

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**$\alpha$ -AMANİTİN İLE OLUŞTURULMUŞ KARACİĞER HASARINDA ARI  
ÜRÜNLERİNİN ROLÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Onur DORUK**

**HAZİRAN 2014  
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**$\alpha$ -AMANİTİN İLE OLUŞTURULMUŞ KARACİĞER HASARINDA ARI  
ÜRÜNLERİNİN ROLÜ**

**Onur DORUK**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde  
"YÜKSEK LİSANS (KİMYA)"  
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 23.05.2014  
Tezin Savunma Tarihi : 17.06.2014**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI**

**Trabzon 2014**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Kimya Anabilim Dalında**

**Onur DORUK tarafından hazırlanan**

**$\alpha$ -AMANİTİN İLE OLUŞTURULMUŞ KARACİĞER HASARINDA ARI  
ÜRÜNLERİNİN ROLÜ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 27/05/2014 gün ve 1555 sayılı  
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınav sonunda**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI .....**

**Üye : Yrd. Doç. Dr. Oktay YILDIZ .....**

**Üye : Yrd. Doç. Dr. Meltem MALKOÇ .....**

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

“ $\alpha$ -Amanitin ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarında Arı Ürünlerinin Rolü” adlı bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, sürekli yanımda olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI’ya teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Oktay YILDIZ, Yrd. Doç. Dr. Özlem SARAL, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ŞAHİN ve Yrd. Doç. Dr. Fatma KARAHALİL hocalarıma ve çalışma arkadaşım, Zehra CAN’a, tüm biyokimya anabilim dalındaki hocalarıma ve Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi personeline teşekkür ederim.

Çalışmamıza numune desteği veren Dr. Yasemin ÇEVİK’e teşekkür ederim.

Tüm lisans ve yüksek lisans çalışmalarım esnasında en büyük desteğini gördüğüm nişanlım Havanur GÜNEY’e ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

Onur DORUK  
Trabzon, 2014

## TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “ $\alpha$ -Amanitin ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarında Arı Ürünlerinin Rolü” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI'nın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 17/06/2014

Onur DORUK

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ .....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET .....	VII
SUMMARY .....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER .....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Apiterapi .....	4
1.3. Mantar Zehirlenmeleri .....	6
1.4. $\alpha$ -Amanitin .....	8
1.5. Karaciğer .....	10
1.5.1. Karaciğerin İşlevi.....	12
1.6. Karaciğer Hastalıkları .....	13
1.7. Siroz .....	14
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
2.1. Kullanılan Cihazlar .....	15
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	15
2.3. Kullanılan Çözeltiler .....	16
2.4. Numunelerin Temini .....	17
2.5. Deney Hayvanları .....	18
2.6. Numunelerde Yapılan Analizler .....	18
2.6.1. Ekstraktların Hazırlanması .....	18
2.6.2. Toplam Fenolik Madde Tayini .....	19
2.6.3. FRAP Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini .....	20
2.6.4. DPPH Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini.....	21
2.6.5. SC <sub>50</sub> Değerinin Bulunması .....	21

2.7.	Deneysel Hayvan Çalışmaları .....	22
2.7.1.	Deney Grupları ve Uygulamalar .....	22
2.7.2.	Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlığının Ölçümü .....	23
2.7.3.	Dekapitasyon, Materyallerin Alınması ve Ön işlemler .....	23
2.8.	Biyokimyasal İncelemeler .....	24
2.8.1.	Lipit Peroksidasyon Seviyesinin Ölçülmesi .....	24
2.8.1.1.	Karaciğer Dokusunda MDA Seviyesinin Ölçülmesi .....	24
2.8.1.2.	Plazmada MDA Seviyesinin Belirlenmesi.....	25
2.8.2.	Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini .....	25
2.9.	Histopatolojik İnceleme .....	26
2.10.	İstatistiksel Analiz .....	27
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA .....	28
3.1.	Antioksidan Aktivite Ölçümleri.....	28
3.1.1.	Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	28
3.1.2.	FRAP Yöntemi ile Antioksidan Kapasite Tayini.....	30
3.1.3.	Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi (DPPH).....	31
3.2.	Deney Hayvanları Uygulamaları .....	32
3.2.1.	Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlığı Ölçümü .....	32
3.2.2.	Biyokimyasal Analiz Sonuçları .....	33
3.2.2.1.	Plazmada Yapılan Ölçümlerin Sonuçları .....	33
3.2.2.2.	Karaciğer Dokusunda Yapılan Ölçümlerin Sonuçları .....	35
3.2.3.	Histopatolojik İnceleme Sonuçları.....	35
4.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	37
5.	KAYNAKLAR .....	39

ÖZGEÇMİŞ

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

$\alpha$ -AMANİTİN İLE OLUŞTURULMUŞ KARACİĞER HASARINDA ARI  
ÜRÜNLERİNİN ROLÜ

Onur DORUK

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI  
2014, 48 Sayfa

Bu çalışmada, sıçanlarda  $\alpha$ -amanitin nedenli karaciğer hasarına karşı bal ve polenin koruyucu rolü incelendi. 35 adet dişi Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Kontrol grubu, amanitin grubu (üç gün boyunca 0,2 ml/kg.gün), polen grubu (800 mg/kg.gün), bal grubu (800 mg/kg.gün) ve silibinin grubu (25 mg/kg.gün) olarak sıçanlar 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubunun dışında amanitine maruz kalan tüm grup ve apiterapik ürünleri, sekiz gün boyunca gavaj yoluyla uygulandı. Karaciğer hasarı oluşumu serum alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) enzimlerinin aktivitelerini ölçülmesiyle izlendi. Buna ek olarak, histopatolojik muayeneler, malondialdehit (MDA) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri de ölçüldü. Arı ürünlerinin antioksidan kapasiteleri toplam fenolik içerik ve Fe(III) indirgenme gücü metodu ile ölçüldü. Arı ürünlerinin antioksidan aktivitelerinin fenolik bileşik içerikleri ile değişkenlik gösterdiği belirlendi. Bu iki arı ürününün antioksidan kapasitelerinin farklı olmasına rağmen  $\alpha$ -amanitin oluşturduğu hasarı önlemede hemen hemen benzer koruyucu roller gösterdi. Sonuç olarak, çalışılan bal arısı ürünlerinin toksik ajanlara karşı karaciğeri koruduğu bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Bal, Polen,  $\alpha$ -Amanitin, Silibinin ve Antioksidan



Master Thesis

SUMMARY

THE ROLE OF BEE PRODUCTS IN  $\alpha$ -AMANİTİN INDUCED HEPATIC DAMAGE

Onur DORUK

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Chemistry Graduate Program  
Supervisor: Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI  
2014, 48 Pages

In this study, the role of hepatoprotective effects of some bee- products which were honey, pollen, against  $\alpha$ -amanitine induced hepatic damages in rats were investigated. A total of 35 female Sprague Dawley rats were used. The rats were divided 5 groups: control group, amanitin-treated group (0,2 mL/kg.day for three days), pollen group (800 mg/kg.day), honey group (800 mg/kg.day), and silibinin (25 mg/kg.day) group. Except of the control group all group exposed to amanitin, and the apitherapic samples were applied by gavage for eight days. The liver damage formation was followed by measuring the activities of serum alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) enzymes. In addition, histopathological examinations, malondialdehyde (MDA) and catalase (CAT) enzyme activities were also performed. Antioxidant capacities of the bee products were measured by total phenolic contents and ferric reducing antioxidant power (FRAP). The antioxidant activities of the bee products were shown to vary with their phenolic compound contents and could be ordered largest to smallest honey and pollen. When these two bee products were analyzed for their roles in prevention of liver damage, despite to their different levels of antioxidant capacities, almost similar protective roles in preventing the damage formed by  $\alpha$ -amanitin were found. The similar protective role against liver damage may be source of the bee products bioavaibility of the rats. As a result, all the honey bee products were found to protect the liver against toxic agents.

**Key Word:** Honey, Pollen,  $\alpha$ -Amanitin, Silibinin ve Antioxidant

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Şekil 1. Amatoksinlerin yapısı .....	9
Şekil 2. Toplam polifenol kalibrasyon grafiği .....	19
Şekil 3. FRAP testi için kalibrasyon grafiği .....	20
Şekil 4. DPPH tayininde kullanılan Troloks standartının SC <sub>50</sub> grafiği .....	22
Şekil 5. Grupların AST ve ALT düzeyleri .....	33
Şekil 6. Plazmalar için hazırlanan MDA standart eğrisi .....	34
Şekil 7. Karaciğer dokuları için hazırlanan MDA standart çalışma grafiği .....	35
Şekil 8. Amanitin grubunda periportal alanlarda hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon (HEx400) .....	36

## TABLULAR DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Tablo 1. Bilinen amatoksinler .....	9
Tablo 2. Karaciğer hastalıkları .....	13
Tablo 3. Çalışmalarda kullanılan cihazlar .....	15
Tablo 4. Çalışmada kullanılan temel kimyasallar .....	16
Tablo 5. Çalışmalarda kullanılan bazı çözeltiler ve hazırlanışları .....	17
Tablo 6. Toplam fenolik madde tayini için deney şartları .....	19
Tablo 7. FRAP yöntemi için deney şartları .....	20
Tablo 8. DPPH yöntemi için deney şartları .....	21
Tablo 9. Plazmada lipit peroksidasyon seviyesinin ölçülmesi için yapılan pipetleme işlemleri.....	25
Tablo 10. Katalaz aktivitesinde kullanılan miktarlar .....	26
Tablo 11. Bal ve polenin toplam fenolik madde miktarları.....	28
Tablo 12. Bal ve polenin FRAP metoduyla antioksidan miktarları .....	30
Tablo 13. Bal ve polenin DPPH metoduyla antioksidan miktarları .....	31
Tablo 14. Deney hayvanlarının vücut ağırlığı değişimleri .....	32
Tablo 15. Grupların biyokimyasal analizleri.....	34
Tablo 16. Plazma MDA ve CAT değerleri.....	34
Tablo 17. Karaciğer dokularına ait parametreler .....	35

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Eski zamanlardan beri mantarlar günlük beslenmenin yanı sıra, güzel aromaları ve tatları ile insanlar tarafından tüketilmektedir. Ayrıca mantarların tedavi edici amaçla kullanımı da günden güne artmaktadır. Doğal ürünler arasında yer alan mantarlar klinik çalışmalarda da sıkça kullanılmaktadır (Bourquelot ve Bertrand, 1895).

Mantarları Whittaker'in 1969'da önerdiği 5'li sisteme kadar bitkiler alemi içinde ve tohumuz bitkiler ile beraber bir bölüm (Mycophyta) olarak ele alınmaktadır. Whittaker ise kendi düşüncesini geliştirirken; yüz yirmi beş bin civarında bir tür çeşitliliği gösteren tüm mantarların, ayrı bir canlılar alemi oluşturduğunu kabul edip Regnum: Myceteae (Fungi) adını verdiği aleme yerleştirmiştir (Webster, 1989; Alexopoulos vd., 1996). Mantarlar, çok hücreli ve tek hücreli olabilen ökaryotik bir canlı alemdir.

Klorofil içermediklerinden bağımsız olarak şeker, yağ ve nişasta gibi organik maddeler oluşturamazlar ve bu nedenle diğer canlılara ihtiyaç duyarlar. Makromantarlar; çayırlarda, yol kenarlarında, ormanlarda, ağaç altlarında yetişirler. Çok değişik renk ve şekillere sahiptirler. Yenilebilir mantarlar, % 92 ölçüde su içermekte ve aroması nedeniyle bazı insanlar tarafından büyük ilgi görmektedir.

Protein ve mineral tuzlar açısından oldukça zengin yapıdadırlar. Kalsiyum, potasyum, fosfor ve demir içerirler. Mantarlar C vitamini açısından fakirdirler. Buna karşılık, B grubu vitaminleri, K ve D<sub>2</sub> vitaminleri açısından zengin mantar türleri de vardır.

Mantar proteinlerinin sindirilme yüzdeleri % 72-83 arasındadır. Meyve ve sebzelerle kıyaslandığında, iyi bir lizin, arginin, histidin ve treonin kaynağıdır. İnsan beslenmesi için gerekli tüm aminoasitleri içermekte olup, buna rağmen triptofan seviyeleri kısmen düşüktür. Ayrıca mantarlar sodyum, klor, bakır, demir, potasyum, brom, mangan, çinko, fosfor, kalsiyum, riboflavin, nikotik asit gibi mineral ve vitaminler açısından da zengindirler (Kolcuoğlu, 2005). Mantarlar mükemmel bir folik asit kaynağıdır. Folik asit yetersizliğinden ileri gelen aneminin tedavisinde mantar içeren diyetler etkili olmaktadır. Mantarlarda yapılan araştırmalar sonucunda mantarların kandaki şeker seviyesini ve kolesterolü de düşürdüğü görülmektedir (Boztok, 1990).

Birçok fungusun biyoaktif bileşenlerinin incelenmesinde epeyce yol alınmıştır. Örneğin, *Wolfiporia sp.* fungusu genel bir yatıştırıcı olarak merkezi sinir sistemine etki ederek kalp çarpıntılarının kontrolünde kullanılır. Klinik çalışmalarda bu mantardan elde edilen bileşikler farelerde stresin neden olduğu ülserle karşı koruma sağlamıştır. Mantar idrar söktürücü ve deri iltihaplarını önleyici olarak da kullanılmaktadır. Çinliler mantarı meme ve rahim kanserlerini tedavi etmek için kullanmaktadır (Kabir vd., 1988).

Mantarların tıbbi özellikleri arasında; antimikrobiyal etkileri, antioksidan etkileri, hepatoprotektif etkileri (karaciğer koruyucu etkileri), antidiyabetik etkileri, bağışıklık sistemini düzenleyici özelliği, antitümör etkileri, kolesterol düşürücü özelliği, şeker düşürücü özelliği bulunmaktadır.

Biyolojik, ekonomik ve tıbbi açıdan faydalı mantarların yanında, yenen mantarlara görünüş açısından benzemeleri nedeniyle sıklıkla karıştırılan öldürücü zehirli mantarlar da bulunmaktadır. *Amanita* cinsine ait birkaç tür özellikle *Amanita phalloides* türü birçok ölümcül zehirlenmeden sorumludur (Trappe, 1992).

