.
IL-6	CD4(+)TH2	TNF- α ve IL-1 Birlikte iltihabın sistemik etkisinden sorumludur. B lenfositleri, ıg sentezini ve akut faz protein sentezini uyarır.
IL-7	Stromal Hücre	B hücre farklılaşmasını, T hücre büyümesi uyarır. Kemik iliğinde lenfosit (B ve T) Üretimini uyarır.
IL-8	T ve Makrofaj	Nötrofil, bazofil ve T hücre kemotaksisi
IL-9	Lenfositler	Kemik iliğinde T hücre büyümesini uyarır.
IL-10	CD (+)TH2	İmmüsupresif etkilidir.(Özellikle T lenfositlere)
IL-11	Stromal Hücre	Kemik iliğinde trombosit üretimini uyarır.
IL-12	Makrofaj ve B hücre	TH1 ve NK hücrelerince IF γ üretimini uyarır.
IL-13	Lenfositler	Lenfositlerin büyümesini ve Ig E sentezini uyarır. Epitelyum hücrelerinden mukus üretimini uyarır.
IL-15	Makrofaj TGF β T ve B Makrofajlar	NK ve CD8 Prolirasyonunu uyarır. İmmüsupresif etkilidir.(Antisitokin) Kronik enflamasyonda fibroblastları uyarak fibrozis yapar. Rejenerasyonu durdurur.
IF α,β	Virüs ve enfekte hücreler	Üretildiği hücre üzerinde etkisi yoktur. Çevredeki hücreyi virüse karşı korumayı amaçlar. NK hücreleri aktive eder. Antiviral etki ve fagositik aktiviteyi uyarır.
IF γ	CD(4) TH1 NK	Makrofajları uyarır. Fagositik aktivasyonu klas II NK antijenlerinin ekspresyonunu uyarır. TH2 hücreler Bloke eder. NK hücreleri aktive eder. Makrofajların damar dışına çıkışını ve granülom, histiyositik hücre oluşumunu uyarır.

İnterlökin 1 Beta

IL-1 büyük bir dizi biyolojik faaliyetleri var olan ve doğrudan enflamasyon sırasında ifade edilen bazı genleri düzenleyen bir pro-enflamatuar sitokindir. Temel hücre makrofajların uyarılması ile çok çeşitli hücre tarafından salınan güçlü proenflamatuar sitokindir. Agonist aktiviteye sahip IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki çeşittir. Bir çeşitte antagonist olan üçüncü bir ligand vardır ve IL-1 reseptörünün antagonistidir^{51, 52}

IL-1 β esas olarak makrofajlardan salınmakla birlikte, fibroblastlar, T lenfositler ve hava yolu epitel hücrelerinden de salınır. Kemik iliğinden nötrofillerin salınımı ile lökositoya katkıda bulunur ve çeşitli hücrelerden IL-6, IL-8, GM-CSF ve TNF- α gibi sitokin ve büyüme faktörlerinin salınmasını uyarır.⁵³

IL-1 sentezi, bakteriyel endotoksinler, mitojenler, virüsler, farklı antijenler ile uyarılmaktadır. Düşük dozlarda uzun süreli alınan etanol, IL-1 sentezini uyararak spesifik immün sistemin reseptör hücresi CD4'lerin uyarılmasını sağlar.⁵⁴

Akut inflamasyonun her aşamasını uyarır ve TNF- α ile birlikte endotelde prokoagülandır. Adezyon moleküllerini artırır. Lenfositleri ve sitokinleri uyarır. TNF- α ve IL-6 ile birlikte enflamasyonun sistemik etkisinden sorumludur. Kronik enflamasyon fibroblastları uyararak, kollajen sentezini uyarır.⁵⁵

Tümör Nekrozis Faktör Alfa

Bir transmembran proteini ve çözünür sitokin olarak mevcut olabilir. Pleiotropik eylemleri olan bir sitokindir. TNF- α bağışıklık, enflamasyon, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve kontrol ve apoptoz pleiotropik fonksiyonları uygulayan güçlü bir sitokindir. Proteinlerin TNF- α ailesi hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanan salgılanmış sitokinler ve zar proteinlerini içerir.

Bu ailenin elemanları, TNF- α , α -lenfotoksin (LT- α ya da TNF- β), CD40 ligandı, fas ligand ve diğer bazı proteinleri içerir. Daha önce cachexin olarak bilinen TNF- α , ismi, invitro ve fare modellerinde geniş bir aralıkta tümör yok etme kapasitesine sahiptirler.

TNF- α 26 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahip bir monomerik tip 2 transmembran bir ön proteinin (tmTNF) olarak sentezlenir. tmTNF sitoplazmik kuyruk daha sonra bir 17 kDa çözünür ya da dolaşan sitokin sTNF halinde molekülü serbest, TNF- α dönüştürücü enzim (TACE, bir matriks metaloproteaz) ile bölünmektedir.

sTNF ve tmTNF bağışıklık hücreleri, özellikle aktive edilmiş makrofajlar değil, aynı zamanda T ve B lenfositleri ve doğal katil hücreler, dendritik hücreler ve monositler geniş bir yelpazede tarafından üretilmektedir. MSS içerisinde, mikrogliya, astrositler ve bazı nöron popülasyonları tarafından üretilir.

sTNF ve tmTNF yapısal olarak ilgili fakat fonksiyonel olarak farklı TNF reseptörleri (TNFR), TNFR1 hücre tiplerinin geniş bir yelpazede (p55, CD120a) ve TNFR2 (p75, CD120b), biyolojik fonksiyonları ile etkileşim aracılık etmektedirler.⁵⁶

Makrofajlardan TNF- α salınımını uyaran en önemli etken, Lipopolisakkarit (LPS) ve diğer mikrobik ürünlerdir. IFN γ , LPS ile uyarılmış makrofajlardan TNF- α salınımını artırır. TNF- α etkisini hücre zarındaki reseptörüne bağlanarak gösterir. TNF- α 'nın en önemli etkisi nötrofil ve monositleri enfeksiyon veya enflamasyon bölgesine çekip, aktive ederek etkenin ortadan kaldırılmasını sağlamaktır. Bu etkiyi sağlamak için TNF- α :

- ✓ Vasküler endotelde adhezyon moleküllerini salgılatır. (selektin, integrin),
- ✓ Vasküler endotel ve makrofajlardan kemokinlerin salınımını sağlar ve lökosit kemotaksisini artırır.
- ✓ Mononükleer fagositlerden IL-1 salınımını artırır,

- ✓ Nötrofil ve makrofajların mikrobisidal aktivitelerini artırır.
- ✓ Enfeksiyonun lokalize edilmesi için gerekli olan $\text{TNF-}\alpha$ 'nın, ağır enfeksiyonlarda aşırı miktarda üretimi ciddi sistemik anormalliklere yol açar.
- ✓ Hipotalamusta sıcaklık eşiğini yükseltir ve ateşe neden olur.
- ✓ Karaciğerden, serum amiloid A ve fibrinojen gibi akut faz proteinlerinin salınımını artırır.
- ✓ Uzamış $\text{TNF-}\alpha$ üretimi iştahı azaltır, kas ve yağların erimesine yol açar.
- ✓ Serum konsantrasyonu 10^{-7} M'nin üzerine çıktığında kalp ve damar düz kası kontraktilitesini baskılar. Bunun sonucunda şok tablosu gelişir.
- ✓ Endotelden doku faktörü salınımını artırıp ve trombomodülin salınımını azaltarak damar içi pıhtılaşmaya yol açar.⁵⁷

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Bitkileri

Maclura pomifera (yalancı portakal) Ankara Üniversitesi kampüs alanından, 5.10.2010 yılında Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU ve Dr. Murat KOÇ tarafından toplanıp, incelenip ve uluslararası teşhis yöntemleri kullanılarak türünün teşhisi belirlenmiştir. Örnekler M.Koç 1292 kodu verilerek Bozok Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunda (Yozgat) saklanmıştır.

3.2. Maclura Pomifera'nın Su Ekstresi Hazırlanması

Ankara yöresinden toplanan Maclura pomifera (yalancı portakal) meyveleri yıkandıktan sonra kabuğu soyuldu. Dilimlere ayrılarak 100 g'lık porsiyonlar halinde süzgeç kâğıdına sarıldı. 250 ml distile su ile oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde bir gün ekstrakte edildi. Liyofilizatörde suyu uzaklaştırılarak ham meyve suyu ekstresi (MPSE) elde edildi.