Birçok mantarda bulunan toksik maddeler orta veya ılımlı derecede zehirlenmelere neden olmaktadır. Ancak bununla beraber aşırı derecede zehirli birkaç mantar türünün tüketilmesi tıbbi problemlere sebep olmaktadır. Mantar zehirlenmesi (mycetism), tüm insanlık tarihinde meydana gelmiştir ve *Amanita* türleri zehirliliklerinden dolayı en az 2000 yıldan beri tanınmaktadır (Hallen, 2002). Tarihi kanıtlar en az üç Roma imparatorunun ve bir papanın mantar zehirlenmesinin kurbanları arasında olduğunu ileri sürmektedir (Li ve Oberlies, 2005). Tahminen mantar zehirlenmesinin en meşhur vakası *Amanita phalloides* (köygöçüren) türünün ekstraktının Roma imparatoru Claudius'u zehirlemek için kullanıldığı olaydır (Hallen, 2002). Mantar zehirlenmeleri, genellikle kazara veya yenen mantarlarla zehirli mantarların morfolojik benzerlikleri nedeniyle karıştırılması ve ayrıca kasıtlı olarak psikotropik (beyin hücrelerini etkileyen) mantarların yenmesi sonucu meydana gelmektedir (Persson, 2007). Dünyadaki ölümcül mantar zehirlenme vakalarının yaklaşık %90'ı *Amanita phalloides* türünün yenmesiyle meydana gelmektedir (Aygül vd., 2010). En ağır zehirlenmelere, *Amanita phalloides* ve *Amanita virosa*'da bulunan ve ağır mide-bağırsak ve karaciğer hasarına yol açan amatoksinler ve *Cortinarius* türlerinde bulunan ve böbrek hasarına yol açan orellanın gibi sitotoksik maddeler sebep olmaktadır (Jaeger vd., 1993; Danel vd., 2001). Mantarların bünyesinde bulunan, *Clitocybe* ve *Inocybe* cinslerine ait türlerdeki muskarin, *Psilocybe* ve *Panaeolus* cinslerine ait türlerdeki psilosibin, *Amanita muscaria* (uçuran mantar) ve *Amanita*

*pantherina* türlerindeki isoksazol ve *Gyromitra* cinslerine ait türlerdeki gyromitrin gibi nörotoksinler dramatik ve nadiren öldürücü etkilere, genellikle de mide-bağırsak bozukluklarına neden olmaktadır (Persson, 2007).

Bal, arıların çiçekteki nektar veya bitkiler üzerinde yaşayan bazı canlıların ürettikleri salgılardan topladıkları ve enzimatik olarak değişikliğe uğratarak peteklere depoladıkları tatlı bir maddedir. Doğada saf üretildiği şekliyle besleyici değeri yüksek olan bal, değişik bileşiklerden oluşan yaklaşık 200'ün üzerinde madde içermektedir. Saf balın en önemli bileşenlerini yaklaşık %80 düzeyindeki monosakkaritler (fruktoz, galaktoz) ve disakkaritlerden oluşan şekerler teşkil etmektedir, bunun yanı sıra % 18-19'u su, aminoasitler, vitaminler (biotin, nikotinik asit, folik asit, pantotenik asit, piroksidin, tiamin, vs.), enzimler (diyastaz, invertaz, glikoz oksidaz ve katalaz) ve mineral madde (potasyum, demir, magnezyum, fosfor, bakır ve kalsiyum) içermektedir (White, 1978; Şahinler vd., 2001). Bal içeriği oldukça değişkendir ve toplanan nektar botanik kaynağına, mevsim, coğrafyaya ve toprak verimliliğine, yağış ve diğer birçok çevresel faktöre göre değişmektedir (Anklam, 1998; Oddo ve Bogdanov, 2004; Güler vd., 2007; Nisbet vd., 2009; Khalil vd., 2010). Bu nedenle arı ürünlerinin kimyasal özellikleri çevre kalitesi ile doğrudan ilişkilendirilmiştir (Şahinler vd., 2001; Staniskiene vd., 2006; Nisbet vd., 2009).

Bal, içerdiği basit ve kompleks şekerlerden dolayı doğal bir tatlandırıcı olarak kullanılabilir (Molan, 1996). Ayrıca sakkarozdan daha düşük bir glisemik indekse (GI) sahiptir (Samanta vd., 1985) ve bal tüketiminin yararlı etkileri literatürlerde anlatılmıştır. Bu etkilerden en önemlilerinin antioksidan kapasitesi (Taormina vd., 2001; Gheldof vd., 2003; Schrammd vd., 2003), bağırsak hareketliliğinin geliştirilmesi (Ladas vd., 1995), sitokin üretimi (Tonks vd., 2003) ve prebiyotik etki (Sanz vd., 2005, Ezz El-Arab vd., 2006) olduğu belirtilmektedir. Bunlara ilaveten balın, gıdaların bağırsaktan emilimini kolaylaştırıcı özelliği olduğu da bildirilmektedir (Chepulis, 2007).

Polen çiçekli bitkilerin erkek üreme materyalidir. Değişik renklerde bulunan polen arılar tarafından kovanın gıda ihtiyacını karşılamak için toplanmaktadır. Bitkiden bitkiye değişen bileşim yaklaşık %10-15 su, % 20 protein, % 30-60 karbonhidrat, amino asitler, % 6 yağ asitleri (39% linolenik, 20% palmitik ve 13% linoleik asitler;), flavonoid, karotenoidler, terpenler, 12 den fazla vitamin, mineral ve 10 dan fazla enzime sahiptir (Qian vd., 2008; Ishikawa vd., 2009; Maruyama vd., 2010; Attia vd., 2011).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon

taşıyan moleküllerdir (Kahkönen vd., 1999; Nagai vd., 2003). Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir (Prior ve Cao, 2000). Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001). Antioksidan aktivitesi balın bir kalite kriteri olarak kullanılabilmesinin yanısıra, onun tedavi edici potansiyeli ve kalitenin değerlendirilmesinin iyi bir parametresi olabilmektedir. Balların antioksidan aktivitesi; fenolikler, peptitler, organik asitler, enzimler, Maillard reaksiyon ürünleri ve muhtemelen düşük miktarlarda bulunan bileşikler gibi birçok bileşiklerin aktivitelerinin toplamının sonucu olarak meydana gelmektedir (Gheldof vd., 2002).

Dünyada en yaygın görülen zehirlenme türlerinden biri *Amanita phalloides* türlerinde bulunan  $\alpha$ -amanitin ( $\alpha$ -AMA) kaynaklı zehirlenme olup toksinin RNA polimeraz II enzimini inhibe etmektedir. Toksin'in ölümlü sonuçlanmayan vakalarında ciddi karaciğer hasarları meydana gelmektedir ve doğal ürünler tedavide kullanılmaktadır, silibinin ve penisilin en sık kullanılanlardır. Amacımız,  $\alpha$ -AMA kaynaklı karaciğer hasarlarını önlenmesinin silibinine alternatif yeni ürünler keşfetmek olup literatürde silibinin gibi çeşitli doğal ürünler ile denemeler yapılmıştır. Dolayısıyla planlanan bu çalışmada mantar zehirlenmesine meydana gelen karaciğer hasarını tedavi etmek için arı ürünleri olan bal ve polenin karaciğer hasarının önlemedeki rolü araştırıldı.

## 1.2. Apiterapi

Eskiden beri insanoğlu, hastalıkların tedavisinde arı ürünlerinden yararlanmıştır. Günümüzde de arı ürünleriyle tedavi yani apiterapi hala önemini korumaktadır. Bal, arı sütü, propolis, bal mumu, polen gibi apiterapi ürünleri tıpta ve veterinerlikte sıkça kullanılmaktadır. Apiterapide kullanılan ve arıların başlıca ürünlerinden biri olan bal, insan vücudu için mükemmel bir enerji ve güç kaynağıdır. Bal, insan sağlığı için gerekli olan şekerler, vitaminler, mineraller ve proteinler içermesi bakımından da önemli bir üründür. Ayrıca içerdiği kokulu bileşikler ile kendine has aroması ve lezzete sahiptir. Bu özelliği balın insanlar tarafından sevilerek fazla miktarda tüketilmesini sağlamaktadır. Balın hiç yağ içermemesi onun diyetli kişiler tarafından da yenilmesini kolaylaştırmaktadır. Tüketimi kolay ve fazla olan bal birçok hastalığa şifa kaynağıdır. İçerdiği sindirimi

kolaylaştırıcı enzimlerle unlu ve etli gıdaların hazmını hızlandırmaktadır. Bu nedenle mide, karaciğer ve kalp hastalıklarında tavsiye edilmektedir (Ceylan, 2000).

Balın ülser ve diğer mide hastalıkları, kalp yetmezlikleri, çarpıntı, kemik hastalıkları, öksürük, allerji, bronşit, kansızlık, boğaz ağrısı, sinir hastalıkları, bazı cilt ve sinir sistemi hastalıkları gibi 500'e yakın hastalığın tedavisinde olumlu etkileri saptanmıştır. Ayrıca kabızlığı giderdiği, vücuttaki kanı temizlediği, damarları genişlettiği ve kan dolaşımını kolaylaştırdığı, kalbi güçlendirdiği, yağ hazmını kolaylaştırdığı, yara ve yanıkları iyileştirdiği de bilinmektedir (Molan, 2000).

Polen (çiçek tozu), bitkinin erkek gametini dişi gamete taşıyan bir yapıdır (Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005). Apiterapide polen enfeksiyon hastalıkları ve mide kanaması gibi birçok hastalığın tedavisinde (Williams, 1994) ve yüksek rakıma bağlı kusma sendromunun önlenmesinde tıbben kullanılmaktadır (Linskens ve Jorde, 1997).

Baldaki antibakteriyel aktivite ilk olarak 1982 yılında bildirilmiştir. Baldaki inhibitör bileşen, ısı ve ışığa duyarlı ve glukoz oksidaz tarafından üretilen hidrojen peroksittir. Bazı araştırmacılar baldaki esas antibakteriyel bileşenin hidrojen peroksit olduğuna inanmaktadırlar. Fakat bazı ballarda glukozoksidaz inaktiftir ve bu ballarda bakterilerin gelişimini inhibe etmeye yetmeyecek kadar az hidrojen peroksit bulunmaktadır. Bu ballar ısı ve ışığa duyarlı değildirler ve uzun süre bozulmadan kalabilmektedirler (Bogdanow, 1997).

Hastalık ve enfeksiyonlara neden olan birçok mikroorganizmanın gelişimi bal tarafından inhibe edilmektedir. Yapılan laboratuvar araştırmaları balın *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella enterica* ve *Ser. typhimurium* gibi yaralarda bulunan bakterilere karşı etkili olduğunu göstermektedir (Mundo vd., 2004). Yanıklarda ve enfeksiyonlu yaralarda bal kullanılması yaraların temiz ve steril hale gelmesini sağlamakta, böylece yaraların daha çabuk kapanmasına sebep olmaktadır. Yaraların balla temizlenmesi aynı zamanda yara içinin daha net görülmesini ve ameliyat, dikiş vb. tıbbi müdahale durumunda kolaylık sağlamaktadır (Molan, 2000).

Balın antioksidan, antibakteriyel, antiviral, anti-inflamatuvar gibi pek çok biyolojik aktif özellikleri üzerine yapılan sayısız çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmalarda balın bu biyolojik aktivitesinden sorumlu bileşiklerin fenolik asitler, polifenoller ve flavanollerden ileri geldiği bildirilmektedir (Anklam, 1998; Beratta, vd., 2005; Bogdanov ve Gfeller, 2006; Küçük vd., 2007; Kolaylı vd., 2008; Socha vd., 2009; Liviu Al vd., 2009).



### 1.3. Mantar Zehirlenmeleri

Mantarlar klorofil taşımayan, parazit veya saprofit olarak yaşayan ve sporla üreyen canlı organizmalardır. Sporlar rüzgarla çevreye dağılırlar ve toprakta yıllarca yaşayabilirler. İklim şartları, yani toprağın ve havanın ısı ve nemi, uygun olduğunda bu sporlar çimlenerek bir fruktifikasyon verirler. Bu nedenle yenebilen ve zehirli mantarlar yan yana yetişirler (Baytop, 1996).

Bilinen mantar türlerinin yaklaşık % 4'ünü zehirli türler, % 2'si yoğun ilgi gören yenen türler ve diğer %19'u normal yenilebilir türler oluşturmaktadır. Mantar türlerinin kalan %75'ini oluşturan türler tehlikeli olmasa bile aşırı odunsu, sümüksü, tozumsu ve tüylü olmaları gibi istenmeyen özelliklerinden dolayı yenmez mantar olarak kabul edilmektedir (Hallen, 2002).

Mantarların zehirli olup olmadığı her zaman kesin olarak bilinemez. Bazı türler her zaman toksiktir, fakat meydana getirdiği belirtiler çok değişik olabilir. Bazı türler zaman zaman toksiktir. Bazıları bazı mevsimlerde ve olgunluklarının bazı döneminde zehirlidir (Baytop, 1989).

Türkiye'de mantar zehirlenmelerinin başlıca nedeni halk arasında, özellikle kırsal kesimde, ormanlardan ve çayırardan mantar toplayıp yeme alışkanlığının oldukça yaygın olmasıdır. Bazı yörelerde yabancı mantarlar pazarlarda satılmaktadır. Yenen mantarlar ve zehirli mantarlar yan yana yetişirler ve bazıları birbirine çok benzer. Bunlar ancak bir mikolog tarafından incelenerek ayırt edilebilirler. Bu nedenle, mantarları iyi tanımayan toplayıcılar tarafından kolaylıkla karıştırılabilirler. Mantarın besin değeri hakkındaki yanlış bilgiler ve halk arasında yenen ve zehirli mantarları birbirinden ayırt etmeye yaradığı iddia edilen bazı yanlış inanışlar da zehirlenmelerde rol oynamaktadır (Mat, 2000).

Zehirli bileşiklerin çoğu ısıya dayanıklıdır, pişirmekle ve kaynatmakla veya kurutmakla mantarın zehirliliği ortadan kalkmaz. Ancak bazı zehirli mantar türlerinin toksinleri termolabil olduğu için sıcaklık uygulamasından etkilenip bozulabilir. Örneğin *Gyromitra esculenta*'nın içerdiği giromitrin böyle iken *Amanita phalloides*'in amatoksinleri sıcaklıktan etkilenmez ve mantar pişirilse de kurutulsa da zehirliliğini korur (Kaymakçalan, 1968; Işıloğlu vd., 1995).

Amatoksin gibi toksinleri içeren zehirli mantarları tuzlu suda veya sirkede bekletmek, ayran ve yoğurtla birlikte yemek bu tipteki mantarların zehirliliklerini ortadan

kaldırmaz. Mantarlar zehirlerini başka kaynaklardan (yılanlardan, demirden) almazlar. Toksik veya nontoksik olma canlının kendi genetik özelliği ile ilgilidir (Işıloğlu vd., 1995).