3.3. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 190-210 g ağırlıkda Sprague-Dawley 30 adet rat kullanıldı. Deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarından temin edildi. Tez kapsamındaki biyokimyasal analizler Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD Laboratuvarlarında yapıldı. Ratlar, deneye alınmadan önce gruplara ayrıldı ve standart bakım şartları altında muhafaza edildi.^{58, 59}

3.4. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler

İndometazin: (Endol[®] kapsül 25 mg) Deva ilaç (Turkey)

Karragenin: Sigma (USA)

TNF - α ve IL1 - β parametrelerine Boster (USA) marka ELISA Rat Serum / Plazma Kitleri

TNF- α : Product Code = EK0526

IL-1 β : Product Code = EK0393

Tablo 3.1 Tümör Nekrozis Faktör Alfa **Kit** içeriği

Katalog No	Tanım	Miktarı
-	96-lık anti-rat TNF- α antibody kaplı plate	1
ST0000-10	Rat TNF- α Standardı	10ng/tube $\times$ 2
AR1107	Biotinlenmiş anti-rat TNF- α antibody	130 μ l (dilution:100)
AR1103	Avidin-Biotin-Peroxidase Kompleks (ABC)	130 μ l(dilution 1:100)
AR1106-1	Örnek Seyreltme Tamponu	30 ml
AR1106-2	Antibody Seyreltme Tamponu	12ml
AR1106-3	ABC Seyreltme Tamponu	12ml
AR1104	TMB Reaktifi Solüsyonu	10ml
AR1105	TMB Durdurma Solüsyonu	10ml

Tablo 3.2 İnterlökin-1 beta Kit içeriği

Katalog No	Tanım	Miktarı
-	96-lık anti-rat IL-1 β antibody kaplı plate	1
ST0000-10	Rat IL-1 β Standardı	10ng/tube $\times$ 2
AR1107	Biotinlenmiş anti- rat IL-1 β antibody	130 μ l (dilution 1:100)
AR1103	Avidin-Biotin-Peroxidase Kompleks (ABC)	130 μ l (dilution 1:100)
AR1106-1	Örnek Seyreltme Tamponu	30 ml
IL-1 β	Antibody Seyreltme Tamponu	12ml
AR1106-3	ABC Seyreltme Tamponu	12ml
AR1104	TMB Reaktifi Solüsyonu	10ml
AR1105	TMB Durdurma Solüsyonu	10ml

3.5. Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar

- BIO-TEK EPOCH Elisa Reader (Eliza okuyucu) (USA)
- BIO-TEK ELX-50 Microplate Washer (Plate yıkayıcı) (USA)
- GEN 5 Microplate Reader Software (Okuma ve hesaplama için kullanılan bilgisayar programı) (BIO-TEK, USA)
- Hettich Rotina 38R Soğutmalı santrifüj (Germany)
- Sanyo MDF-235 -80°C Derin Dondurucu Dolap (Japan)
- Heidolph Isıtmalı Manyetik Karıştırıcı (Germany)
- Beko +4°C ve -20°C Buzdolapları (Turkey)
- Thermo OrionStar III pH metre (USA)
- IKA MS-3 Dijital shaker (Plate karıştırıcı) (USA)
- İnkübatör: Esco (USA)

3.6 Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

0.01 M PBS çözeltisi: 8.5 g sodyum klorür, 1.4 g Na₂HPO₄, 0.2 g NaH₂PO₄, pH

7.2-7.6 ayarlanarak hacim 1L ye tamamlanır.

3.7. Ratlarda Karragenin ile Enflamasyon Oluşturma

Çalışma, beşerli rat grupları olmak üzere altı grupta yapıldı. Birinci grup sağlıklı, ikinci grup kontrol olup hayvanlara çeşme suyu, üçüncü gruba 25 mg/kg indometazin (IND) ve dördüncü, beşinci ve altıncı gruplara ise sırası ile 0,5, 1 ve 1,5 g/kg dozlarda maclura pomifera su ekstresi (MPSE) sonda ile oral olarak verildi.

Anti-enflamatuvar etkileri karragenin ile oluşturulan enflamasyonlu pençe ödemi modeli ile belirlendi. Ekstrenin anti-enflamatuvar etkisi 25 mg/kg'lık dozlarda uygulanan indometazinin anti-enflammatuar etkisi ile karşılaştırıldı.

Karragenin enjekte edilmeden önce hayvanların ayak hacimleri diz eklemine kadar pletismometre ile ölçüldü. İlaçlar verildikten bir saat sonra sağlıklı grup hariç

diğer tüm gruplardaki ratların ayak pençesine 0,1 ml % 1'lik karragenin enjekte edildi. Karrageninin oluşturduğu enflamasyonlu pençe hacim artışı (pençe ödemi), her saat başı ölçüldü. Ekstraktların anti-enflamatuvar etkileri kontrol grubundan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak tespit edildi. Ratlardan eter anestezisi altında kalplerinden kan örnekleri alındı ve santrifüj edilerek serumları ayrıldı. -20° C de derin dondurucuda saklandı. Saklanan serumlardan TNF- α ve IL-1 β düzeyi ölçüldü.

3.8 Tümör Nekrozis Faktör Alfa Ölçülmesi

Prensip

Boster rat TNF- α ELISA Kit standart sandviç enzim-bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Rat TNF- α için özel bir monoklonal antikor kaplanmış 96 kuyulu plate kullanılır. Standartlar ve test numuneleri kuyulara ilave edilir. Avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi yüklenir ve bağlanmamış konjugatları PBS (fosfat buffer solüsyon) veya TBS (Trizma baz tamponu) ile uzaklaştırılır. ABC kompleksinin (Avidin-Biotin peroksidaz) substratı TMB, enzimatik reaksiyonu görünür hale getirmek için kullanılır. TMB reaktifi, ABC kompleksi tarafından katalize edilen reaksiyon sonucunda mavi renk verir ve inkübasyondan sonra eklenen durdurma solüsyonu tarafından renk sarıya dönüşür. Sarı rengin yoğunluğu, bağlanan numunenin rat TNF- α miktarı ile orantılıdır.

Tümör Nekrozis Faktör Alfa Çalışma Prosedürü

Avidin-Biotin-Peroxidaz (ABC) solüsyonu ve TMB reaktifi kullanımdan önce, 30 dakika 37 °C 'de inkübe edildi. Örnekler ve reaktifler seyreltilmesi tam zamanında ve eşit bir şekilde karıştırıldı. TNF- α standart dilüsyonu kit prosedürüne uygun olarak deney için hazırlandı.

1. 1000 pg/ml kuyu başına 0.1 ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml ve 15.6 pg/ml rat TNF- α standart dilüsyonları önceden kaplanmış 96

kuyulu bir plate içine konuldu. K r için örnek seyreltme tamponundan ve örnekler her bir kuyuya 0.1 ml eklendi.

2. Koruyucu kaplama ile plate kaplandı ve 90 dakika 37   C' de inkübe edildi.

3. Koruyucu kaplama kaldırılarak içindeki tüm materyal uzaklaştırıldı ve tamamen kurumamasına  zen gösterildi.

4. Her bir kuyuya seyreltilmiş biyotinlenmiş anti-rat TNF-  antikoru çözeltisinden 0.1 ml eklendi ve 60 dakika 37   C'de inkübe edildi.

5. Plate 3 kez 1 dakika boyunca PBS ile yıkandı ve içinde yıkama tamponu kalmasına izin verildi. Daha sonra yıkama tampon atıldı ve kâğıt havlu veya diğer emici malzeme üzerinde plate kurulandı.

6. Her kuyuya hazırlanmış ABC kompleks çözeltisinden 0.1 ml eklendi ve 30 dakika 37  C' de inkübe edildi.

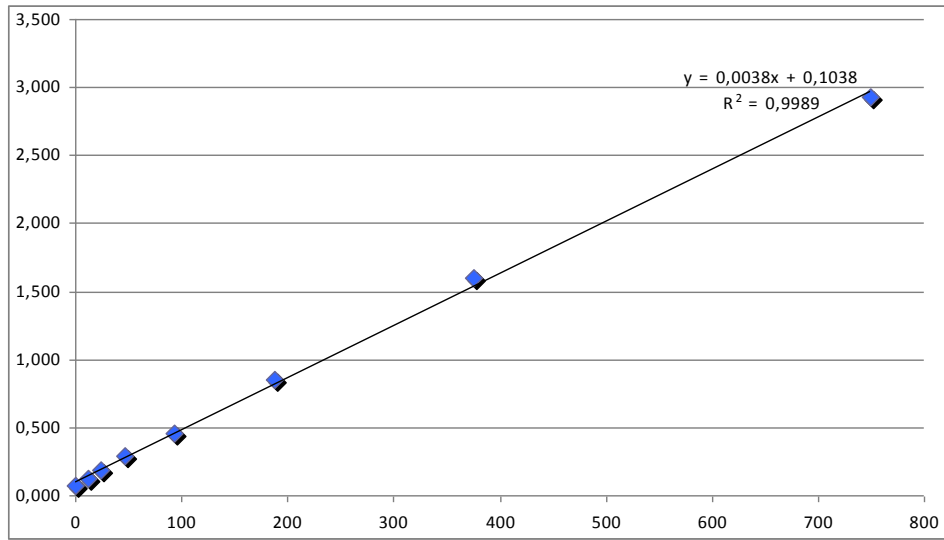
7. Plate 3 kez 1 dakika boyunca PBS ile yıkandı ve içinde yıkama tamponu kalmasına izin verildi. Daha sonra yıkama tampon atıldı ve kâğıt havlu veya diğer emici malzeme üzerinde plate kurulandı.

8. Her kuyunun içine hazırlanmış TMB reaktifinden 90  l eklendi ve 15-20 dk mavi tonda belirgin bir renk oluştu.

9. Her kuyunun içine hazırlanmış TMB stop çözeltisinden 0.1 ml eklendi ve renk hemen sarıya dönüştü.

10. Stop   zeltisi ilave edildikten sonra 30 dakika içinde bir mikro-plate okuyucuda 450 nm absorbandsda (OD) okundu.

11. Hesaplama standartların verdiği absorbands değerleri ile konsantrasyonları kullanarak standart eğri (şekil 3.1)  izildi. Standart eğri kullanarak numunelerin konsantrasyonları bulundu.



Şekil 3.1. Tümör Nekrozis Faktör Alfa standart eğrisi

3.9 İnterlökin-1 beta Ölçülmesi

Prensip

Boster rat IL - 1 β ELISA Kit standart sandviç enzim-bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Rat IL - 1 β için özel bir monoklonal antikor kaplanmış 96 kuyulu plate kullanılır. Standartlar ve test numuneleri kuyulara ilave edilir. Avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi yüklenir ve bağlanmamış konjugatları PBS (fosfat buffer solüsyon) veya TBS (Trizma baz tamponu) ile uzaklaştırılır. ABC kompleksinin (Avidin-Biotin peroksidaz) substratı TMB, enzimatik reaksiyonu görünür hale getirmek için kullanılır. TMB, ABC kompleksi tarafından katalize edilen reaksiyon sonucunda mavi renk verir ve inkübasyondan sonra eklenen durdurma solüsyonu tarafından renk sarıya dönüşür. Sarı rengin yoğunluğu, bağlanan numunenin rat IL - 1 β miktarı ile orantılıdır.

İnterlökin-1 beta Çalışma Prosedürü

Avidin-Biotin-Peroxidaz (ABC) solüsyonu ve TMB reaktifi kullanımdan önce, 30 dakika 37 °C 'de inkübe edildi. Örnekler ve reaktifler seyreltilmesi tam zamanında ve

eşit bir şekilde karıştırıldı. IL-1 β standart dilüsyonu kit prosedürüne uygun olarak deney için hazırlandı.

1. 1000 pg/ml kuyu başına 0.1 ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml ve 15.6 pg/ml rat IL-1 β standart dilüsyonları önceden kaplanmış 96 kuyulu bir plate içine konuldu. Kör için örnek seyreltme tamponundan ve örnekler her bir kuyuya 0.1 ml eklendi.

2. Koruyucu kaplama ile plate kaplandı ve 90 dakika 37 °C' de inkübe edildi.

3. Koruyucu kaplama kaldırılarak içindeki tüm materyal uzaklaştırıldı ve tamamen kurumamasına özen gösterildi.

4. Her bir kuyuya seyreltilmiş biyotinlenmiş anti-rat IL-1 β antikor çözeltisinden 0.1 ml eklendi ve 60 dakika 37 °C' de inkübe edildi.

5. Plate 3 kez 1 dakika boyunca PBS ile yıkandı ve içinde yıkama tamponu kalmasına izin verildi. Daha sonra yıkama tampon atıldı ve kâğıt havlu veya diğer emici malzeme üzerinde plate kurulandı.

6. Her kuyuya hazırlanmış ABC kompleks çözeltisinden 0.1 ml eklendi ve 30 dakika 37 °C' de inkübe edildi.

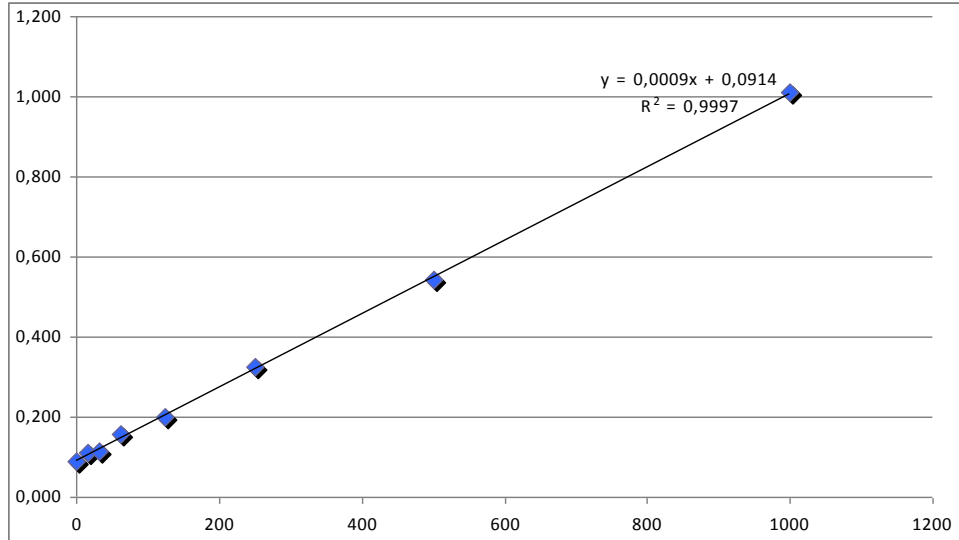
7. Plate 3 kez 1 dakika boyunca PBS ile yıkandı ve içinde yıkama tamponu kalmasına izin verildi. Daha sonra yıkama tampon atıldı ve kâğıt havlu veya diğer emici malzeme üzerinde plate kurulandı.

8. Her kuyunun içine hazırlanmış TMB reaktifinden 90 μ l eklendi ve 15-20 dk mavi tonda belirgin bir renk oluştu.

9. Her kuyunun içine hazırlanmış TMB stop çözeltisinden 0.1 ml eklendi ve renk hemen sarıya dönüştü.

10. Stop çözeltisi ilave edildikten sonra 30 dakika içinde bir mikro-plate okuyucuda 450 nm absorbandsda (OD) okundu.

11. Hesaplama standartların verdiği absorbands değerleri ile konsantrasyonları kullanılarak standart eğri (Şekil 3.2) çizildi. Standart eğri kullanılarak numunelerin konsantrasyonları bulundu.



Şekil 3.2. İnterlöklin-1 beta Standart eğrisi.

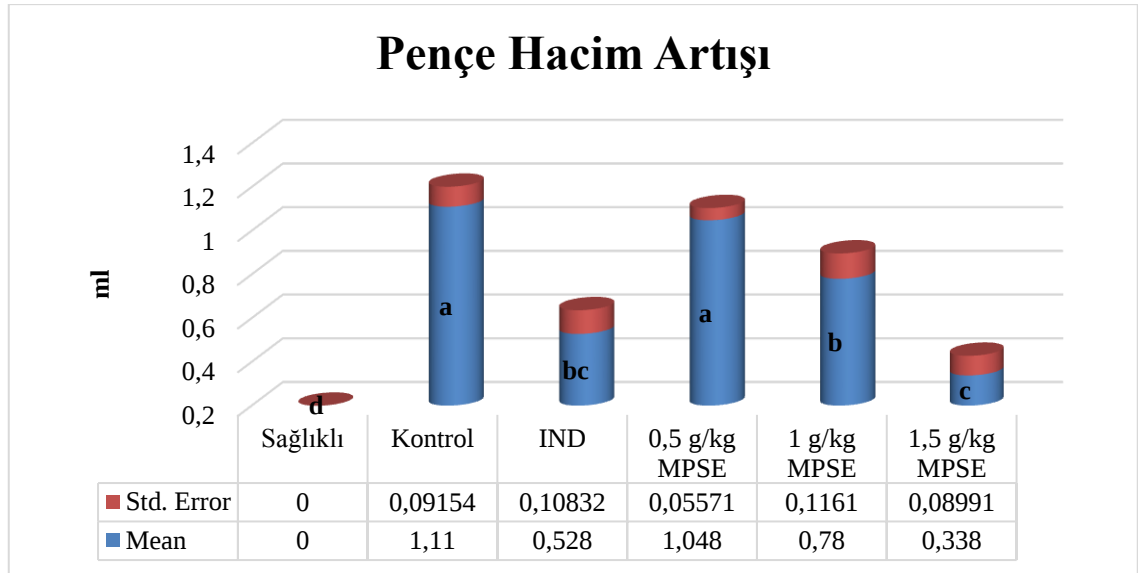
3.10 İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler IBM SPSS 20.0 software programı kullanılarak yapıldı.⁶⁰ Gruplar arasındaki farklılıklar ve önem seviyeleri one-way variance analiz (ANOVA) testi ile belirlendi ve $p < 0.05$ seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı.

4. BULGULAR

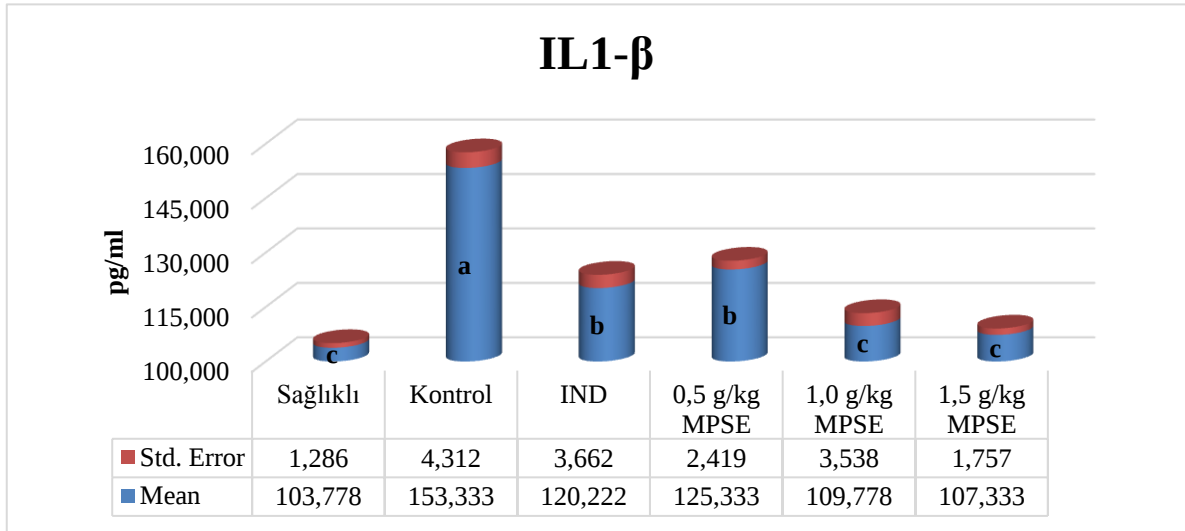
MPSE`nin (0.5, 1, 1.5 g/kg) dozlarının ve indometazinin 25 mg/kg dozunun karrageninle oluşturulan enflamasyon modeli üzerine antienflamatuvar etkileri araştırıldı. Çalışmamızdaki, $p < 0.05$ seviyesindeki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup, aynı harflere sahip olan değerler Duncan testine göre istatistiksel açıdan farksız kabul edilmiştir ($p > 0.05$).