Mantarın lezzeti, zehirli olup olmadıkları hakkında hiç bir fikir vermez. Mesela *Amanita phalloides* ile zehirlenenler çok hoş bir lezzeti olduğunu ifade etmişlerdir (Kaymakçalan, 1968).

Bugüne kadar yayınlanmış zehirlenme vakaları incelendiğinde *Amanita phalloides* mantarının tehlikeli zehirlenmelere yol açtığı ve çoğunun ölümle sonuçlandığı görülmektedir (Mat, 2000).

Işıloğlu ve arkadaşlarının belirttiğine göre Kasım 1994'te İstanbul'da 150'den fazla kişi mantardan zehirlenmiştir. Vakaların dörtte birinin *Amanita phalloides*'ten zehirlendiği bir çoğunun hemoperfüzyon, yüksek dozda penisilin ve destek tedavi uygulanarak kurtarıldığı ancak 20 kadar kişinin hayatını kaybettiği belirtilmiştir (Işıloğlu vd., 1995).

Asuman Baytop, 1990'lı yıllarda İstanbul'da ölümle sonuçlanan zehirlenmelere neden olan mantarın *Amanita phalloides* olduğunu ve belki de *Amanita virosa*'nın bu zehirlenmelere iştirak ettiğini belirtmiştir. Bu iki mantarın, İstanbul'da ve Anadolu'da oldukça sık rastlanan, yenen bir mantar olan ve halk dilinde içi kızıl adı verilen *Agaricus campestris*'e benzetildiğinden, onunla birlikte veya yanlışlıkla yerine toplanmış olabileceğini düşünmüştür. *Amanita phalloides* o yıllarda Belgrat Ormanı ve İstanbul yakınındaki ormanlarda bol miktarda fruktifikasyon verme imkanı bulmuştu (Baytop, 1992).

Ergüven ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, 1994-2004 yılları arasında hastanelerine başvuran 39 pediatrik vakayı incelemişlerdir. 16 vakayı konvensiyonel tedavi, antidot ve hemoperfüzyon kullanımı ile kurtarmışlardır. 7 vakada hepatik koma sonucu ölüm meydana gelmiştir. Vakaların 19 (% 48)'ü *Amanita phalloides* ile 20 (% 52) tanesi de diğer mantarlar ile zehirlenmiştir (Ergüven vd., 2007).

Küçük ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 2002 yılında hastanelerine 41 mantar zehirlenmesi vakası kabul ettiklerini, bunlardan 30'unda destekleyici tedavinin yeterli olduğunu ama 11 hasta için yoğun bakım gerektiğini aktarmışlardır. Hastalardan 5'ini kaybetmişler, 4'ü medikal tedavi gerektirmiş ve 2 hastaya da ortotopik karaciğer transplantasyonu gerçekleştirmişlerdir (Kucuk vd., 2005).

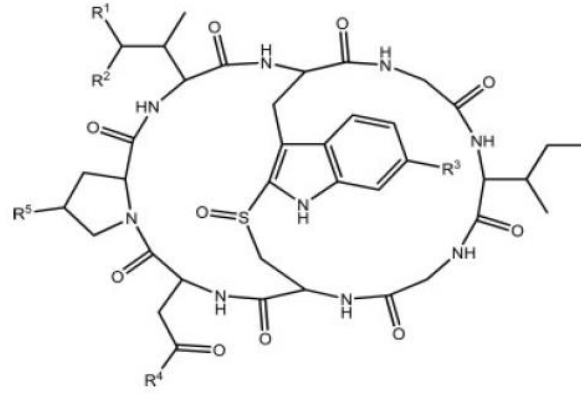
Ecevit ve arkadaşlarının belirttiğine göre Ocak-Aralık 2002 tarihleri arasında Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Acil Servisi'ne mantar zehirlenmesi nedeni ile başvuran 21 olgunun 3'ünü *Amanita phalloides* ile olan zehirlenmeler oluşturmuştur. Her 3 olgu da

fulminan karaciğer yetmezliğine gitmiş ve organ transplantasyonu için sevk edilmiştir. Bu 3 olgu da sevk edildiği kurumda kaybedilmiştir (Ecevit vd., 2004).

Sonuç olarak, Türkiye’de her yıl 100 civarında mantar zehirlenmesi vakasının kayıtlara geçtiğini söyleyebiliriz. Gerçekte ise bu sayı muhakkak ki 100’ün çok üzerindedir, çünkü vakaların hepsi sağlık kuruluşlarına başvurmamaktadır. Zehirlenmeler özellikle sonbahar ve ilkbahar aylarında görülmekte ve yağışlı geçen yıllarda sayı artmaktadır (Mat, 2000).

#### 1.4. $\alpha$ -Amanitin

Bilinen 100 dolaylarında zehirli mantar türü olmakla birlikte bunlardan yaklaşık 8-10 türle görülen zehirlenmeler ölümcül sonuçlar doğurabilmektedir. Amanita mantarları, birçok bölgede yaygın olarak yetişen ve birçok üyesi bulunan bir mantar cinsidir. Bu mantarlar içinde çok lezzetli yenilen mantarlar olduğu gibi çok ciddi zehirlenmelere neden olan bazı türler de bulunmaktadır. Bu türler arasında *Amanita phalloides*, *Amanita verna*, *Amanita bisporigera*, *Amanita virosa*, *Amanita muscaria*, *Amanita panterina*’nın ölümcül zehirlenmelere yol açtığı bilinmektedir (Mat, 2000). Ölümcül zehirlenmelerin en sık nedeni *Amanita phalloides* türüdür (French vd., 2011). Ülkemizde köygöçüren, evciykıkan; dünyada ise ölüm meleği, ölüm şapkası (death cap) gibi isimlerle bilinen bu mantarlarda toksisiteden sorumlu 2 grup toksin tanımlanmıştır. Bunlar amatoksinler ve fallotoksinler olarak adlandırılmıştır (Vetter, 1998). Fallotoksinler, aşırı toksik olmalarına rağmen gastrointestinal sistemden yeterince emilmediğinden toksisitesi klinikte görülmez (Lengsfeld vd., 1974). Ölümden sorumlu olan toksinler, amatoksinlerdir ve amanitinler olarak da isimlendirilirler. Bu grupta alfa, beta, gama ve epsilon amanitin gibi toksinler bulunur. Emilim oranı çok yüksek olduğundan diğer toksinlere nazaran toksisiteden sorumlu olan  $\alpha$ -amanitindir (Letschert vd., 2006). Oktapeptit bisiklik karaktere sahip amanitinin 8 türevi türü olduğu biliniyor (Şekil 1) alpha(a-ama), beta(b-ama), gamma(g-ama)(Rittgen vd., 2008).



Şekil 1. Amatoksinlerin yapısı

Tablo 1. Bilinen amatoksinler

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	Moleküler Formül	M <sub>R</sub>
α-Amanitin	CH <sub>2</sub> OH	OH	OH	NH <sub>2</sub>	OH	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>14</sub> S	918.97
β-Amanitin	CH <sub>2</sub> OH	OH	OH	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>9</sub> O <sub>15</sub> S	919.95
γ-Amanitin	CH <sub>3</sub>	OH	OH	NH <sub>2</sub>	OH	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>13</sub> S	902.97
ε-Amanitin	CH <sub>3</sub>	OH	OH	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>9</sub> O <sub>14</sub> S	903.96
Amanullin	CH <sub>3</sub>	H	OH	NH <sub>2</sub>	OH	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub> S	886.97
Amanullin acid	CH <sub>3</sub>	H	OH	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>9</sub> O <sub>13</sub> S	887.96
Proamanullin	CH <sub>3</sub>	H	OH	NH <sub>2</sub>	H	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub> S	870.97
Amanin	CH <sub>2</sub> OH	OH	H	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>9</sub> O <sub>14</sub> S	903.96

Alfa-amanitin emilimden sonra karaciğer tarafından hızla alınır. Karaciğere alınmasında safra asidi transport sisteminin rol oynadığı ileri sürülmektedir (Kröncke vd.,1986). Toksin hepatositlerde hücre çekirdeğine girerek RNA Polimeraz II enzimine bağlanır ve bu enzimin aktivitesini durdurur (Gong vd., 2004). Bu enzim protein sentezindeki ilk basamak olan transkripsiyonu katalize ettiğinden zehirlenme durumunda hücredeki tüm protein sentezi durur. Daha önceden üretilmiş olan proteinler hücrenin bir süre daha canlı kalmasını sağlar. Sonuçta 3-7 gün içerisinde karaciğer yetersizliğine bağlı olarak ölüm görülür (Buku vd., 1971). Eğer toksin düşük düzeyde alınmışsa karaciğer rejenere olarak hasta sekelsiz olarak kurtulabilir. Alfa amanitinin bilinen spesifik bir inhibitörü yoktur, fakat tedavide penisilin, silibilin tioktik asit ve aucubin gibi bazı ajanlar kullanılabilir ancak etkinlikleri tartışmalıdır (Tong vd., 2007; Özbek vd., 2008).

Yüksek düzeyde toksin alınması durumunda ya ölüm görülmekte ya da karaciğer transplantasyonu tek çare olarak görülmektedir (Ganzert vd., 2005). Deney hayvanlarında LD<sub>50</sub> dozları belirlenmiş olmasına rağmen insanlarda tehlikeli toksin düzeyi kesin olarak bilinmemektedir (Zhao vd., 2006).

Yapılan araştırmalarda farklı bölgelerde yetişen *Amanita phalloides* mantarlarındaki alfa amanitin düzeylerinin farklı olduğu görülmektedir. Aynı mantar içindeki farklı kısımlarda da toksin dağılımının farklı olduğu bilinmektedir. En yüksek toksin oranı şapka ve lamel bölümlerinde ölçülmüştür (Mcknight vd., 2010). Alfa amanitin ölçümünde birkaç yöntem olmasına rağmen altın standart yöntem HPLC ile analiz olarak görülmektedir. Alfa amanitinin analizi için HPLC’de yerleşmiş bazı yüksek duyarlılıklı yöntemler kullanılmaktadır (Defendenti vd., 1998).

### 1.5. Karaciğer

Karaciğer vücudun en büyük iç organı olup aynı zamanda en büyük dış ve iç salgı yapan bezidir. Karın boşluğunun yukarı sağ kısmında, diyafragmanın hemen altında, mide ve bağırsakların hemen üstündedir (Aslan, 2010). İnsan karaciğeri, vücudun en büyük solid organıdır ve doğumda yaklaşık 150 g kadardır. Karaciğer yetişkinlerde 1400-1600 g ağırlığında olup, vücut ağırlığının yaklaşık 1/50’si kadardır. Karaciğerin ağırlığı erişkin erkeklerde 1,4-1,8 kg, erişkin kadınlarda da 1,2-1,4 kg’dır. Karaciğerin ağırlığı yaş, cinsiyet, somatotip ve sağlık durumu ile bağlantılıdır (Bozbıyık, 2011). Uzunluğu 25-30 cm, sağ tarafta önden arkaya uzunluğu 14-16 cm, yüksekliği 8 cm kadardır (Yaprak vd., 2010).

Karaciğer, sağ ve sol olmak üzere iki lobdan oluşmaktadır. Ayrıca sağ lobun alt yüzünde iki küçük lob daha bulunmaktadır (Erten, 2009). İlk bakışta karaciğer, geniş bir sağ ve nispeten daha küçük bir sol lobdan oluşmuş gibi görünmekle birlikte, gerçekte karaciğer sağ ve sol loblarının boyutu birbirine yakındır. Lobları birbirinden anatomik olarak ayıran hat da aslında safra kesesi yatağından başlayıp inferior vena kava çukuruna uzanan ‘medianfissür’ (Rex-Cantlie çizgisi) adlı hattır (Bozbıyık, 2011).

Karaciğerin üst, arka ve alt olmak üzere üç yüzü bulunmaktadır. *Facies diafragmatika* da denilen üst yüzü periton ile örtülü ve diafragmanın alt yüzü ile komşudur. Karaciğerin alt yüzü diafragmaya yapışık olmadığı için serbesttir. Bu yüzü diafragmaya bağlayan ligamentum falsiforme hepatis, karaciğerin bu yüzünü lobus hepatis dekster ve

sinister olmak üzere iki parçaya ayırmaktadır. Karaciğerin arka yüzünde periton yoktur. Burası fibröz bağ doku ile diafragmaya tutunmuştur. Aşağı arkaya ve sola bakan alt yüz karın iç organları ile komşuluk yapar. Bu yüzde porta hepatis bulunmaktadır. Bilindiği gibi karaciğere giren, çıkan oluşumların çoğu (vena porta, arteria hepatica propria, safra yolları, lenfatikler ve sinirler) porta hepatisinden geçmektedir. Porta hepatisin önünde lobus kuadratus, arkasında lobus caudatus bulunmaktadır (Aslan, 2010; Okur, 2011).

Portal ven, mezenterik ven ile splenik venin pankreas arkasında birleşme yerinden çıkar. Portal ven yukarı doğru seyrederken porta hepatisin sağ ve sol dallara ayrılmadan önce sol gastrik venler ve birkaç küçük ven alır. Sağ portal ven karaciğere girer girmez anterior ve posterior dallara ayrılır, dolayısıyla bu dallar diseksiyon sırasında kolayca yaralanabilirler. Sol portal ven daha küçük ve daha uzundur. Medial ve lateral dallara bölünmektedir (Zinner ve Ashley, 2010).

Karaciğerin venöz drenajı üç hepatik ven aracılığıyla olmaktadır. Hepatik venler, hepatik arter ve portal venin aksine, lob ve segmentler arasındaki planda bulunmaktadır. Sağ hepatik ven segment V,VI,VII,VIII'i drene eder ve doğrudan vena cavaya dökülür. Orta hepatik ven segment IV,V ve VIII'i drene eder ve segment II ve III'ü drene eden sol hepatik ven ile ortak bir ağız aracılığı ile vena cavaya açılır (Zinner ve Ashley, 2010; Brunicardi vd., 2010; Bozbıyık, 2011).

Karaciğer başlıca 4 ayrı yapı elemanından oluşmaktadır. Bunlar hepatositler, safra sistemi, damarlar ve bağ dokusudur. Hepatositler karaciğer esas hücreleri olup, birçok sistemin yürütülmesinden sorumludur (Yılmaz, 2010). Hepatosit vücudun çok yönlü özelliği en fazla olan hücrelerdir. Bu hücreler hem iç hem de dış salgılama işlevlidir, bazı maddelerin sentezini yapmakta ve biriktirmekte, bazılarını detoksifiye etmekte, bazılarını da taşımaktadır (Yıldız, 2011).