Şekil 4.1 incelendiğinde, kontrol grubunda pençe ödeminde 1.11 ml artış ölçülmüşken, MPSE`nin 0.5, 1, 1.5 g dozlarında sırasıyla  $1.048 \pm 0.056$ ,  $0.780 \pm 0.116$ ,  $0.338 \pm 0.090$  ml ve referans ilaç IND ise  $0.528 \pm 0.108$  ml artış olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara bakıldığında, 0.5 g MPSE grubunun kontrol grubu ile arasındaki fark anlamlı bulunmamış iken, MPSE`nin 1 ve 1.5 g dozlarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hacim artışı üzerine önemli derecede etkisi olduğu bulunmuştur. 1.5 g/kg`lık dozunun referans ilaç olan IND`den bile daha az artış olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1 Maclura Pomifera`nın (0.5, 1, 1.5 g/kg) Dozlarının, IND (İndometazin), Kontrol ve Sağlıklı grupların Pençe Hacimleri Artışı gösteren grafik.

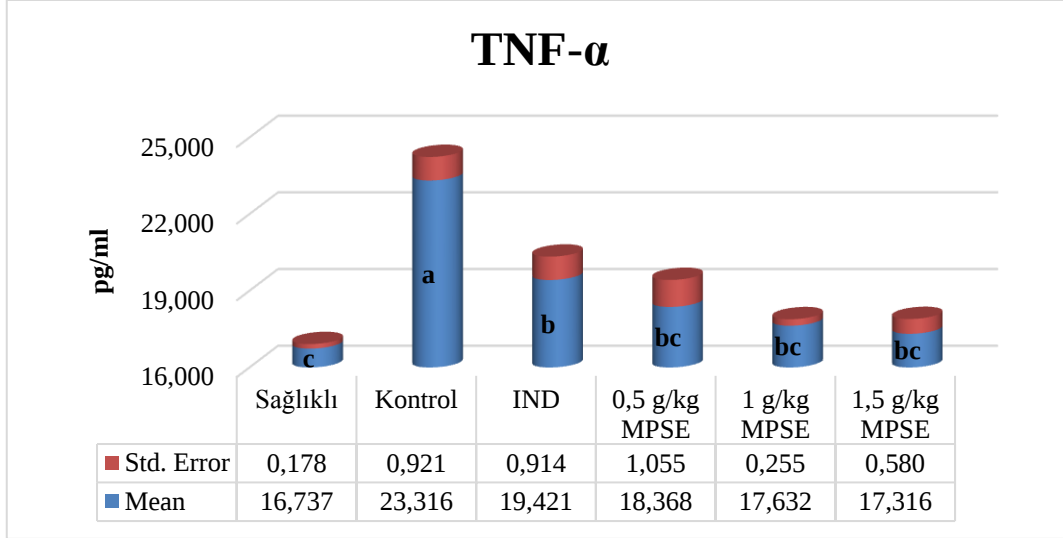
IL1- β seviyelerine bakıldığında kontrol (153.333 $\pm$ 4.312 pg/ml) grubunda diğer gruplarla kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ($p<0.05$). MPSE'nin 0,5 g/kg dozunun (125,333 $\pm$ 2.419 pg/ml) verildiği grubun, IND (120,222 $\pm$ 3,662 pg/ml) grubu ile kıyaslandığında aralarında anlamlı fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Ayrıca, 1 g/kg (109.778 $\pm$ 3.538 pg/ml) ve 1.5 g/kg (107.333 $\pm$ 1.757 pg/ml) MPSE'nin verildiği grupların sağlıklı (103.778 $\pm$ 1.286 pg/ml) grupla kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p<0.05$). Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde MPSE'nin ve IND'nin IL1- β seviyeleri üzerine önemli etkileri olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.2 Maclura Pomifera'nın (0.5, 1, 1.5 g/kg) Dozlarının, IND (İndometazin), Kontrol ve Sağlıklı gruplarının İnterlökin-1 beta Düzeylerinin gösteren grafik.

TNF- α seviyelerini gösteren grafik incelendiğinde (Şekil 4.3), kontrol (23.316 $\pm$ 0.921pg/ml) grubunun TNF- α miktarı diğer tüm gruplarla kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek ölçüldü ($p<0.05$). Referans ilaç IND'nin (19.421 $\pm$ 0.914pg/ml) TNF- α miktarı sağlıklı (16.737 $\pm$ 0.178 pg/ml) ve MPSE dozlarıyla kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulunmuşken ($p<0.05$), 0.5 g/kg (18.368 $\pm$ 1.055pg/ml) ve 1 g/kg (17.632 $\pm$ 0.255pg/ml) MPSE grupları aralarındaki fark ile sağlıklı ve 1.5 g/kg

(17.316±0.580 pg/ml) MPSE grupları arasındaki farklar anlamlı bulunmamıştır (p>0.05).



Şekil 4.3 Maclura Pomifera'nın (0.5, 1, 1.5 g/kg) Dozlarının, IND (İndometazin), Kontrol ve Sağlıklı gruplarının Tümör Nekrozis Faktör Alfa Düzeylerini gösteren grafik.

5. TARTIŞMA

Travma, enfeksiyon, iskemi sonrası, toksik ya da otoimmün yaralanmaya yanıt olarak dokuda ortaya çıkabilen çözünür faktörler ile hücreler arasındaki etkileşimler enflamasyon olarak tarif edilebilir. Yıkım hedefli ve onarım destekli düzgün aşamalı olmazsa, lökositler, lenfositler ya da kollajen dokuda kalıcı hasarlara neden olabilir.⁶¹

Burada amaç, hasarlayıcı etkeni, ortaya çıkan ürünleri ortadan kaldırmak, zararı olduğu sınırlarda tutarak, hasarlanmış dokuyu tamir ve yenilenmesini mümkün kılmaktır.^{18, 23, 62}

Ancak enflamasyon ve onarım ölümcül olabilen hipersensitivite reaksiyonları eklem hareketini kısıtlayıp, intestinal obstrüksiyona yol açan fibroz bant oluşumu gibi tahrip edici etkiler oluşturur. Yıllar boyunca araştırmalarda anti-enflamatuar etkinlik olarak, iyileştirmeyi artırıp, tahrip edici etkileri kontrol altında tutmak hedeflenmektedir. Böylece droga(İlacın ham hali) ait istenmeyen etkilerin en az olduğu tedavi şeklinin bulunmasına çalışılmaktadır. NSAİİ' lar, yaygın olarak enflamatuar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır, ancak bu ilaçların sebep olduğu gastrointestinal erozyon ve böbrek hasarı gibi önemli yan etkiler, kullanımlarını sınırlamaktadır. Yüksek doz uygulandığında ise daha başka istenmeyen etkileri doğurmaktadır.^{21, 63}

Bu istenmeyen etkileri en aza indirebilmek için çevremizde yaygın olarak görülen bazı bitkilerin antienflamatuar ve antiülser etkilerinin araştırılması gelecekte bu alanda çok önemli bir çıkış açacağı düşünülmektedir. Bazı bitki türlerinin organik yapıda ve genel toksikolojik özelliklerinin nispeten zararsız veya az görülmesi insanlar için büyük bir avantajdır.

Bu bitkilerin etki mekanizması tam olarak açıklanmamış olması enflamasyon gibi hastalıklara etkinliğinden dolayı rutinde kullandığımız birçok ilacın yerine

geçebilecek o ilaçlar ile beraber kullanıldığında o ilaçların etkinliğini artırabilecek potansiyel etkiye sahiptirler. Yaygınlaşan bitkisel ilaç ve tedavi yöntemleri, bu bitkilerin belki de her gün besinlere katılarak yenmesi rutin hale getirebilecektir.

Maclura pomifera (yalancı portakal) süs bitkisi olarak yetiştirilen bu bitkilerden birisidir. Dünyanın bazı bölgelerinde halk ilacı olarak kullanıldığı ve kimyasal bileşenleri literatüre geçmiştir.⁶⁴

Yapılan bu bilimsel denemelerin bitkinin ekstraktları ile yapıldığını, çünkü bitki sudan ziyade farklı çözücüler de etken maddesini daha kolay verebildiği, bu yolla bitki posası yerine bitkinin ihtiyaç olan tarafını daha yüksek oranda verdiğini bildirilmişlerdir.⁶⁵

Birçok inflamatuvar ajan enflamasyon oluşturmak için kullanılmış olup, birçoğu (yumurta albumini gibi) terkedilirken bazıları da halen daha kullanılmaya devam edilmektedir. Lambda-karragenin bunlardan birisidir. Ayrıca bu amaçla bradikinin, serotonin, histamin, dekstran, formaldehit, araşidonik asit, ksilen, asetik asit, Freund adjuvanı (öldürülmüş Mycobacterium butyricum süspansiyonu), kroton yağı, prostaglandin E₁, Brewer's yeast (maya) solüsyonu, yumurta albumini, cotton-pellet, 12-0-tetradecanoylphorbol acetate, phorbol myristate acetate ve siklofosfamid kullanılmaktadır.