Safra sistemi hepatositler arasında safra kanalikülleri olarak başlamakta ve duodenumda ampullavater ile sonlanmaktadır. Karaciğere iki damar sistemi ile kan taşınmaktadır. Portal ven ile özefagus dışı bütün gastrointestinal sistemin, pankreas ve dalağın venöz kanları doğrudan karaciğere taşınmaktadır. Hepatik arterile bol oksijenli ve yüksek basınçlı kan karaciğer kapiller damarları olan sinüzoidler ile karışarak hepatositlerin beslenmesini sağlamaktadır (Yılmaz, 2010; Bayram, 2010).

Portal ven karaciğer kan akımının %70-75' ini ve oksijen desteğinin %50- 55'ini sağlamaktadır. Portal ven, mide, ince bağırsak, kalın bağırsak, pankreas ve dalağın ven

özkanını drene eden süperior ve inferior mezenterik venler ile splenik ven tarafından oluşturulmaktadır (Aslan, 2010).

### 1.5.1. Karaciğerin İşlevi

Karaciğer yaşam için hayati bir organdır. Çünkü sindirim sistemi ile venöz drenaj arasında bir köprü görevi yapmaktadır. Karaciğerin başlıca fonksiyonları: Metabolik yolda üretilen atıkların detoksifikasyonu (aminoasitlerin deaminasyonu sonucu üre oluşumu gibi), dalak ile birlikte, hasarlı eritrositlerin kandan uzaklaştırılması, safra sentezi ve sekresyonu, albumin ve pıhtılaşma faktörleri gibi plazma proteinlerinin sentezi (karaciğerde pıhtılaşma faktörlerinden II, VII, IX, X, fibrinojen, trombin ile plazma proteini olan albümin sentezlenir), plazma lipoproteinlerinin sentezi, metabolik fonksiyon olarak glikojen sentezi, glukoneogenezis, glikojen, lipid ve bazı vitaminlerin depolanması, birçok ilaç ve toksinin detoksifikasyonudur (alkolün detoksifikasyonu gibi) (Aslan, 2010). Aynı zamanda karaciğer, tiroid, steroid ve diğer hormonların başlıca katabolizma yeridir ve plazma hormon düzeylerinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Yıldız, 2011). Bunların dışında karaciğerin kanın pıhtılaşmasında, karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasında önemli rolleri de bulunmaktadır (Erten, 2009).

Safranın %90'ını safra tuzları oluşturmaktadır. Safra tuzları ile beraber safra içerisinde su, elektrolitler (Na, K, Cl, Mg), fosfolipitler, kolesterol, lesitin ve bilirubin de bulunmaktadır. Safra asitleri sindirim sisteminde lipidlerin emülsiyon haline getirilmesinde önemli bir işlev göyerek bunların lipaz ile sindirilmesini ve ardından emilmesini sağlamaktadır. Erişkin bir insan karaciğeri günde ortalama bir litre safra üretmektedir. Safra akışı, sekretin, kolesistokinin, gastrin gibi hormonlar tarafından düzenlenmektedir.

Hepatositler sekretuar komponent olan immünglobülin moleküllerini sürekli olarak sentezlemekte ve kendi hücre membranlarındaki sinüzoidal alanlara salgılamaktadırlar. IgA reseptör bağımlı endositozla kandan alınmakta, hepatositler tarafından safra kesesi kanalına transfer edilmekte ve gastrointestinal lümene salınmaktadır. Böylece bakteriyel floraya karşı savunma sağlanmış olur.

Hemoglobinin parçalanması sonucu meydana gelen bilirubin, mononükleer fagosit sisteminde oluşur ve hepatositlere taşınır. Hepatositlerin düz endoplazmik retikulumda hidrofobik bilirubin, glukronik asitle konjuge edilir ve suda çözünebilen bilirubin

glukuronid oluşur. Daha ileri aşamada bilirubin glukuronid safra kanallıkları içine salgılanır (Aslan, 2010).

## 1.6. Karaciğer Hastalıkları

Karaciğer hastalıkları özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli ve büyük ölçüde ihmal edilen bir sağlık sorunudur (Cainelli, 2012).

Tablo 2. Karaciğer hastalıkları (Baysal, 2008).

Hepatit	Karaciğer Yağlanması	Karaciğer Sirozu
Akut	Alkolik olan	
Kronik	Alkolik olmayan	

Hepatit, nihai etkisi hepatik yangı ve hepatik hücre nekrozu sonucu karaciğer hasarı olan, çok sayıda etiyolojik faktörün rol oynadığı bir sendromdur (Marsano, 2003). Kronik hepatit, karaciğer yangısının 6 aydan daha uzun süre devam ettiği, etiyolojik, klinik ve patolojik açılarından tanımlanan klinik ve patolojik bir sendromdur. Hepatit sebepleri çok farklı olup başlıca nedenler arasında viral enfeksiyonlar, bakteriyel veya fungal enfeksiyonlar, immün bozukluklar, metabolik hastalıklar, hepatik perfüzyon veya oksijenasyon bozuklukları, ilaçlar, çevresel ya da endüstriyel toksinler veya kimyasal maddelerin ve alternatif tıp amacıyla kullanılan maddelerin yaptığı hasara bağlı nedenler sayılabilir. Kronik hepatitler genellikle asemptomatiktir. Seyri sırasında ayırıcı tanıya izin vermeyen özgül olmayan semptomlar görülmektedir. Bunlar arasında halsizlik, yorgunluk, aktivite azalması, iştahsızlık, kilo kaybı, üst abdominal rahatsızlık hissi, uyku bozukluğu, konsantrasyon güçlüğü, flatulans, ateş, eklem ağrıları ve kaşıntı sayılabilir. İlerlemiş hastalık ya da akut alevlenme dönemlerinde bulantı, kusma, şiddetli düşünlük hali, sarılık, kaşıntı ve idrar renginde koyulaşma görülebilir. Kronik hepatitli bir hastada karaciğer hastalığının klinik bulguları da genellikle çok azdır. Sadece hafif bir sağ üst kadranda hassasiyeti görülebilir (Bayram, 2010; White ve Dehner, 2004).

Kronik karaciğer hastalıkları; hepatosellüler hasar ile karakterize olup, genellikle karaciğer fibrozisi ve sirozu ile sonuçlanmaktadır (Armbrust vd.,1997). Siroz; karaciğerin



anatomik yapısının fibrozis ve nodülleşme sonucu bozulmasıdır. İlerleyici ve kronik bir karaciğer hastalığıdır.

### 1.7. Siroz

Karaciğer sirozu, karaciğer yapısının yaygın olarak hepatoselüler nekroz, rejenerasyon ile bozularak değişmesi sonucu meydana gelen ilerleyici geri dönüşümsüz bir hastalıktır (Kasper vd., 2004; Memik ve Dolar, 2005). Hepatositlerin ölümüne yol açan uzun süreçler, fibrozis ve rejenerasyonla birlikte olduklarında siroz ortaya çıkar.

Siroza neden olan başlıca durumlar; kronik viral hepatitler, alkolik karaciğer hastalığı, safra yolu hastalıkları, primer hemokromatozis, Wilson hastalığıdır. Bazı sirozların nedeni idiyopattir yani sebebi bilinmemektedir. Ülkemizde karaciğer sirozunun başlıca nedeni viral hepatitlerdir. 1994-1997 yıllarını kapsayan 4 yıllık dönemde, 393 vakalık karaciğer sirozu serisinde, viral hepatitlerin % 60, alkolün % 11, alkol+viral hepatitin % 4, diğer nedenlerin (Otoimmün hepatit, biliyer sirozlar, metabolik nedenler v.b.) % 9 oranında rol oynadığı saptanmış ve % 16'sında herhangi bir neden bulunamamıştır (Kriptojenik siroz). Viral hepatitlerden HBV'nun katkısı % 42,6, HCV'nun katkısı % 34,5 ve HDV'nun katkısı ise % 15,7 bulunmuştur (Memik ve Dolar, 2005).

Sirozun oluşum hızı ve seyri, etiyolojiye göre değişiklik gösterir. Alkol kullananlarda siroz, yavaş olarak ve uzun vadede ortaya çıkar. Önceleri karaciğer yağlı ve büyüktür. Yüzeyi düzgün, sarı kahverengi ve yağlı olup kesitinde mikronodüler siroz paterni (1-3 mm çaplı nodüller) görülür. Fibroz artışıyla yağ miktarı azalır ve karaciğer daha kahverengi bir hal alır. İlerleyen dönemlerde karaciğer hücre rejenerasyonuna bağlı olarak dağınık ve daha geniş nodüller gelişir. Skar doku genişler ve makronodüler siroz ortaya çıkar. Karaciğer küçülür ve normal karaciğere göre ağırlığı azalır, hatta 1 kg'ın altına bile inebilir. Skar dokunun oluşumu ve rejenerasyon normal lobül yapısını bozarak ilerler, karaciğer parankimi azalır, fibroz daha da belirginleşir. Hepatositlerde hala bir miktar yağ bulunur ve alkolik hepatite bağlı değişiklikler de eş zamanlı olarak görülebilir (Kumar vd., 1994).

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Cihazlar

Çalışmalarımızda kullanılan temel cihazlar Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Çalışmalarda kullanılan cihazlar

Cihaz	Marka/Model
UV-VIS spektrofotometre	Spectro UV-VIS Double PC-8 auto cell, Labomed Inc, Culver City, USA
Dondurucu	Joun sa Deep Freezer VXE490, Czech Republic
Homojenizatör	Ika-Werke, Ultra Turrax <sup>®</sup> T25 Basic, Germany
Santrifüj	Hettich, 1406 Type, Universal 320R, Germany
Vorteks karıştırıcı	Heidolph, Reaxtop Vorteks Karıştırıcı
Su banyosu	Nüve, ST 402
Magnetik karıştırıcı	Heidolph MR 3001, Germany
Etüv	Binder ED 53, Germany
Sıçan terazisi	Kern-Sohn-GmbH, PCB-800-1, Germany
Otoanalizör	Siemens Advai 2400, Germany
Yarı otomatik pipetler	Scorex

### 2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmalarımızda kullanılan temel kimyasal maddeler Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan temel kimyasallar

Kullanılan Kimyasal	Satın Alındığı Firma
Silibinin	Sigma Aldrich, Germany
Folin-Ciocalteu's phenol reaktifi	Merck, Germany
Trolox <sup>®</sup> (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil kroman-2-karboksilik asit)	Applchem (Darmstadt, Germany)
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Fluka (Buchs, Switzerland)
HCl	Merck, Germany
Sodyum karbonat (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	Merck, Germany
KCl	Merck, Germany
Sodyum asetat (CH <sub>3</sub> COONa.3H <sub>2</sub> O)	Merck, Germany
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Merck, Germany
TPTZ	Merck, Germany
Gallik asit	Sigma Aldrich, Germany
Metanol	Sigma Aldrich, Germany
Etanol	Sigma Aldrich, Germany
Asetik Asit	Sigma Aldrich, Germany
NaOH	Sigma Aldrich, Germany
Fosfotungustik asit	Sigma, St Louis, MO, USA
1,1,3,3-Tetrametoksipropan	Sigma Aldrich, Germany
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Merk, Germany
Na-K Tartarat	Merk, Germany

### 2.3. Kullanılan Çözeltiler

Çalışmalarımızda kullanılan temel kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Çalışmalarda kullanılan bazı çözeltiler ve hazırlanışları

Çözeltiler	Hazırlanışı
0,5 N Folin-Ciocalteu	2 N Folin reaktifinden 1:4 oranında distile suyla seyreltilerek hazırlanır.
Trolox <sup>®</sup>	12,65 mg Trolox <sup>®</sup> 50 mL'ye etanolle tamamlanır.
FRAP	250 ml Asetat Tamponu : 25 ml TPTZ : 25 ml FeCl <sub>3</sub> karıştırılarak ve taze olarak hazırlandı.
TPTZ	78,083 mg TPTZ stok maddeden tartılıp, 25 mL 40 mM'lık HCl içinde çözülür .
Asetat Tamponu	0,775 g NaCH <sub>3</sub> COO.3H <sub>2</sub> O üzerine 4 mL glasiyel asetik asit ilave edilir. 250 mL'ye distile suyla tamamlanır.
40 mM HCl	% 37'lik HCl'den 340 µL alınır, son hacmi 100 mL' ye distile suyla seyreltilir.
20 mM FeCl <sub>3</sub>	324,4 mg FeCl <sub>3</sub> distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.
0,084 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	% 98' lik H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> den 570 µL alınır. İçinde bir miktar distile su bulunan 250 mL'lik balon jöjeye pipetlerin ve hacmi 250 mL'ye tamamlanır.
% 10' luk Fosfotungustik asit	H <sub>3</sub> (W <sub>3</sub> O <sub>10</sub> ) <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O'dan 0,5 g tartılıp bir miktar distile suda çözülür, 4,5 mL'ye distile suyla tamamlanır.
100 nmol/ml'lik 1,1,3,3Tetrametoksipropan (TMP) standardı	164,7 µL TMP alınır, 0,1 N HCl ile çözerek hacmi 100 mL'ye seyreltilir, 50°C'da 1 saat inkübe edilir. Bu uzun süre saklanabilir. Bundan distile suyla seyreltilme yoluyla istenilen konsantrasyonlar elde edilir.
Trikloroasetikasit (TCA)	Trikloroasetikasit (TCA) 14 g TCA bir miktar distile suda çözülüp, 50 mL'ye distile suyla tamamlanır.
Fosfat tamponu (pH=7,0 ; 50 mM)-Katalaz için	6,81 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> distile suda çözülerek son hacmi 1 L'ye tamamlanır. 8,9 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O distile suda çözülerek son hacmi 1 L'ye tamamlanır. Bu çözeltiler sırasıyla 1:1,5 oranında karıştırılır ve pH=7,0 'ye ayarlanır.
Hidrojen Peroksit	240 µL %30'luk H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'den alınarak son hacim fosfat tamponu ile 50 mL'ye tamamlanır (Günlük hazırlanır).

#### 2.4. Numunelerin Temini

Çalışmada kestane balı ve kestane poleni kullanıldı. Bal ve polen örnekleri Zonguldak Arıcılar Birliğinden temin edildi. Örneklerin orijin tespitinde mikroskopik palinolojik test Prof. Dr. Sibel Silici tarafından (Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi) yapıldı.

## **2.5. Deney Hayvanları**

Çalışmanın planlanması aşamasında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna başvuruldu, alınan etik kurul kararı doğrultusunda çalışma planlandı. Devam eden süreçte etik kuruldan alınan izine binaen çalışmanın bazı kısımları revize edildi ve son şekli verildi.

Bu çalışmanın deneysel hayvan çalışmaları kısmı; Karadeniz Teknik Üniversitesi, Cerrahi Araştırmalar Merkezi'nde gerçekleştirildi. Deneylerde bu merkezden temin edilmiş, ağırlıkları 200-300 g arasında olan 35 adet Spraque dawley tipi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, deneye başlamadan önce kafes ortalaması eşit olacak şekilde seçilen yedi adet sıçandan oluşan, tel kapaklı plastik kafeslere alındı. Sıçanlar  $22 \pm 2$  °C'de, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık ortamda ve standart kafeslerde barındırıldı. Sıçanlar standart sıçan yemi ve çeşme suyuyla beslendi. Deney süresince yem ve su alımı serbest bırakıldı.

## **2.6. Numunelerde Yapılan Analizler**

### **2.6.1. Ekstraktların Hazırlanması**

Yaklaşık 5 g polen tartıldı. Üzerine 25 mL metanol eklendi. 1 gün boyunca çalkalayıcıda çalkalandı. Daha sonra adi süzgeç kağıdı kullanılarak süzüldü ve belli hacimlere metanol ile tamamlandı.

Bal ekstraktı hazırlamak için 5 g bal tartıldı. Üzerine 25 mL metanol eklendi. 1 gün boyunca çalkalayıcıda çalkalandı. Daha sonra adi süzgeç kağıdı kullanılarak süzüldü ve belli hacimlere metanol ile tamamlandı. Elde edilen metanolik süpernetantlardan toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite tayinleri yapıldı.

Sıçan çalışmalarında kullandığımız bal ve polen 800 mg/kg olacak şekilde saf suyla hazırlandı.

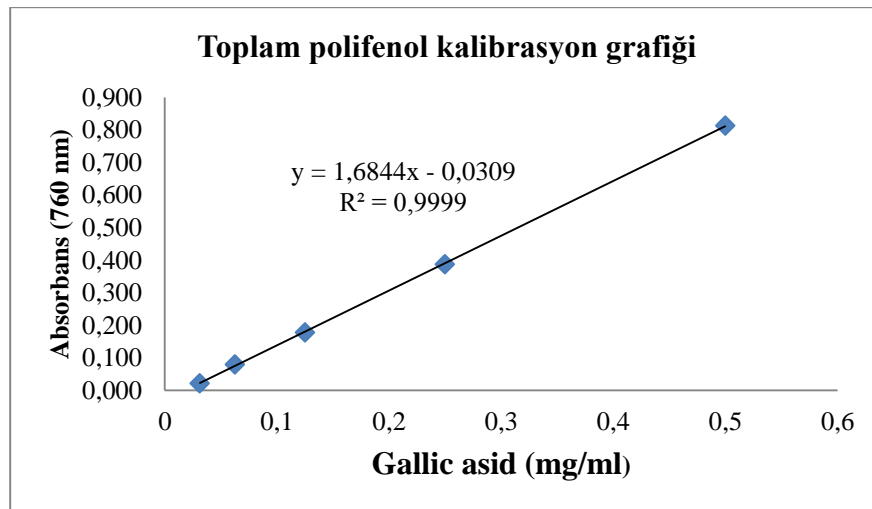
## 2.6.2. Toplam Fenolik Madde Tayini

Yöntem, suda ve organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin folin reaktifleri ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan mor-menekşe renkli kompleks 760 nm’de maksimum absorbands oluşturur (Slinkart ve Singleton, 1977).

Çalışmada, standart grafiğin hazırlanmasında, fenolik bir madde olan gallik asit standardı kullanıldı. Gallik asidin farklı konsantrasyonları (0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 ve 0,03125 mg/mL) hazırlanıp, absorbandsları okundu. Konsantrasyona karşılık bulunan absorbands değerleri ile grafik çizildi. Çizilen grafiğe göre bal ve polen numunelerinin toplam fenolik madde miktarı bulundu. Analizi için gerekli olan pipetleme işlemleri Tablo 6’da verilmektedir. Elde edilen standart çalışma grafiği ise Şekil 2’de gösterilmektedir.

Tablo 6. Toplam fenolik madde tayini için deney şartları

	Reaktif Kör	Standart	Deney
Standart (değişik konsantrasyonlarda)	-	20 µL	-
Numune	-	-	20 µL
Destile su	700 µL	480 µL	680 µL
		400 µL	400 µL
Tüpler vorteks ile karıştırılır.			
% 10 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	400 µL	400 µL	400 µL
760 nm’de tanımlanmış deneye karşı absorbands okunur.			



Şekil 2. Toplam polifenol kalibrasyon grafiği

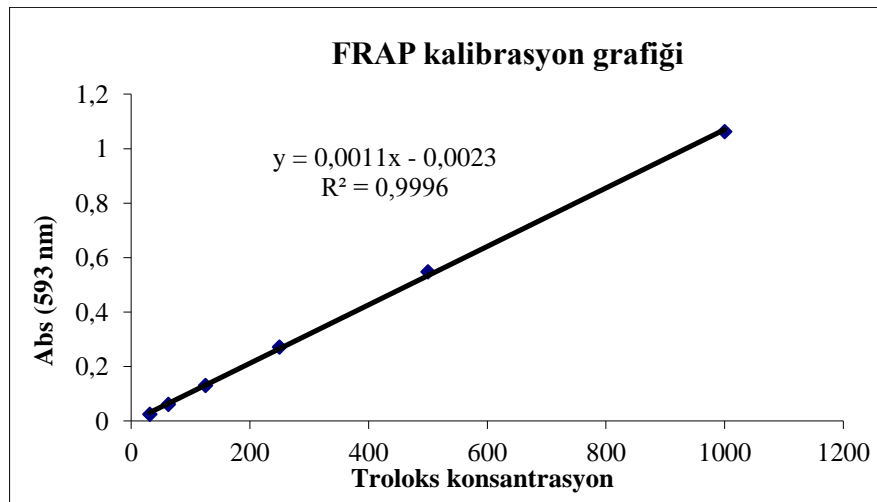
### 2.6.3. FRAP Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

Yöntem, Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tris (2-piridil)-S-triazin) kompleksinin antioksidanlar varlığında indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşturması ve bu kompleksin 593 nm’de maksimum absorbanı vermesi esasına dayanmaktadır (Benzie ve Strain, 1999). FRAP yöntemi nispeten basit bir yöntem olup, kolaylıkla standardize edilebilmektedir. Bitkisel ekstraktlardaki antioksidan kapasitenin ölçülmesinde FRAP Fe (III) indirgeme gücü (Ferrik reducing/antioksidan power) metodu geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Benzie ve Strains, 1996).

Kalibrasyon için Troloks<sup>®</sup>’un değişen konsantrasyonları (31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000 µM) kullanılarak çalışma eğrisi hazırlandı. Tayin için yapılan pipetmeler Tablo 7’de ve standart FRAP değerleri Şekil 3’de özetlendi.

Tablo 7. FRAP yöntemi için deney şartları

	Reaktif Kör	Standart	Numune
FRAP reaktifi	3 mL	3 mL	3 mL
Numune	-	-	100 µL
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	-	100 µL	-
Metanol	100 µL	-	-



Şekil 3. FRAP testi için kalibrasyon grafiği

#### 2.6.4. DPPH Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

DPPH<sup>•</sup> radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir radikal olup denemelerde satın alınan bu radikalın 100 µM'lık metanolik çözeltisi kullanıldı. Elde edilen özütler değişik konsantrasyonlarda hazırlandı. Eşit hacimde (750 µL ) DPPH<sup>•</sup> çözeltisi ve numune çözeltileri karıştırılıp oda sıcaklığında 50 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda DPPH<sup>•</sup>'ın maksimum absorbanı verdiği 517 nm'de absorbanlar okundu. Kör olarak DPPH<sup>•</sup> çözeltisi ve numunenin çözüldüğü çözücü kullanıldı. Bulunan absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek SC<sub>50</sub> değerleri mg/ml cinsinden hesaplandı (Potterat vd., 1997). Tablo 8'de DPPH radikalının tayin edilen için gerekli pipetlemeler gösterilmektedir.

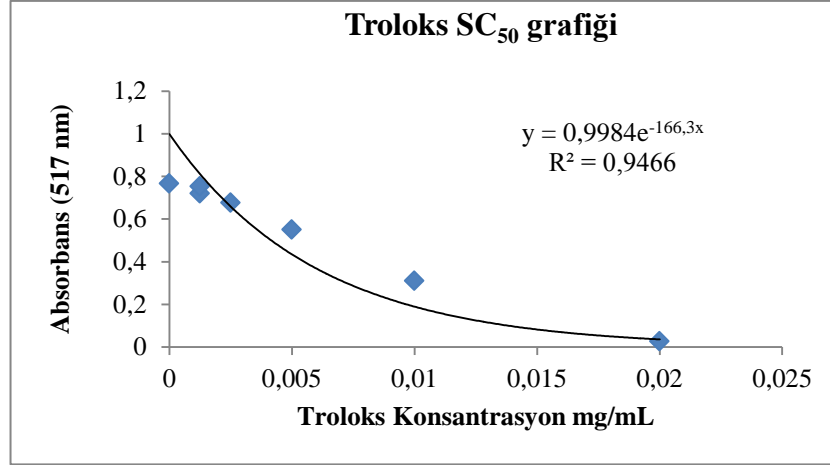
Tablo 8. DPPH yöntemi için deney şartları

	Reaktif Kör
Standant ve Numune (Değişen konsantrasyonlarda)	-
DPPH	750 µL
Çözücü	750 µL

#### 2.6.5. SC<sub>50</sub> Değerinin Bulunması

SC<sub>50</sub> radikalın (DPPH<sup>•</sup>) % 50'sini temizleyen numune miktarı olup SC<sub>50</sub> değerinin bulunması için en az 3 farklı konsantrasyonlarda çalışmak gerekir. Bu nedenle çalışmalarda 5 farklı konsantrasyonda ölçüm yapıldı. Numunelerin yeterli miktarda farklı konsantrasyonu hazırlanıp absorban ölçümleri yapıldı ve absorbanlar konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi. Maksimum absorbanın yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarı SC<sub>50</sub> değerini vermektedir. SC<sub>50</sub> değeri mg/mL veya mM gibi birimlerde ifade edilmektedir.





Şekil 4. DPPH tayininde kullanılan Troloks standartının SC<sub>50</sub> grafiği

## 2.7. Deneysel Hayvan Çalışmaları

Bal ve polenin sulu, silibinin etanollü ekstraktları hazırlandı. Hayvanlara verilecek olan dozlar bal ve polen için 800 mg/kg ve silibinin için 25 mg/kg olarak ayarlandı.  $\alpha$ -amanitin standardı ultra saf suyla seyreltilerek hazırlandı ve 32  $\mu$ L/kg olarak uygulandı. Çalışma için 7 grup oluşturuldu ve toplam 35 sıçan kullanıldı (n=7).

### 2.7.1. Deney Grupları ve Uygulamalar

Grup I (7 sıçan): (Serum fizyolojik kontrol grubu) Sıçanlara periton içi (intreperitonal: i.p.) yolla, karnın sol tarafına, on bir gün boyunca 0,2 mL serum fizyolojik (SF) verildi (0,8 mL/kg).

Grup II (7 sıçan): (Amanitin grubu) Sıçanlara i.p. yolla, karnın sağ tarafına, üç gün boyunca 0,15 mg/kg amanitin verildi. Arkasından sekiz gün boyunca karınlarının sol tarafına 0,2 mL serum fizyolojik (SF) verildi.

Grup III (7 sıçan): (Bal grubu) Sıçanlara i.p yolla, karnın sağ tarafına, üç gün boyunca 0,15 mg/kg amanitin verildi. Arkasından sekiz gün boyunca gavaj yoluyla 800 mg/kg dozunda suda çözülmüş bal sıçanlara verildi.

Grup IV (7 sıçan): (Polen grubu) Sıçanlara i.p yolla, karnın sağ tarafına, üç gün boyunca 0,15 mg/kg amanitin verildi. Arkasından sekiz gün boyunca gavaj yoluyla 800 mg/kg dozunda suda çözülmüş polen sıçanlara verildi.

Grup V (7 sıçan): (Silibinin grubu) Sıçanlara i.p yolla, karnın sağ tarafına, üç gün boyunca 0,15 mg/kg amanitin verildi. Arkasından sekiz gün boyunca etil alkolde hazırlanmış silibinininden 25 mg/kg dozunda karnın sol tarafına verildi.

### 2.7.2. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlığı Ölçümü

Sıçanların ilk gün ve son gün olmak üzere vücut tartımları  $\pm 0,1$  hassasiyette elektronik tartı ile alınmıştır. Sıçanlardaki ağırlık değişimleri, çalışmanın ilk günü tespit edilen başlangıç değerlerine göre, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Ağırlık değişim oranı} = 100 \times (\text{Ağırlık}_{(\text{son})} - \text{Ağırlık}_{(\text{ilk})}) / (\text{Ağırlık}_{(\text{ilk})})$$

Ağırlık<sub>(son)</sub>: Son gün ölçülen ağırlık (g)

Ağırlık<sub>(ilk)</sub>: İlk gün ölçülen ağırlık (g)

### 2.7.3. Dekapitasyon, Materyallerin Alınması ve Ön İşlemler

Son uygulamadan 24 saat sonra (12. gün) tüm gruptaki sıçanlar dekapitasyon yapılarak feda edildi. Giyotinle dekapite edilir edilmez cam huni kullanılarak kanlar % 3,2'lik sodyum sitrat içeren tüplere akıtılarak kan örnekleri alındı. Zaman kaybedilmeden karıştırılarak antikoagülan madde ile kanın karışması sağlandı. Sıçanların karaciğerleri çıkarıldı. Karaciğer biyokimyasal çalışmalar için kullanılacak olup, karaciğer parçaları soğuk % 1,15'lik KCI ile yıkandı ve % 1,15'lik KCI içerisinde muhafazaya alındı. Daha sonra buzlu bir su banyosu içinde homojenizatörde (17500 L/dak.) homojenize edildi. Santrifüj tüplerine alınan homojenat, soğutmalı santrifüjde 4000 rpm'de 15 dak. santrifüj edildi. Süpernatant kısımları eppendorflara alındı ve -80 °C'daki dondurucuda saklandı.