Lambda-karragenin (chondrus'dan elde edilen bir ekstredir) yukarıda sayılan inflamatuvar ajanlardan en çok kullanılanı olup bunun da genellikle % 1'lik solüsyonu (serum fizyolojik veya distile su içerisinde hazırlanmakta) 0.05 ml hacimde sıçanların sağ arka pençesine subplantar yoldan uygulanmakta, vücut ağırlığı ayrımı yapılmadan her bir sıçana aynı miktarda verilir.

Zamanımıza kadar antienflamatuvar aktivitenin varlığını ve gücünü ölçmek amacıyla birçok test geliştirilmiştir. Testler, temelde deney hayvanının arka pençesine,

kulak kepçesine, sırt altı derisine, plevra, periton veya mesane içerisine enflamasyon oluşturunca bir ajan vererek o bölgede oluşturarak ve oluşan bu enflamasyonun antienflamatuar etkinliği olduğu varsayılan madde tarafından geriletilip geriletilemediğine, geriletilebiliyor ise bunun bilinen bir antienflamatuar ajanla kıyaslanması suretiyle gücüne (potensine) bakılması esasına dayanmaktadır.

Ratlar 1900'li yıllarda infeksiyon hastalıklarının araştırılmasına hayvan modeli olarak kullanılmaya başlanmış ve bir çok mikroorganizmaya duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Deneysel hayvan modeli olarak, mikrobiyoloji laboratuvarında yer almaktadır. Farelerden daha büyük olmaları, daha fazla miktarda deneysel örnek alınmasına olanak sağlarken, dezavantaj olarak gruplarının az sayıda bireyden oluşması karşımıza çıkmakta dolayısıyla sonuçlarda istatistiksel olarak belirgin farklılıklara neden olmaktadır. Bir başka yönüyle akciğer histolojisinin bakteri sayılarının incelenmesinde kolaylık sağlaması, yaşam sürelerinin uzun olması nedenleriyle tercih nedenidir.⁶⁶

Swiss albino cinsi fareler ile Wistar veya Sprague-dawley cinsi sıçanlar ile antienflamatuar aktivite testleri için, kolayca temin edilebilmeleri sebebiyle, en çok kullanılan deney hayvanlarıdır.⁶⁷

Etkenin deneysel hayvan modelinde oluşturduğu infeksiyon özellikleri, klinik belirtileri ve ortaya çıkan immunolojik reaksiyonlar hayvan modellerinde yapılacak deneysel çalışmalarda ve yöntemin planlanmasında insana en yakın özellikte olduğu bilinmektedir. En önemli deza-vantaj hayvan modellerindeki deneysel çalışmaların insan patojenlerinin inokulasyonunu devamında etkenin deney hayvanına uyumu veya immunsupre-sif etki oluşturmalarıdır. Sonuç itibarıyla patojenin yayılması veya replikasyonundan ziyade konağın immun cevapları analiz edilebilmekte olduğu bildirilmiştir.⁶⁶

Antienflamatuar testlerinde fare ve sıçanlar kullanılmaktadır. Karagenan, bir deniz bitkisinden elde edilen bir poliholozit olup, su alıp şişebilme özelliği vardır. Antienflamatuar aktivite, sıçanların pençe içine karragenin enjekte edilerek, aseptik enflamatuar bir yanıt oluşturulmakta ve oluşan hacimsel büyümenin antienflamatuar ilaçla azalma miktarı olarak kabul edilmektedir.⁶⁸

İlaçların antienflamatuar etkilerini incelemek için geliştirilmiş, erken faz (1. saate kadar) ve geç faz (1. saatten sonraki zaman) olarak iki fazdan oluşan karragenin enflamasyon modeli akut bir modeldir. Erken fazın histamin, serotonin ve bradikinin salınımına, geç fazın ise PG oluşumuna bağlı olarak geliştiği belirtilmektedir Ayrıca geç fazında nötrofil infiltrasyonunun yanı sıra serbes toksijen radikalleride rol oynar. Doymamış bir yağ asidi olan ve hücre membranı fosfolipidlerinde bulunan araşidonik asit, fosfolipaz enziminin aktivasyonu ile açığa çıkmakta, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri ile metabolize edilebilir. Siklooksijenaz ürünleri olan PG'ler enflamasyon patogeneğinde önemli role sahip olup, lipooksijenaz ürünleri ise hidroksieikozatetraenoik, epoksieikozatrienoik asit ve 19,20-hidroksiaraşidonatlarıdır. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri karragenin ödeminin oluşmasında rol oynamaktadır.^{64, 69-73}

Plestimometre ve deney tüpü metodu pençe volümü ölçmek için kullanılmaktadır.

Pletismometre (pletismograf) aracılığıyla ölçüm: Pletismometreler, günümüzde özellikle pençe volümünü ölçmek amacıyla kullanılan en modern cihazların, Ugo Basile markalı olanları oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bu cihazlarla yapılan ölçümlerde % 4'lük hata olasılığı ihmal edilebilir olarak kabul edilmektedir. Deney hayvanının sağ arka pençesi antiinflatuvar etkinlik için, sol arka pençesi ise kontrol amacıyla kullanılmakta olduğu bildirilmiştir.

Deney tüpü ile pençe volümü ölçümü: Pletismometre cihazının pahalı olması nedeniyle özellikle ekonomik imkân kısıtı olan yerlerde kullanılmaktadır.

Ajanın antienflamatuvar bir etkinliği tespit edildiğinde, bu etkinliğin antienflamatuvar etkilliği iyi bilinen bir antienflamatuvar ajanla karşılaştırılması gereklidir. Antienflamatuvar etkinliği iyi bilinen ajanlara “standart antienflamatuvar ajanlar” denilir. İndometazin, pençe ödemi yöntemi için 2.5, 3, 5, 7.5 ve 10 mg/kg, intra peritoneal yolla, kulak kepçesi ödemi için 1 mg/kg kulak kepçesi içerisine fenilbutazon (100 mg/kg, per oral) , ibuprofen 100 mg/kg, per oral ve sodyum salisilat 100-300 mg/kg intra peritoneal şekilde uygulanan antienflamatuvar ajanlardan bazılarıdır.⁶⁷

Çalışmada indometazini 25 mg/kg dozda kullanmamızın sebebi olarak karragenin enflamasyonunu daha düşük dozlara göre güçlü baskılamasıdır. Diğer NSAİ ilaçlar gibi histamin, bradikinin, serotonin ve PG sentezini inhibe ederek antienflamatuvar etki oluşturduğu bildirilmektedir^{74, 75}

Literatürde Maclura pomiferanın AI etkisi üzerine fazla araştırma yoktur. Yalnız Kupeli ve arkadaşları Maclura Pomifera isole edilen isoflavin, scandenone ve auriculasinin karagenin ödemi referans ilaca (IND’ ye göre) benzer ölçüde inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Bunun yanında en güçlü aktiviteyi scandenone’nin gösterdiğini bildirmişlerdir.⁷⁶ Ayrıca, bu bitkinin içerdiği izoflavonoidlerin antioksidan özelliğine sahip olduğu ve bu etki sayesinde antienflamatuvar etkiye de sahip olabileceği düşünülmektedir.⁷⁷

Maclura pomifera ve içerdiği bileşenlerin antibakteriyal, antiviral, antifungal, sitotoksik⁹, antitumoral, antimalaryal⁷⁸ ve östrojenik⁷⁹ etkilerinin olduğu bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Antifungal olarak myrothecium, pullularia, microsporum, trichophyton türlerine tamamen etki ederken, fusarium türlerine kısmen etki ettiği belirtilmektedir.⁸⁰

Bunyapraphatsara et al. tarafından maclura cochinchinensis türünden elde edilen metabolitlerin herpes simplex virüsüne karşı etkili olduğu rapor edilmiştir.⁸¹ Dharmaratne et al. yakın zamanda bu bitkinin içerdiği bazı bileşiklerin antimikrobiyal ve antileismanyal etkili olduğunu bildirmişlerdir.⁸² Tüm bunlara ilave olarak Voynova et al. tarafından deneysel tümör oluşturulan farelerde maclura aurantiaca bitki ekstraktının antitümöral etkisi gösterilmiştir.⁸³

Çalışmamızda karrageninle oluşturulan enflamasyon modeli üzerinde Maclura Pomifera bitkisinin farklı dozları, sağlıklı, sadece karragenin verilmiş ve indometazin uygulanmış rat gruplarının birbirleri arasındaki farkları tespit edildi. Ayrıca TNF- α ve IL - 1 β seviyelerini belirlendi.

Bizim çalışmamızda, kontrol grubuna göre MPSE'lerin 0.5 g/kg lık doz % 5.58, 1 g/kg lık doz % 29.7, 1.5 g/kg lık doz ise % 69.5, IND ise %52.4 oranında pençe ödemi inihbe ettiği görüldü. Bu sonuçlara göre 1.5 g/kg dozlu MPSE en fazla inhibisyon göstererek IND' den daha fazla pençe ödemi azalttığı görüldü.