Kanlar 2500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilip plazmaları pastör pipeti ile eppendorflara alındı. Elde edilen plazmalar -80°C'daki dondurucuda saklandı.

Plazma eldesinde dipteki çökelti üzerine eşit miktarda serum fizyolojik eklendi, karıştırıldı ve 2500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Üst kısım atıldı. Bu işlem 3 kez yinelendi. Dipteki çökelti üzerine 1,5 katı kadar soğuk saf su eklendi, karıştırıldı ve bu şekilde eritrosit paketleri elde edildi.

## **2.8. Biyokimyasal İncelemeler**

Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotranferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH), kreatin kinaz (CK), üre (BUN), toplam protein (TP), kreatinin ve albumin değerleri otoanalizörde ölçüldü. Malondialdehit (MDA) ve katalaz (CAT) tayini spektrofotometrede belirlendi.

### **2.8.1. Lipit Peroksidasyon Seviyesinin Ölçülmesi**

Lipit peroksidasyonun yıkım ürünlerinden olan MDA'nın, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır. İki mol TBA asidik ortamda ve 85-100 °C sıcaklıkta bir mol MDA ile birleşerek mor renkli TBA-MDA kompleksini oluşturur (Ohkawa, 1979).

#### **2.8.1.1. Karaciğer Dokusunda MDA Seviyesinin Ölçülmesi**

Karaciğer homojenatlarında MDA seviyeleri Mihara ve Uchiyama'nın (1978) spektrofotometrik metoduna göre yapıldı. Daha önce hazırlanan ve -80 °C'da bekletilen homojenatlar -20°C'lik dolaba alındı. Bu ara bekleme bölmesinden sonra çıkarılarak çözdürüldü ve bekletilmeden işleme geçildi. 0,5 mL homojenat alındı. Üzerine 3 mL %1'lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> eklenerek karıştırıldı. Daha sonra 1 mL % 0,67'lik tiyobarbitürik asit (TBA) eklendi ve karışım 45 dakika kaynayan su banyosunda tutuldu. Karışım oda sıcaklığında 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve 532 nm'de absorbansı okundu.

Standartların hazırlanmasında 1,1,3,3-Tetrametoksipropan kullanıldı. 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 nmol/mL'lik standartlardan ve körden (saf su) 0.5 mL alınıp üzerlerine H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ve TBA eklendi, su banyosunda 45 dakika bekletilip 532 nm'de absorbansı mikro plate okuyucuda okundu. Sonuçlar nmol MDA/mL homojenat olarak ifade edildi.

### 2.8.1.2. Plazmada MDA Seviyesinin Belirlenmesi

Daha önce elde edilmiş ve  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da bekletilen plazmalar  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'lik dolaba alındı. Bu ara bekleme bölmesinden sonra çıkarılarak çözdürüldü ve bekletilmeden işleme (Yagi, 1994) geçildi.

Tablo 9. Plazmada lipit peroksidasyon seviyesinin ölçülmesi için yapılan pipetleme işlemleri

Reaktifler	Numune (mL)
Plazma	0,15
0,084 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,2
% 10'luk Fosfotungstik asit	0,15

Hafif vortekslenerek 5 dakika beklendi. 1500 g (4600 rpm)'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz atıldı. Çöken kısım 2'şer mL deiyonize su ilavesiyle vortekslenerek tekrar çözüldü. Her bir numunenin üzerine 0,5 mL TBA reaktifi eklendi ve kaynayan suda 1 saat beklendi. Çıkarılıp 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve 532 nm'de absorbansları okundu.

Standartların hazırlanması da benzer şekilde yapıldı. Ancak pipetlemelerde 2 mL standart için 0,5 mL TBA eklenerek su banyosuna atıldı. Sonuçlar nmol MDA/mL plazma olarak ifade edildi. Bu metot serumda da aynı şekilde uygulanabilir.

### 2.8.2. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini

Katalaz aktivitesinin belirlenmesinde Aebi (1984) metodu kullanıldı. Yöntem katalazın hidrojen peroksiti (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) parçalayıp uzaklaştırması esasına dayanmaktadır.

Plazma ve karaciğer dokusunda katalaz aktivitesine bakılmıştır. Plazma ve dokularda gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra Tablo 10'daki gibi pipetleme yapıldı.

Tablo 10. Katalaz aktivitesinde kullanılan miktarlar

Reaktifler	Kör	Numune
Fosfat Tamponu	750 µL	----
Numune	1500 µL	1500 µL
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-----	750 µL

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenir eklenmez kuartz küvetler altüst edildi ve 240 nm’de 30 sn süreyle her 10 sn’de bir absorbanslar kaydedilerek meydana gelen düşüşler izlendi. Reaksiyonun hız sabiti kullanılarak katalazın spesifik aktivitesi ölçüldü. 10 sn’lik aralık için aşağıdaki formüle göre hesaplamalar yapıldı. Aşağıdaki formüle göre bulunan k değeri seyreltme faktörü ile çarpıldı.

$$k = (2,3/10) \times \log(A_1/A_2) \text{ s}^{-1}$$

A<sub>1</sub>= Başlangıç Absorbansı

A<sub>2</sub>= 10 s sonraki absorbans

## 2.9. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik çalışmalar KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı laboratuvarında Doç. Dr. Şafak ERSÖZ tarafından gerçekleştirildi. Çalışma sonunda her bir gruba ait sıçanlardan çıkarılan karaciğer dokuları %10’luk formaldehitte 48 saat tespit edildi. Tespit sonrası dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Xylen’de şeffaflaştırıldıktan sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255) ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen Eozin (H&E) ile boyandı. Elde edilen preparatların histolojik değerlendirmesi, çalışma gruplarından habersiz, bu konuda deneyimli bir histolog tarafından ışık mikroskopik olarak (Olympus BX-51; Olympus Optical Co, Ltd, Tokyo, Japan) yapıldı. Değerlendirmede tüm preparatlar X40, X100, X200 ve X400 büyütmede sırası ile gözden geçirildi. Değerlendirmede öncelikle H.E ile boyanan preparatlar genel histolojik yapı açısından değerlendirildi.

## 2.10. İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 for Windows® istatistik paket programı ve Microsoft® Excel (for windows XP) kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edildi ve  $p < 0,05$  olasılık değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında istatistiki olarak fark olup olmadığını test etmek için Kruskal-Wallis non-parametrik testi kullanıldı.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. Antioksidan Aktivite Ölçümleri

##### 3.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Bal ve polende gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi ve gallik asit standardı kullanılarak tayin edildi. 760 nm'deki absorbans değerleri y-ekseninde ve konsantrasyon değerleri ise x-ekseninde gösterilerek bir standart çalışma grafiği hazırlandı.

Toplam fenolik madde miktarı gallik asit kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplandı. 3 paralel tekrar yapıldı ve ortalamalar alındı. Elde edilen sonuçlar Tablo 11'de verilmiştir. Polenin fenolik madde içeriği, balın fenolik madde içeriğinden yaklaşık olarak 10 kat daha fazla olduğu belirlendi.

Tablo 11. Bal ve polenin toplam fenolik madde miktarları

Numune	Toplam Fenolik Madde Miktarları (mg GAE/100g numune)
Bal	110±7,02
Polen	1056±11,00

Sonuçlar ortalama ± standart sapma cinsinden ifade edildi.

Doğada oluşan polifenoller, antioksidan olmaları ve burukluk, acılık, esmerleşme reaksiyonları ve renk gibi özellikleri üzerine etkilerinden dolayı büyük önem kazanmaktadır. Polifenoller, basit benzen türevlerine ilaveten, bal da dahil, bitkiler ve bitkilerden kaynaklanan gıdaların hidroksisinamatlar ve flavonoidler grubunu kapsamaktadır. Folin-Ciocalteu çözeltisi ile toplam fenolik madde içeriği deneyleri, monofenollerin yanısıra daha kolay oksitlenebilir polifenollerin tayin edilmesini olanak vermektedir (Singleton vd., 1999).

İkincil metabolit ürün olarak bilinen fenolik asitler bitkilerin savunmasında önemli role sahip olup bitkilerin renk, koku ve tadından sorumlu moleküllerdir. Yapılan çalışmalarda fenolik asit içeriği yüksek olan ekstraktların yüksek antioksidan,

antibakteriyal, anti-inflamatuar, antitumoral, antiviral özelliğe sahip olduğu bildirilmektedir (Kumawaza ve Nakayama, 2004; Chitindingu vd., 2006; Marquele vd., 2006; Ahn vd., 2007).

Tezcan vd., (2011) yaptıkları çalışmada Anzer balı ve kestane balının toplam fenolik madde miktarını sırasıyla 88 mgGAE/100 g ve 113 mgGAE/100 g olarak bildirmişler. Haroun (2006) toplam fenolik madde miktarını en düşük (50.9 mggallic asit kg<sup>-1</sup>) açık renge sahip olan pamuk balında, en yüksek (774 mg GA asit kg/1) en koyu renge sahip kestane balında bulunduğunu belirtmiştir. Cavrar vd., (2013) Türkiye florasına ait önemli balların toplam fenolik madde miktarlarını tayin etmişler ve kestane balında 107 mg GAE/100 g olarak belirlemişler. Slovenya’da yapılan bir çalışmada kestane balının fenolik miktarının 199,9 mg GAE/kg olduğu bildirilmektedir (Bertoncelj vd., 2007). Al vd., (2009), akasya, ayçiçeği, ıhlamur ve çam balı örneklerinin toplam polifenol madde miktarını incelemiş ve akasya balında 2,00-39,00 mg GAE/100 g, ayçiçeği balında 16,00-38,00 mg GAE/100 g, ıhlamur balında 20,00-45,00 mg GAE/100 g ve çam balında 23,00-125,00 mg GAE/100 g arasında bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda elde etmiş olduğumuz kestane balının toplam fenolik madde miktarı literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Değişik bal türleri arasında yapılan çalışmalarda kestane balının polifenolik madde miktarının diğer ballardan daha yüksek oranlarda olduğu bildirilmektedir (Aljadi ve Kamaruddin, 2004; Al-Mamary vd., 2002, Küçük vd., 2007).

İstanbul, Türkiye’den toplanan 29 çeşit polen numunesinin toplam fenolik madde içeriği 9,3 ile 49,9 mg GAE/g arasında bulunduğu belirtilmiştir (Yeşiltaş vd., 2012). Yıldız vd., (2013), yaptıkları çalışmada kestane polenine ait toplam fenolik madde miktarını  $28.87 \pm 2.48$  mg GAE/g olarak bildirmişlerdir. Romanya’da yapılan bir çalışmada 12 farklı monofloral polen örneğinin Folin-Ciocalteu metoduna göre ve gallik asit standardına göre toplam fenolik madde miktarının 4,4 mg ile 16,4 mg GAE/ g polen arasında değişim gösterdiği bildirilmektedir (Mărghitas vd., 2009). Yapılan başka bir çalışmada Brezilya’nın iki farklı bölgesinden toplanan polenlerde toplam polifenol miktarları bakılmış ve 3,6-10,9 mg GAE/g polen arasında değerler olduğu bildirilmiştir (Carpes vd., 2007). Çalışmamızda bulmuş olduğumuz değer  $1056 \pm 11,00$  mg GAE/100g olup yapılmış olan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Yapmış olduğumuz çalışmaya ve literatürdeki değerlere bakıldığında polenin toplam fenolik madde miktarının coğrafik ve floral kaynaklara bağlı olarak değişim gösterdiği ancak bal ile polen kıyaslandığında polenin daha yüksek fenolik madde miktarına sahip olduğu görülmektedir.



### 3.1.2. FRAP Yöntemi ile Antioksidan Kapasite Tayini

Bal ve polende gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra FRAP yöntemi ile antioksidan madde miktarları FRAP reaktifi ve Troloks standardı kullanılarak tayin edildi. 593 nm'deki absorban değerleri y-ekseninde ve konsantrasyon değerleri ise x-ekseninde gösterilerek bir standart çalışma grafiği hazırlandı ve antioksidan kapasitesi kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Tablo 12'de gösterilmektedir.

Tablo 12. Bal ve polenin FRAP metoduyla antioksidan miktarları

Numune	FRAP( $\mu\text{mol Troloks}/100 \text{ g}$ )
Bal	423 $\pm$ 2,17
Polen	3925 $\pm$ 25,6

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma cinsinden ifade edildi.

Antioksidanlar genel olarak gıdaları serbest radikallerin etkisinden koruma amaçlı kullanılan katkı maddeleridir (Madsen ve Bertelsen, 1995).

Frankel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, balda antioksidan etkiye sahip tokoferoller, alkaloidler, askorbik asit, flavonoidler, fenolikler ve değişik enzimlerin az miktarda bulunduğunu ve balın kaynağı olan nektar, antioksidan etkiye sahip tatlı bileşikler ile bitki pigmentlerinin, flavonoidlerin büyük bir kısmını içerdiğini tespit etmişlerdir (Frankel vd., 1998).

FRAP yöntemiyle ballarda yapılan antioksidan kapasite tayininde Gorjanović vd., (2013), yaptıkları çalışmada orman balında 4,98  $\mu\text{molTE/g}$ , salgı balında 4,05  $\mu\text{molTE/g}$ , ısırgan balında 2,03  $\mu\text{molTE/g}$ , kır çiçeği balında 0,67  $\mu\text{molTE/g}$ , ıhlamur balında 0,61  $\mu\text{molTE/g}$ , akasya(1) balında 0,26  $\mu\text{molTE/g}$  ve akasya(2) balında 0,20  $\mu\text{molTE/g}$  olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Alvarez-Suarez vd., (2010), yapmış olduğu çalışmada çiçek ballarına ait FRAP değerlerini 27,0  $\mu\text{molTE}/100 \text{ g}$  ile 96,6  $\mu\text{molTE}/100 \text{ g}$  arasında bulunduğunu belirtmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada kestane balının antioksidan kapasitesi 423 $\pm$ 2,17  $\mu\text{molTE}/100 \text{ g}$  bulunmuştur ve literatürdeki çalışmalara bakıldığında Gorjanović vd., (2013) çalışmasındaki orman balı ve salgı balıyla benzerlik göstermektedir. Diğer ballarla kıyaslandığında ise oldukça yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Kestane poleni için elde ettiğimiz değer Tablo 11'de belirtildiği gibi 3925 $\pm$ 25,6  $\mu\text{molTE}/100 \text{ g}$  olarak bulunmuştur. Gerek çalışmamızda

gerekse literatürde belirtilen arı ürünlerinden biri olan bal ile kıyaslandığında kestane polenin antioksidan kapasitesinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

### 3.1.3. Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi (DPPH)

Balın ve polenin serbest radikal temizleme kapasiteleri DPPH' radikali üzerinden test edildi ve bulunan değerler Tablo 13'de SC<sub>50</sub> değeri cinsinden verildi. SC<sub>50</sub> değeri radikalın % 50'sini temizleyen madde miktarı olarak tanımlanırken düşük SC<sub>50</sub> değeri yüksek DPPH' radikali temizleme aktivitesini yansıtır. Sonuçlar mg/mL cinsinden verildi ve standart olarak Troloks<sup>®</sup> kullanıldı.

Tablo 13. Bal ve polenin DPPH metoduyla antioksidan miktarları

Numune	DPPH (SC <sub>50</sub> mg/mL)
Bal	34,34±0,00
Polen	0,47±0,01

Sonuçlar ortalama ± standart sapma cinsinden ifade edildi.

Doğal ürünlerin serbest radikal temizleme yeteneğinin belirlenmesinde en yaygın kullanılan yöntem DPPH radikali temizleme testi olup iyi bir antioksidan test yöntemidir (Ahn vd., 2007). Düşük DPPH değeri yüksek radikal temizleme yeteneğinin bir ölçüsü olup polenin radikal temizleme yeteneği baldan yaklaşık 100 kat daha büyük bulundu.

Bertoncelj vd., (2007) DPPH-SC<sub>50</sub> radikal temizleme aktivitesini akasya balında 33,9-63,9 mg/mL arasında, ıhlamur balında 20,6-36,1 mg/mL arasında, kestane balında 7,8-14,0 mg/mL arasında, köknar balında 6,4-11,7 mg/mL arasında, ladin balında 5,4-9,7 mg/mL arasında, multilforal kaynaklı balda 8,1-13,9 mg/mL arasında ve orman balında da 5,3-8,7 mg/mL arasında bulunduğunu belirtmişlerdir. Sarıkaya vd., (2009), çalışmalarında kullanılan kestane ballarının SC<sub>50</sub> değerleri 5,7 ve 9 mg/mL olarak belirtmişlerdir. Ulusoy, (2005) farklı bölgelere ait kestane ballarının SC<sub>50</sub> değerleri karşılaştırmış ve 0,015-0,058 g/mL arasında olan sonuçlar elde etmiştir. Çalışmamızda bulduğumuz kestane bal değeri Bertoncelj vd., (2007), yapmış olduğu çalışmadaki akasya balıyla ve Ulusoy, (2005) farklı bölgelere ait kestane ballarının SC<sub>50</sub> değerleriyle benzerlik göstermektedir fakat

literatürdeki diğer kestane balların değerleriyle kıyaslandığında onlardan daha düşük olduğu görülmektedir.

Yıldız vd., (2013), yaptıkları çalışmada kestane polenine ait DPPH-SC<sub>50</sub> radikal temizleme aktivitesini 0.62±0.10 mg/mL olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Morais vd., (2011), çalışmasında polenlerin DPPH radikali temizleme kapasitesini 2,16-5,87 mg/mL arasında hesaplamışlardır. Çalışmamızda elde etmiş olduğumuz değer Yıldız vd., (2013), çalışmasıyla benzerlik göstermektedir.

### 3.2. Deney Hayvanları Uygulamaları

#### 3.2.1. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlığı Ölçümü

Sıçanların ilk ve son günlük (dekapitasyon yapıldığı gün) ağırlıkları baz alınarak vücut ağırlık değişimleri hesaplandı (Tablo 14). Ağırlık değişim oranı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ağırlık değişim oranı} = 100 \times (\text{Ağırlık}_{(\text{son})} - \text{Ağırlık}_{(\text{ilk})}) / (\text{Ağırlık}_{(\text{ilk})})$$

Ağırlık<sub>(son)</sub>: Son gün ölçülen ağırlık (g)

Ağırlık<sub>(ilk)</sub>: İlk gün ölçülen ağırlık (g)

Tablo 14. Deney hayvanlarının vücut ağırlığı değişimleri

Grup Adı	Grup Ağırlık Ortalaması (g)		Ağırlık Değişim Oranı (%)
	İlk Gün	Son Gün	
Kontrol Grubu	233±30,3	229±23,79	-1,72
Amanitin Grubu	237±40,71	231±40,81	-2,59
Bal Grubu	231±17,72	236±18,16	2,16
Polen Grubu	233±27,61	232±25,30	-0,43
Silibinin Grubu	241±17,92	227±23,84	-5,81

Sonuçlar ortalama ± standart sapma cinsinden ifade edildi.

Sıçanlarda deney sonrası ağırlık değişimleri incelendiğinde serum fizyolojik kontrol grubunda %1,72 oranında kilo kaybı gözlemlenirken, amanitin grubunda %2,59 oranında kilo artışı görüldü. Bal grubunda %2,16 oranında kilo artışı ve polen grubunda %0,43

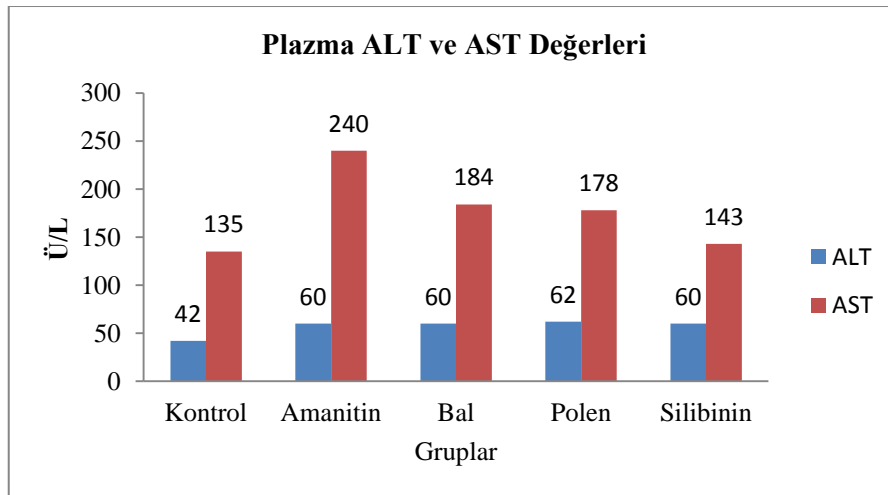
oranında kilo kaybı gözlemlendi. En yüksek kilo kaybının gözlemlendiği grup ise silibinin grubu (%5,81) olarak belirlendi.

### 3.2.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Plazmalarda alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotranferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH), kreatin kinaz (CK), üre (BUN), toplam protein (TP), kreatinin, albumin, seviyelerine bakıldı ve değerleri otoanalizörde belirlendi. Plazma ve karaciğerlerdeki MDA miktarları 1,1,3,3-Tetrametoksipropanın 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 nmol/mL'lik standartları kullanılarak hazırlanan MDA standart eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar nmol MDA/numune olarak ifade edildi. Plazma ve karaciğer dokusunda CAT aktivitesi spektrofotometrede absorbans düşüşü izlenerek belirlendi.

#### 3.2.2.1. Plazmada Yapılan Ölçümlerin Sonuçları

Plazmalarda belirlenen ALT ve AST değerleri Şekil 5'de, LDH, CK, üre, toplam protein, kreatinin ve albumin seviyeleri Tablo 15' de belirtilmiştir.



Şekil 5. Grupların AST ve ALT düzeyleri

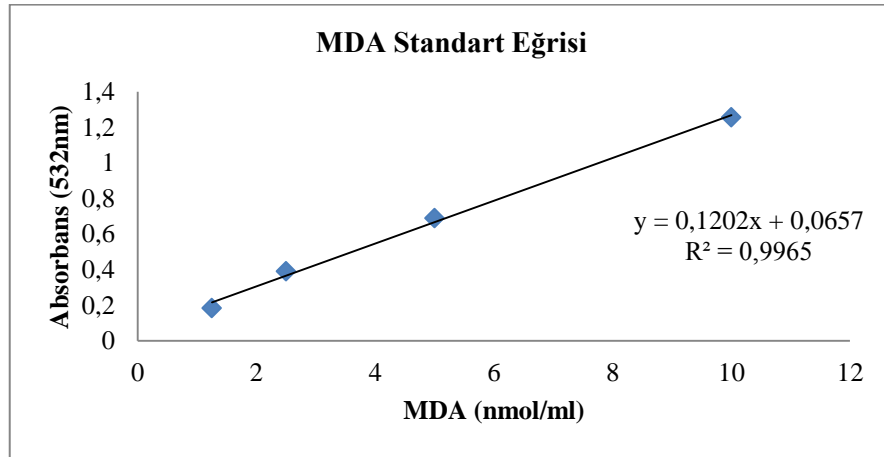
MDA miktarı ve CAT aktivitesi spektrofotometrede belirlendi. MDA standardı için elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 6'da gösterilmektedir. Şekilden yararlanılarak elde

edilen MDA miktarı ve spektrofotometrik yöntem sonucunda hesaplanan CAT aktivitesi Tablo 16’da gösterilmektedir.

Tablo 15. Grupların biyokimyasal analizleri

	Grup1	Grup2	Grup3	Grup4	Grup5
BUN (Üre) (mg/dL)	11±0,50 <sup>b</sup>	15,10±1,10 <sup>a</sup>	11±0,58 <sup>b</sup>	11±0,47 <sup>b</sup>	14±2,30 <sup>a</sup>
Kreatin (mg/dL)	0,20±0,01 <sup>a</sup>	0,30±0,01 <sup>a</sup>	0,28±0,02 <sup>a</sup>	0,28±0,01 <sup>a</sup>	0,12±0,01 <sup>a</sup>
LDH (U/L)	735±30,45 <sup>c</sup>	1101±50,70 <sup>a</sup>	753±55,10 <sup>c</sup>	918±38,05 <sup>b</sup>	1194±29,73 <sup>a</sup>
CK (U/L)	2049±125 <sup>c</sup>	5625±245 <sup>a</sup>	5618±305 <sup>a</sup>	3540±398 <sup>b</sup>	4352±540 <sup>b</sup>
Albumin (mg/dL)	3,60±0,60 <sup>a</sup>	3,40±0,42 <sup>a</sup>	3,60±0,10 <sup>a</sup>	3,40±0,12 <sup>a</sup>	3,20±0,17 <sup>a</sup>
Toplam protein (g/dL)	5,10±0,70 <sup>b</sup>	2,27±0,98 <sup>a</sup>	3,37±1,04 <sup>a</sup>	4,56±1,20 <sup>b</sup>	3,37±1,07 <sup>b</sup>

Sonuçlar ortalama ± standart sapma cinsinden ifade edildi.



Şekil 6. Plazmalar için hazırlanan MDA standart eğrisi

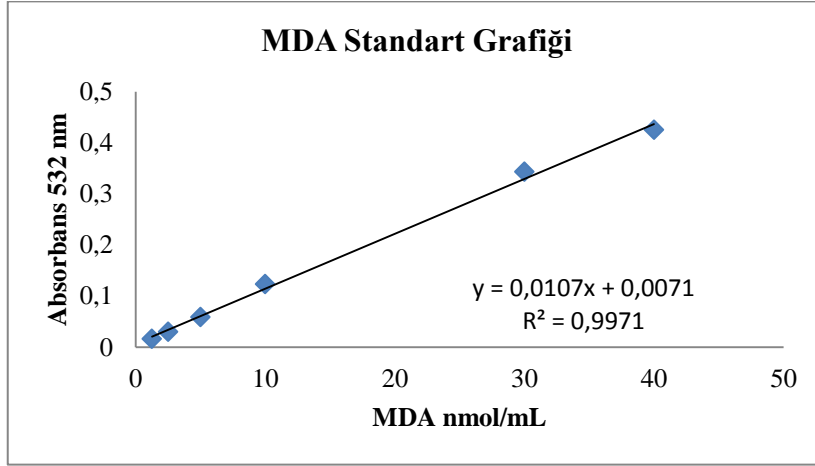
Tablo 16. Plazma MDA ve CAT değerleri

Gruplar	MDA (nmol/mL plazma)	CAT (kU/L)
Kontrol Grubu	0,274±0,07 <sup>b</sup>	0,25±0,02 <sup>a</sup>
Amanitin Grubu	0,387±0,38 <sup>a</sup>	0,12±0,02 <sup>b</sup>
Bal Grubu	0,267±0,04 <sup>b</sup>	0,18±0,01 <sup>b</sup>
Polen Grubu	0,142±0,11 <sup>c</sup>	0,20±0,02 <sup>b</sup>
Silibinin Grubu	0,287±0,12 <sup>b</sup>	0,20±0,02 <sup>b</sup>

Sonuçlar ortalama ± standart sapma cinsinden ifade edildi.

### 3.2.2.2. Karaciğer Dokusunda Yapılan Ölçümlerin Sonuçları

Gruplara ait karaciğer doku ölçüm sonuçları Tablo 17’de, standart eğri grafiği Şekil 6’da verilmiştir.



Şekil 7. Karaciğer dokuları için hazırlanan MDA standart çalışma grafiği

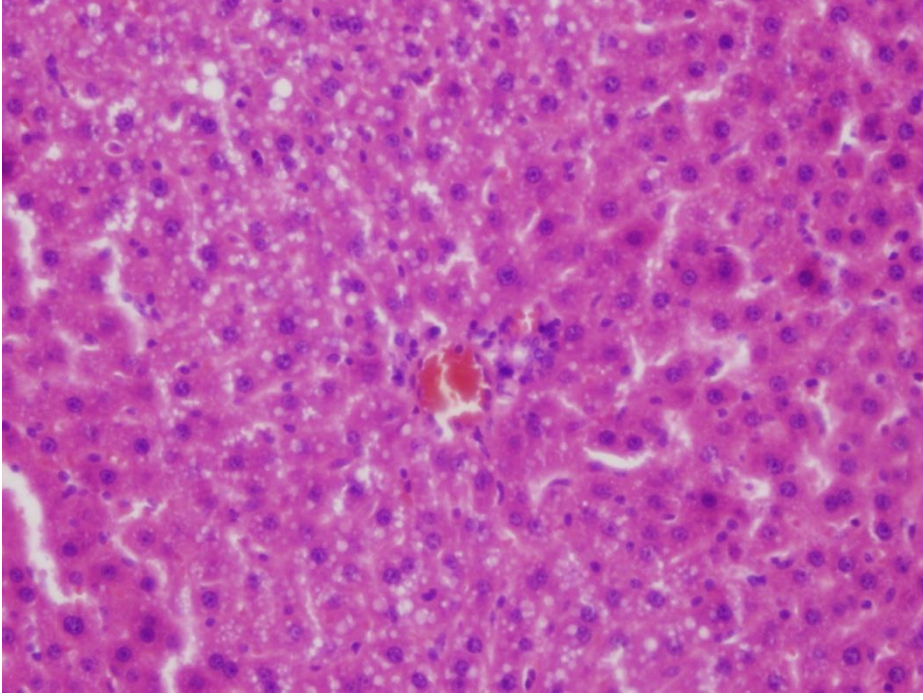
Tablo 17. Karaciğer dokularına ait parametreler

Gruplar	MDA (nmol/mL doku)	CAT (kU/mg protein)
Kontrol Grubu	62,25±10,20 <sup>b</sup>	0,15±0,03 <sup>b</sup>
Amanitin Grubu	94,08±14,00 <sup>a</sup>	0,05±0,02 <sup>a</sup>
Bal Grubu	76,52±13,10 <sup>b</sup>	0,01±0,01 <sup>b</sup>
Polen Grubu	77,50±17,50 <sup>b</sup>	0,01±0,02 <sup>b</sup>
Silibinin Grubu	50,87±20,30 <sup>b</sup>	0,01±0,02 <sup>b</sup>

Sonuçlar ortalama ± standart sapma cinsinden ifade edildi.