Sitokinler birçok hayvan modelinde, bakteriyel, viral, fungal, paraziter enfeksiyonlarda, mikrobiyal saldırılara karşı, vücudun immün cevabının ilk göstergesi olarak bilinmekte, enflamasyonda sitokin olarak ilk önce TNF- α ve IL - 1 β uyarılmaktadır.⁸⁴

Yapılan çalışmalar çok sayıda hastalığın patogenezi veya tedavisinde sitokinlerin rolü bulunduğunu ortaya koymakta yaşam için vazgeçilmez ve organizmanın immün sistemini düzenleyen sitokinlerin vücuttaki düzeyleri, yaşlanmaya bağlı olarak azalmakta ve neticede basit bir enfeksiyondan kansere kadar geniş bir yelpazede birçok hastalığa duyarlı hale gelmektedir. Kontrol dışı veya aşırı üretimi ile de çok sayıda klinik rahatsızlığa neden olduğu konusunda deliller giderek artmaktadır. IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8 gibi bazı sitokinler immün reaksiyonların yanı sıra enflamasyonun

başlamasında da önemli rol üstlenmektedir. Bu sitokinlerin inhibisyonunu sağlayan ajanlar romatoid artrit gibi iltihaplı hastalıkların kontrol ve tedavisinde yararlı olabilecektir.⁸⁵

Sitokinler enflamasyondaki en önemli etkilerini endotel, lökosit, fibroblast ve akut faz reaktanları üzerine göstermektedirler. Endotel aktivasyonu ve adezyon kuvvet moleküllerinin sentezini arttırmalarının yanında, birçok kimyasal medyatörün, büyüme faktörlerinin, eikanazonoidlerin ve nitrik oksitin salımını arttırırlar. Trombojenisiteye neden olmaktadırlar. TNF- α aynı zamanda nötrofillerin etkilerini arttırıp ve proteolitik enzim deşarjı ile hücre hasarına neden olabilir.¹⁶

Karaciğer sitokinler için en önemli sentez ve temizlenme organı olup, enflamatuvar yanıt oluşturmaya koruyucu ve iyileştirici etkiye sebep olabildikleri gibi hasara da sebep olabilirler.⁸⁶

Çok fonksiyonlu ve pro-enflamatuvar sitokin olan TNF- α monosit serisi hücreleri ve muhtemelen doğal öldürücü hücreler tarafından üretilen, bazı tümör hücre dizileri üzerinde bir sitotoksik ya da sitostatik aktivitesini gerçekleştirir. Başka bir taraftan, T ya da B hücresi tepkilerini düzenleyen ve farklı immun hücre dizelerinden çeşitli sitokinler uyarıcı ve sınıf I ve sınıf II MHC molekülleri ile uyarılması ağır ateşli yanıtlara aracılık eder. Böylece, TNF- α , güçlü bir bağışıklık düzenleyici bir moleküldür^{87, 88}

Önemli bir medyatör olarak TNF- α , multipl organ disfonksiyonu ve sistemik inflamatuvar reaksiyon sendromunda bilinmektedir. Serumda yüksek seviyelerde bulunması muhtemelen enfeksiyon işaret etmektedir.⁸⁹

TNF- α enflamasyon bölgesinde bulunduğu gibi, genel dolaşımda da bulunmaktadır. Sistemik enflamasyonun modülasyonundan sorumludur.⁹⁰ Salınımı endotoksin, enflamatuvar medyatör veya sitokinler tarafından uyarılan bir polipeptiddir. IL-6 ile sinerjik etki gösterir.⁹¹ Önemli bir medyatör olarak nötrofil aktivasyonu

yapmaktadır. Kronik infeksiyöz veya malign hastalıklarla ilişkili kaşekside, septik şokta ve graft versus host hastalığında major role sahiptir.⁹²

Kandaki monositler tarafından üretilen IL-1 β 'nın ana fonksiyonlarından biri pirojenik bir sitokin olarak görev yaptığıdır. İmmunolojik durumlarda, yaralanmalarda ve enfeksiyonlara yanıt olarak üretilmektedir. Sentezi ve salınımı çoğu sitokinden farklı olarak sıkıca kontrol edilmektedir. İmmun sistem, IL-1 β 'nın aşırı üretimi durumunda IL-1 β gen transkripsiyonunun baskılanması veya IL-1 β 'nın prekursoru olan pro-IL-1 β 'nın olgun ürüne dönüşümünün engellenmesi gibi çeşitli mekanizmalara sahiptir.⁹³

IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinler, proinflamatuvar ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasına ve patojenlerin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtın ortaya çıkmasına yol açmaktadır.⁹⁴

TNF- α ve IL-1 β 'nin enflamasyonun erken döneminde ortaya çıktığı benzer ortak sinyal molekülleri üzerinden etki gösterdiği bilinmektedir. TNF- α nötrofil aktivasyonuna ve endotelial lökosit adhezyon moleküllerinin salınmasına neden olarak nötrofil aracılı endotel hasarına katkıda bulunmaktadır. Aktive olan nötrofillerden salınan elastaz ve serbest oksijen radikalleri yoluyla endotel hasarı oluşmaktadır.⁹⁵ TNF- α , IL 1 β , IL 6 gibi proinflamatuvar sitokinler travmayı takiben birkaç saat içinde eksprese olmaktadır. İkincil hasar başlamadan önleyici tedavilerin başlatılması, mortalite ve morbiditenin azaltılması açısından çok önemlidir.^{96, 97}

Çalışmamızda MPSE'nin, TNF- α düzeyini kontrol gurubuna göre

0.5 g/kg'lık doz için	%75.2
1 g/kg'lık doz için	%86.3
1.5 g/kg'lık doz için	%91.2
IND için	% 59.3

baskıladığı bulundu. Kontrol grubuna göre MPSE' nin dozları(0.5, 1, 1.5 g/kg) istatiksel olarak anlamlı fark bulundu.($p<0.05$)

MPSE `nin IL-1 β düzeylerini ise kontrol grubuna göre

0.5 g/kg'lık doz için % 56.5

1 g/kg'lık doz için % 87.9

1.5 g/kg'lık doz için % 92.8

IND için % 66.8

baskıladığı bulundu. İstatiksel olarak MPSE'nin dozlarının kontrol grubuna göre anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada,

1. Maclura pomifera bitkisinin karrageninle ile oluşturulan enflamasyonu önemli oranda önlediği, bununla paralel olarak sitokin düzeylerini (TNF- α ve IL-1 β) düşürdüğü görüldü.

2. Gelecekte MPSE ve bu ekstreden elde edilecek maddeler ile yapılacak çalışmaların enflamasyonda dolayısıyla çoğu hastalığın önlenmesinde önemli faydalarının olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Anonim. Enflamasyon. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Enflamasyon>. 12 Şubat 2014.
2. Soyuer I. Akut ve Kronik İnflamasyon. İçinde: Özdamar Ş (Çeviri editörü). *Hastalığın Robbins ve Cotran Patolojik Temeli Cep Kitabı*, 7. Baskı Baskı. İstanbul, Güneş Kitap Evi, 2008.
3. Suleyman H, Odabasoglu F, Aslan A, Cakir A, Karagoz Y, Gocer F, Halici M, Bayir Y. Anti-inflammatory and antiulcerogenic effects of the aqueous extract of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. *Phytomedicine*, 2003, 10: 552-557.
4. Kupeli E, Orhan I, Toker G, Yesilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive potential of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandenone and auriculasin. *Journal of ethnopharmacology*, 2006, 107: 169-174.
5. Saloua F, Eddine NI, Hedi Z. Chemical composition and profile characteristics of Osage orange *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider seed and seed oil. *Industrial crops and products*, 2009, 29: 1-8.
6. Wolfrom M, Komitsky Jr F, Fraenkel G, Looker J, Dickey E, McWain P, Thompson A, Mundell P, Windrath O. Macluraxanthone and two accompanying pigments from the root bark of the osage orange. *Tetrahedron Letters*, 1963, 4: 749-755.
7. Carlson GG, Jones VH. *Some notes on uses of plants by the Comanche Indians*. Baskı. University of Michigan Press, 1940.
8. Bourdy G, Chavez de Michel Lr Fau - Roca-Coulthard A, Roca-Coulthard A. Pharmacopoeia in a shamanistic society: the Izoceno-Guarani (Bolivian Chaco). *Journal of ethonopharmacology*, 2004, 91: 189-208.

9. Jones JM, Soderberg F. Cytotoxicity of lymphoid cells induced by *Maclura pomifera* (MP) lectin. *Cellular immunology*, 1979, 42: 319-326.
10. Peterson C, Brockmeyer E. The anti-fungal activity of an aqueous extract of osage orange wood. *American journal of pharmacy and the sciences supporting public health*, 1953, 125: 303-310.
11. Son IH, Chung I-M, Lee SI, Yang HD, Moon H-I. Pomiferin, histone deacetylase inhibitor isolated from the fruits of *Maclura pomifera*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2007, 17: 4753-4755.
12. Tsao R, Yang R, Young JC. Antioxidant isoflavones in osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003, 51: 6445-6451.
13. Veselá D, Kubínová R, Muselík J, Žemlička M, Suchý V. Antioxidative and EROD activities of osajin and pomiferin. *Fitoterapia*, 2004, 75: 209-211.
14. Halici M, Odabasoglu F, Suleyman H, Cakir A, Aslan A, Bayir Y. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine*, 2005, 12: 656-662.
15. Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2006, 103: 59-65.
16. Kuzu M. İnflamasyon, Sistemik İnflamatuvar Reaksiyon Sendromu ve Peritonitin Fizyopatolojisi. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 2001, 5: 69-83.
17. Werner R. Fundamental Concepts in Pathology. İçinde: *A Massage Therapist Guide to Pathology*, 4. Edition Baskı. Philadelphia, Wolters Kluwer, 2009: 663.
18. Ozen E, Kargi A. Akut ve Kronik İnflamasyon. İçinde: Çevikbaş U (editör). *Robbins Temel Patoloji*, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 1995: 26-45.

19. Memis L. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Baskı. Ankara, Güneş Kitapevi, 1999: 237-245.
20. Baydar E. Sığırlarda Akut İnflamasyonunun Belirlenmesinde Serum Demir Düzeyinin Diyagnostik Öneminin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2010.
21. Sumen S. Deneysel İnflamasyonda Nonsteroid Antiinflatuar İlaç ile Kombine Edilen Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Etkinliği. İstanbul Tıp Fakültesi, Deniz ve Su Altı Hekimliği. Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 1996.
22. Co DO, Hogan LH, Il-Kim S, Sandor M. T cell contributions to the different phases of granuloma formation. *Immunology letters*, 2004, 92: 135-142.
23. Guyton A, Hall J. *Tıbbi Fizyoloji*. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitap Evi, 2001: 392-402.
24. Kilicurgay K. *İmmünolojiye Giriş*. 5. Baskı. Bursa, Güneş ve Nobel Tıp Kitapevi, 1994: 95-101.
25. Bienvenu J. Exploration of cytokines in inflammation in biological fluids. *C R Seances Soc Biol Fil.*, 1995, 189: 545-555.
26. Mielke ME, Peters C, Hahn H. Cytokines in the induction and expression of T-cell-mediated granuloma formation and protection in the murine model of listeriosis. *Immunological reviews*, 1997, 158: 79-93.
27. Araz C. Statinlerin Kardiyopulmoner Bypastaki antiinflatuar etkilerinin değerlendirilmesi. Tıp Fakültesi, Anestezyoloji ve Reanimasyon Dalı. Doktora Tezi, Ankara: Başkent Üniversitesi, 2005.
28. Kayashima Y, Smithies O, Kakoki M. Kinins—The Kallikrein-Kinin System and Oxidative Stress. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 2012, 21: 92-96.

29. Egrikulah E. Diş Hekimliğinde Kullanılan Hemostatik Maddeler. Diş Hekimliği Fakültesi, A.D.Ç.H. Cerrahisi Anabilim Dalı. Bitirme Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2013.
30. Kuralay F, Cavdar Z. İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Dergisi*, 2006, 16: 143-152.
31. Akdemir A, Orsel S, Karaoglan A. Depresyon Etiyolojisinde Nöropeptidler. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 2002, 4: 24-29.
32. Yardimci S. Kısa Dönem Montelukast Tedavisinin Deneysel Olarak Oluşturulmuş Hepatik İskemi Reperfüzyon Modeline Etkileri. Haydarpaşa Numune ve Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. Genel Cerrahi Kliniği. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2009.
33. Ak O, Gencer S. Enfeksiyon Hastalıklarında Antipiretik Kullanımı. *İç Hastalıkları Dergisi*, 2013, 20: 1-11.
34. Armagan G. N-Metil- D-Aspartat Reseptörleri Aracılı Nörodejenarasyonda Bazı Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Nöroprotektif Etkileri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Biyokimya Programı. Doktora Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2011.
35. Gundogdu C. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçların Yeni Türevlerinin Sentezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 2009.
36. Oktay S, Berkman K, Onat F, Goren Z. Antiinflamatuvar İlaçlar ve Otokoidler. İçinde: Atagunduz P (editör). *Farmakoloji Lippincott's Illustrated Reviews*, 2. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 1998: 401-419.

37. Saloua F, Saber C, Hedi Z. Methyl ester of [*Maclura pomifera*](Rafin.) Schneider] seed oil: Biodiesel production and characterization. *Bioresource technology*, 2010, 101: 3091-3096.
38. Girl B. My Osage Orange Trees: Holiday Craft. <http://www.blimpygirl.com/personal-what-not/my-osage-orange-trees-holiday-craft>. 13 Şubat 2014.
39. Teixeira DM, Costa C. Novel methods to extract flavanones and xanthenes from the root bark of *Maclura pomifera*. *Journal of chromatography A*, 2005, 1062: 175-181.
40. USDA. *Maclura pomifera* (Raf.) C.K. Schneid. osage orange. <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MAPO>. 13.02.2014.
41. List TP. *Maclura pomifera* (Raf.) C.K.Schneid. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2501306>. 13.02.2014.
42. Akbaba G. Spermatophyta (Tohumlu bitkiler). <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bilgipaket/canlilar/plantae/spermatophyta.htm>. 13.02.2014.
43. Mutlu E. İnfertilite Tedavisinde Uygulanan Ovulasyon İndüksiyonunun Gingival İnflamasyon İle İlişkinin İncelenmesi. Periodontoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 2012.
44. Yaqoob P, Calder PC. Cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells: differential sensitivity to glutamine availability. *Cytokine*, 1998, 10: 790-794.
45. Overbergh L, Valckx D, Waer M, Mathieu C. Quantification of murine cytokine mRNAs using real time quantitative reverse transcriptase PCR. *Cytokine*, 1999, 11: 305-312.

46. Starr R, Willson TA, Viney EM, Murray L, Rayner JR, Jenkins BJ, Gonda TJ, Alexander WS, Metcalf D, Nicola NA. A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling. *Nature*, 1997, 387: 917-921.
47. Koc B, Oktenli C, Bulucu F, Karadurmus N, Sanisoglu SY, Gul D. The rate of pyrin mutations in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome and sepsis: a pilot study. *The Journal of rheumatology*, 2007, 34: 2070-2075.
48. Dokmeci I. Nöropeptitler, agonister ve antagonistler. İçinde: *Farmakoloji Temel Kavramlar*, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2000: 357-378.
49. Yesilada E. Makrofaj Ve Lenfosit Kaynakli Sitokin Çalışmalarının Halk İlaçlarının Biyolojik Etki Değerlendirmesinde Rolü, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 2002, Eskişehir 49-52.
50. Biocyclopedia. General Zoology, Activity of Life, Cytokines. http://www.eplantscience.com/index/general_zoology/cytokines.php. 10.02.2014.
51. Graves D, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology*, 2003, 74: 391-401.
52. Xue M, Shi X, Zhao Y, Cui H, Hu S, Cui X, Wang Y. Effects of reticuloendotheliosis virus infection on cytokine production in SPF chickens. *PLoS One*, 2013, 16;8.
53. Chung K. Cytokines as targets in chronic obstructive pulmonary disease. *Current drug targets*, 2006, 7: 675-681.
54. Akyol S, Tunali H. Etanolün Uygulanma Dozu ve Süresine Bağlı Olarak Alkolik Gebelerde İmmün Sistem Değişimleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 2005, 36: 181-188.
55. Erbas O. Akut İnflamasyon. İçinde: *Patoloji Ders Notu I*, İstanbul, TUSTIME, 2012.

56. Caminero A, Comabella M Fau - Montalban X, Montalban X. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), anti-TNF-alpha and demyelination revisited: an ongoing story. *J Neuroimmunol*, 2011, 234: 1-6.
57. Berber M. İntrauterin inflamasyon modeli oluşturulmuş gebe ratlarda etanersept ve melatoninin fetüs beynindeki proinflamatuvar sitokin düzeylerine etkilerinin araştırılması. Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlık ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Neonatoroloji Bilim Dalı. Bitirme Tezi, İstanbul: Yeditepe Üniversitesi, 2011.
58. Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. *Guide to the care and use of experimental animals*. Baskı. Canadian Council on Animal Care Ottawa, 1993.
59. van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. *Principles of laboratory animal science: a contribution to the humane use and care of animals and to the quality of experimental results*. Baskı. Elsevier Science Publishers, 1993.
60. SPSS. Statistical Packages for the Social Sciences. 2011, MAC.
61. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*, 2002, 420: 846-852.
62. Imir T. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Baskı. Ankara, Güneş Kitapevi, 1999: 119-325.
63. Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, Lee L, Isakson P. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, 91: 12013-12017.
64. Aci R. Maclura Pomifera Bitkisinin Su Ekstresinin Ratlarda İndometazinle Oluşturulan Ülser Modeli Üzerine Etkilerinin Araştırılması ve Antioksidan Mekanizmasını İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Biyokimya Anabilimdalı. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2013.

65. Anonim. Herbalism. <http://en.wikipedia.org/wiki/Herbalism> - Extinction_of_medicinal_plant_species. 13.02.2014.
66. Ekinci B, Durupınar B. Ratlarda Mikrobiyolojik Deneysel Çalışmalar. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 87: 2.
67. Ozbek H, Ozturk A. Antienflamatuvar Etkinliğin Ölçülmesinde Kullanılan Yöntemler. *Van Tıp Dergisi*, 2003, 10: 23-28.
68. Arihan O. Biyomedikal Çalışmalarda Hayvan Modelleri. <http://tfbdfutem.blogspot.com.tr/2013/03/biyomedikal-calsmalarda-hayvan-modelleri.html>. 13.02.2014.
69. Gupta M, Mazumdar UK, Sivakumar T, Vamsi ML, Karki SS, Sambathkumar R, Manikandan L. Evaluation of anti-inflammatory activity of chloroform extract of *Bryonia laciniola* in experimental animal models. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 2003, 26: 1342-1344.
70. Halici Z. Amlodipin, lasidipin ve nikardipinin intaktve adrenaletomili sıçanlarda karrageninle oluşturulan inflamasyona etkileri. Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2005.
71. Marzocco S, Di Paola R, Serraino I, Sorrentino R, Meli R, Mattaceraso G, Cuzzocrea S, Pinto A. Effect of methylguanidine in carrageenan-induced acute inflammation in the rats. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 484: 341-350.
72. O'Brien SM, Scott LV, Dinan TG. Cytokines: abnormalities in major depression and implications for pharmacological treatment. *Human Psychopharmacology: clinical and experimental*, 2004, 19: 397-403.
73. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Experimental Biology and Medicine*, 1962, 111: 544-547.

74. Müller N, Schwarz M, Dehning S, Douhe A, Cerovecki A, Goldstein-Müller B, Spellmann I, Hetzel G, Maino K, Kleindienst N. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib has therapeutic effects in major depression: results of a double-blind, randomized, placebo controlled, add-on pilot study to reboxetine. *Molecular psychiatry*, 2006, 11: 680-684.
75. Suleyman H, Demircan B, Karagoz Y, Oztasan N, Suleyman B. Anti-inflammatory effects of selective COX-2 inhibitors. *Pharmacological Reports*, 2004, 56: 775-780.
76. Yesilada E, Kupeli E. *Berberis crataegina* DC. root exhibits potent anti-inflammatory, analgesic and febrifuge effects in mice and rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2002, 79: 237-248.
77. Guo Q, Rimbach G, Moini H, Weber S, Packer L. ESR and cell culture studies on free radical-scavenging and antioxidant activities of isoflavonoids. *Toxicology*, 2002, 179: 171-180.
78. Hay A-E, Hélesbeux J-J, Duval O, Labaïed M, Grellier P, Richomme P. Antimalarial xanthenes from *Calophyllum caledonicum* and *Garcinia vieillardii*. *Life sciences*, 2004, 75: 3077-3085.
79. Maier CG-A, Chapman KD, Smith DW. Differential estrogenic activities of male and female plant extracts from two dioecious species. *Plant Science*, 1995, 109: 31-43.
80. Barnes RA, Gerber NN. The Antifungal Agent from Osage Orange Wood1. *Journal of the American Chemical Society*, 1955, 77: 3259-3262.
81. Bunyapraphatsara N, Dechsree S, Yoosook C, Herunsalee A, Panpisutchai Y. Anti-herpes simplex virus component isolated from *Maclura cochinchinensis*. *Phytomedicine*, 2000, 6: 421-424.

82. Dharmaratne HRW, Jacob M, Tekwani BL, Nanayakkara NPD. Antimicrobial and Antileishmanial Compounds from *Maclura pomifera* Fruits. *Planta Med*, 2013, 79: PF1.
83. Voynova E, Dimitrova S, Naydenova E, Karadjov P. Inhibitory action of extracts of *Maclura aurantiaca* and *Epilobium hirsutum* on tumour models in mice. *Acta physiologica et pharmacologica Bulgarica*, 1990, 17: 50-52.
84. van der Poll T, van Deventer SJ. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. *Infectious disease clinics of North America*, 1999, 13: 413-426.
85. Moreland LW, Baumgartner SW, Schiff MH, Tindall EA, Fleischmann RM, Weaver AL, Ettlinger RE, Cohen S, Koopman WJ, Mohler K. Treatment of rheumatoid arthritis with a recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *New England Journal of Medicine*, 1997, 337: 141-147.
86. Koziel MJ. Cytokines in viral hepatitis, *Seminars in liver disease*, 1999, 19: 157-169.
87. Bonavida B. Immunomodulatory effect of tumor necrosis factor. *Biotherapy*, 1991, 3: 127-133.
88. Old LJ. Tumor necrosis factor (TNF). *Science*, 1985, 230: 630-632.
89. Flier JS, Underhill LH, Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *New England Journal of Medicine*, 1996, 334: 1717-1725.
90. Cetinkaya B. Romatoidm Artrit ve Kronik Peridontitis Hastalarında Proenflamatuar (TNF- α , IL-1 β) ve Antienflamatuar (IL-10, IL-4) Sitokin Düzeylerinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Ankara: Başkent Üniversitesi, 2009.

91. Baykal Y, Saglam K, Yilmaz M, Taslipinar A, Akinci S, Inal A. Serum sIL-2r, IL-6, IL-10 and TNF- α level in familial Mediterranean fever patients. *Clinical rheumatology*, 2003, 22: 99-101.
92. Colak B, Gurlek B, Yegin ZA, Deger SM, Elbek S, Pasaoglu H, Dogan I, Ozturk MA, Unal S, Guz G. The relationship between the MEFV genotype, clinical features, and cytokine-inflammatory activities in patients with familial Mediterranean fever. *Renal failure*, 2008, 30: 187-191.
93. Koceroglu R. Van ve Çevresindeki Çocuklarda Ailesel Proinflamatuvar Sitokinlerle İlişkisi. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2011.
94. Bethea JR, Gillespie GY, Benveniste EN. Interleukin-1 β induction of TNF- α gene expression: Involvement of protein kinase C. *Journal of cellular physiology*, 1992, 152: 264-273.
95. Hasturk A, Atalay B, Caliskaneller T, Ozdemir O, Oruckaptan H, Altinors N. Analysis of serum pro-inflammatory cytokine levels after rat spinal cord ischemia/reperfusion injury and correlation with tissue damage. *Turkish neurosurgery*, 2009, 19: 353-359.
96. Schmidt OI, Heyde CE, Ertel W, Stahel PF. Closed head injury—an inflammatory disease? *Brain Research Reviews*, 2005, 48: 388-399.
97. Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *British journal of anaesthesia*, 2007, 99: 4-9.

EKLER

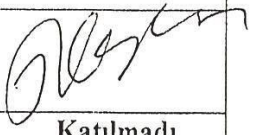
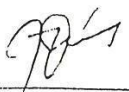
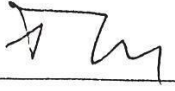
EK-1. Özgeçmiş

KİŞİSEL BİLGİLER
Adı Soyadı :Ergün EREMİNSOY Doğum Tarihi : 10.06.1972 Doğum Yeri : Erzurum Medeni Hali : Evli Uyruğu : T.C Adres: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Telefon : 0442 231 5554, Cep:05332064480 Fax : E- Posta : ergunerinc@mynet.com
EĞİTİM
Lise : Erzurum Lisesi (1989) Lisans : Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (1994-1998) Yüksek Lisans : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı (2010-2014)
YABANCI DİL BİLGİSİ
İngilizce : Orta seviye
ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR
Türk Kimya Derneği, Kimyagerler Derneği
İLGİ ALANLARI, HOBİLER
Seyahat etmek, kitap okumak, müzik dinlemek

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

“2011. 3.1/ 3 “SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 30.06.2011

3.1/3- Enstitümüz Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ergün TOPAL’ ın “ *M. Pomifera* Bitkisinden Elde Edilecek Ekstre ve Metabolitlerinin Ratlarda Karrageninle Oluşturulan Enflamasyon Modeli Üzerine Etkilerinin Araştırılması ve Sitokinler Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” tez konusu görüşüldü; İlginin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof.Dr.Türkan PASİNLİOĞLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Prof. Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	<u>Katılmadı</u>
Prof. Dr. İsmail CEYLAN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	<u>Katılmadı</u>
Prof. Dr. Zekeriya AKTÜRK	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	<u>Katılmadı</u>
Prof. Dr. H. İnci GÜL	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	<u>Katılmadı</u>
Doç. Dr. Hakan USLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç.Dr. Abdulkadir YILDIRIM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN	Raportör	

EK-3. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI



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

Sayı : B.30.2.ATA.0.23.85-70
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

27.05.2011
ERZURUM

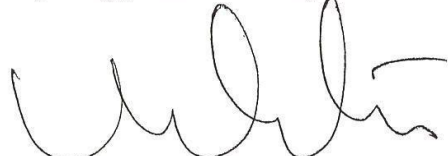
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 05.05.2011 tarih ve B.30.2.ATA.0.23.71-562 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Mesut B. HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ve ATADEM'de yürütülecek olan "M.Pomifera'nın Ekstre ve Metabolitlerinin Ratlarda Karrageninle Oluşturulan Enflamasyon Modeli Üzerine Etkilerinin Araştırılması ve Sitokinler ile Antioksidan Mekanizmanın İncelenmesi" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 27.05.2011 tarih ve 5 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 38 no'lu kararı ile araştırmanın Etik Kurallara uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.


Prof. Dr. Mustafa ATASEVER
Başkan

526
05.05.2011

Alınan 31.05.2011


Toplantı Tarihi : 27.05.2011

Toplantı Sayısı : 5

KARAR NO : 38- Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Mesut B. HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ve ATADEM'de yürütülecek olan "M.Pomifera'nın Ekstre ve Metabolitlerinin Ratlarda Karrageninle Oluşturulan Enflamasyon Modeli Üzerine Etkilerinin Araştırılması ve Sitokinler ile Antioksidan Mekanizmanın İncelenmesi" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 05.05.2011 tarih ve B.30.2.ATA.0.23.71-562 sayılı yazıları ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Kampus/ERZURUM
Telefon : 0-442-236 08 80 Fax : 0-442-236 08 81 e-mail: hadyek@atauni.edu.tr