### 3.2.3. Histopatolojik İnceleme Sonuçları

Gruplara ait karaciğer dokularının ışık mikroskopik değerlendirmesinde, hematoxilen eozin kesitlerinde amanitin grubunda bir karaciğer dokusunda periportal alanlarda yaygın sitoplazmik vakuolizasyon izlenmiştir (Şekil 7). Amanitin grubundaki sıçanlarda periportal alanlarda hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon (HEx400) izlenmiş olup diğer gruplar da hasar bulgusu görülmemiş ve normal parankimi izlenmiştir.



Şekil 8. Amanitin grubunda periportal alanlarda hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon (HEx400)

#### 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Zehirli mantar olarak bilinen *Amanita phalloides* içerdiği siklik yapıdaki zehirli amanitin bileşikleri içerirler ve bu bileşiklerin sindirimi karaciğerde mevcut bulunmadığından ağır karaciğer hasarlarına ve ölümcül sonuçlara yol açarlar. Ölümcül olmayan mantar zehirlenmelerinde çoğu kez karaciğer hasarları, siroz gelişmektedir.

Karaciğer çok sayıda eksojen ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonun gerçekleştiği yegane organdır. Alınan tüm besinlerin sindirildiği ve toksik ajanların transformasyona uğradığı bir organ olması bakımından hepatosit harabiyetlerinde kimyasal ilaç tedavisi mümkün değildir. Ayrıca karaciğer alkol, aşırı yağlanma, kimyasallara maruz kalma, zehirlenme, viral enfeksiyonlar, bakteriyal enfeksiyonlar vs.'den dolayı hasara uğramaktadır. Karaciğer hasarlarının tedavisinde daha çok doğal yöntemler ve interferon kullanılmaktadır. Halk arasında enginar ve deve dikenini (*Silybum marianum*) ekstrelerinden hazırlanmış kapsüller yaygındır (D'Andrea vd., 2005). Deve dikeninde bulunan Silimarin adlı ekstrenin karaciğer hasarını önlemede etkili olduğu bildirilmektedir. Silimarin bir karışım olup 4 izomerik flavoligninde (silibinin, izosilibinin, silidianin ve silikristin) oluşmaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalarda silimarin pek çok hepatik enzimi, aminoprin demetilaz, bezopren hidroksilaz, etoksikumarin de-etilaz ve glutatyon-S-transferaz, inhibe ettiği bildirilmektedir (D'Andrea vd., 2005; Schümann vd., 2003). Dünyada  $\alpha$ -amanitin kaynaklı toksisitesine karşı direkt olarak uygulanan bir ilaç bulunmadığından normal  $\alpha$ -amanitin kaynaklı karaciğer hasarı tedavilerinde daha çok doğal bir silibinin tedavisi ile penisilin kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmanın amacı  $\alpha$ -amanitin kaynaklı karaciğer hasarının tedavisinde silibinine alternatif yeni kaynaklar bulmaktır. Bu amaçla daha önceki çalışmalardan yola çıkarak birer doğal ürün olan arı ürünlerinden faydalanmak istedik. Çünkü yapılan araştırmalarda  $CCl_4$  ile sıçanlarda oluşturulan karaciğer hasarının kestane balı (Yıldız vd., 2013) ve polen, arı sütü, propolis (Saral, 2013) oldukça yüksek etkinlikte ve silibinine eşdeğer tedavi sağladığı bildirilmektedir (Yıldız vd., 2013).

Sonuç olarak amanitinden kaynaklanan karaciğer hasarına karşı bal ve polen aynı silibinine benzer derecede sıçanlarda iyileşme sağlamıştır.



İlerleyen çalışmalarda diğer arı ürünleri olan propolis ve arı sütünün amanitinden kaynaklanan karaciğer hasarına karşı iyileştirme sağlayıp sağlamadığına bakılıp, farklı floral orijinli bal ve diğer arı ürünlerinin etkileri de incelenmelidir.

## 5. KAYNAKLAR

- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro, Enzymol,105, 121-6.
- Ahn, R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F. ve Nakayama, T., 2007. Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of China, Food Chemistry, 101, 1383-1392.
- Al, M.L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L. ve Bogdanov, S., 2009. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania, Food Chemistry, 112, 863-867.
- Al-Mamary, M.A., Al-Meerri, A. ve Al-Habori, M., 2002. Antioxidant Activities and Total Phenolics of Different Types of Honey, Nutrition Res., 22, 1041-1047.
- Alexopoulos, C.S., Mims, C.W. ve Blakwell, M., 1996. Introductory Mycology, John Wiley and Sons Inc., New York, 1-441.
- Aljadi, A.M. ve Kamaruddin, M.Y., 2004. Evaluation of The Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Two Malaysian floral Honeys, Food Chemistry, 85, 513-518.
- Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S. ve Battino, M., 2010. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds, Food Chemistry Toxicology, 48, 2490-2499.
- Anklam, E., 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey, Food Chemistry, 63, 4, 549-62.
- Armbrust, T., Batusic, D., Ringe, B. ve Ramadari, G., 1997. Mast Cells Distribution in Human Liver Disease and Experimental Rat Liver Fibrosis, Indications for Mast Cell Participation in Development of Liver Fibrosis, JHepatol, 26, 1042-1054.
- Aslan, S., 2010. Karaciğer Nakli Vericilerinde Kontrollü Hipotansiyon, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Malatya.
- Attia, Y.A., Al-Hanoun, A., El-Din, A.E., Bovera, F. ve Shewika, Y.E., 2011. Effect of Bee Pollen Levels on Productive, Reproductive and Blood Traits of NZW Rabbits, J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 95,3, 294-303.
- Aygul, N., Duzenli, M.A., Ozdemir, K. ve Altunkeser, B.B., 2010. A case report of an unusual complication of Amanita phalloides poisoning: Development of cardiogenic shock and its successful treatment with intra-aortic balloon counterpulsation, Toxicon, 55, 630-632.

- Bayram, E., 2010. Kronik Karaciğer Hastalarında Ateroskleroz, Uzmanlık Tezi, Manisa.
- Baysal, A., Aksoy, M., Besler, T., Bozkurt, N., Keçecioğlu, S., vd., 2008. Diyet El Kitabı, 5. Baskı, Ankara.
- Baytop, T., 1989. Türkiye'de Zehirli Bitkiler Bitki Zehirlenmeleri ve Tedavi Yöntemleri, İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3560, Eczacılık Fakültesi Yayınları No:54, İstanbul.
- Baytop, A., 1992. Yüksek Mantarlar Hakkında Genel Bilgiler, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Bilim Dalı Bilimsel Toplantıları.
- Baytop, A., 1996. Farmasötik Botanik, İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3637, Eczacılık Fakültesi Yayınları No:58, İstanbul.
- Benzie, I.F.F. ve Strain J.J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay, Analytical Biochemistry, 239, 70-76.
- Benzie, I.F.F. ve Strain, J.J., 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, In Methods in Enzymology, 299, 15-27.
- Beratta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. ve Facino, R.M., 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric / fluorimetric assays and chemometrics, Anal. Chim. Acta., 533, 185-191.
- Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M. ve Golob, T., 2007. Evaluation of The Phenolic Content, Antioxidant Activity and Colour of Slovenian Honey, Food Chemistry, 105, 2, 822-828.
- Bogdanov, S. ve Gfeller, M., 2006. Classification of honeydew and blossom honeys by discriminant analysis, ALP Science, 500, 3-7.
- Bogdanow, S., 1997. Nature and Origin of the Antibacterial Substances in Honey. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 30, 748-753.
- Bourquelot, E. ve Bertrand, A., 1895. A re-examination of the Raper's Scheme: Cyclodopa as a Biological precursor of eumelanin, C. R. Soc. Biol., 47, 582-584.
- Bozbiyık, O., 2011. Kolorektal Kanserlerin Karaciğer Metastazlarında Hepatik Rezeksiyon Uygulanan Hastalarda Sağkalımı Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi, Ege Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, İzmir.
- Boztok, K., 1990. Mantar Üretimi Tekniği, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 489, 168, İzmir.

- Brunnicardi, F.C., Andersen, D.K., Billiar, T.R., Dunn, D.L., Hunter, J.G. vd., 2010. Schwartz's Principles Of Surgery, 9th Ed., New York: TheMcgraw- Hill Companies Inc.
- Buku, A., Campadelli-Fiume, G., Fiume, L. ve Wieland, T., 1971. Inhibitory effect of naturally occurring and chemically modified amatoxins on RNA polymerase of rat liver nuclei, FEBS Lett, 14, 1, 42-4.
- Cainelli, F., 2012. Liver Diseases İn Developing Countries, World J Hepatol., 4, 3, 66-7.
- Carpes, S.T., Bengini, R., Alencar, S.M. ve Masson, M.L., 2007. Study of Preparations of Bee Pollen Extracts, Antioxidant and Antibacterial Activity, Ciênc. agrotec., 31, 6, 1818-1825.
- Cavrar, S., Yıldız, O., Şahin, H., Karahalil, F. ve Kolaylı, S., 2013. Farklı Kalitede Türk Ballarının Fiziksel ve Biyokimyasal Özelliklerinin Karşılaştırılması, Uludağ Arıcılık Dergisi, 13, 2, 55-62.
- Ceylan, N., 2000. Muğla Ballarının Mikrobiyolojik Özellikleri ve Apiterapideki Yeri, Yüksel Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Chepulis, L.M., 2007. The Effect of Honey Compared to Sucrose, Mixed Sugars, and a Sugar-Free Diet on Weight Gain in Young Rats, J. Food Sci., 72, 3.
- Chitindingu, K., Ndhlala, A.R., Chapano, C., Benhura, M.A. ve Muchuweti, M., 2007. Phenolic Compound Content, Profiles and Antioxidant Activities of *Amaranthus Hybridus* (*Pigwee*), *Brachiaria brizantha* (*Upright branchiaria*) and *Panicum Maximum* (*Guinea grass*), Journal of Food Biochemistry, 31, 206-216.
- D'Andrea, V., Perez, L.M. ve Sanchez Pozzi, E.J., 2005. Inhibition of Rat Liver UDP Glucuronosyltransferase by Silymarin and The Metabolite Silibinin-Glucuronide, Life Sciences, 77, 683-692.
- Danel, V.C., Saviuc, P.F. ve Garon, D., 2001. Main features of Cortinariusspp. poisoning: A Literature Review. Toxicon, 39, 1053-60.
- Defendenti, C., Bonacina, E., Mauroni, M. ve Gelosa, L., 1998. Validation of a high performance liquid chromatographic method for alpha amanitin determination in urine, Forensic Sci Int., 92, 1, 59-68.
- Ecevit, Ç., Hızarcıoğlu, M., Gerçek, P.A., Gerçek, H., Kayserili, E., Gülez, P. ve Apa, H., 2004. Acil servise başvuran mantar zehirlenmelerinin retrospektif olarak incelenmesi, ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 5, 3, 11-14.
- Erdogan, Y. ve Dodologlu, A., 2005. Bal Arısı (*Apis Mellifera* L.) Kolonilerinin Yaşamında Polenin önemi, Uludag Bee Journal, May, 5.2.
- Erguven, M., Yilmaz, O., Deveci, M., Aksu, N., Dursun, F., Pelit, M. ve Cebeci, N., 2007. MushroomPoisoning, Indian Journal of Pediatrics, 74, 847-852.

- Erten, R., 2009. Karbontetraklorür İle Oluşturulan Deneysel Karaciğer Hasarında Dihydromyrcenol Ve Geranylformate'ın Karaciğeri Koruyucu Etkisi, Yüzüncü Yıl Üniv.Tıp Fakültesi, Patoloji Abd., Uzmanlık Tezi, Van.
- Ezz El-Arab, A.M., Girgis, S.M., Hegazy, E.M. ve Abd El-Khalek, A.B., 2006. Effect of Dietary Honey on Intestinal Microflora and Toxicity of Mycotoxins in Mice. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/6/6>.
- Frankel, S., Robinson, G.E. ve Berenbaum, M.R., 1998. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys, Journal of Apicultural Research, 37, 27-31.
- French, L.K., Hendrickson, R.G. ve Horowitz, B.Z., 2011. Amanita phalloides poisoning. Clin Toxicol (Phila), 49, 2, 128-9.
- Ganzert, M., Felgenhauer, N. ve Zilker, T., 2005. Indication of liver transplantation following amatoxin intoxication, J Hepatol, 42, 2, 202-9.
- Gheldof, N., Wang, X-H. ve Engeseth, N.J., 2002. Identification and quantification of an antioxidant components of honeys from various floral sources, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 5870-5877.
- Gheldof, N., Wang, X-H. ve Engeseth, N.J., 2003. Buckwheat Honey Increases Serum Antioxidant Capacity in Humans, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51, 1500-1505.
- Gong, X.Q., Nedialkov, Y.A. ve Burton, Z.F., 2004. Alpha-amanitin blocks translocation by human RNA polymerase II, J Biol Chem., 25-279, 26, 27422-7.
- Gorjanović, S.Z., Alvarez-Suarez, J.M., Novaković, M.M., Pastor, F.T., Pezo, L., Battino M. ve Sužnjević, D.Z., 2013. Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays, Journal of Food Composition and Analysis, 30, 13-18.
- Guler, A., Bakan, A., Nisbet, C. ve Yavuz, O., 2007. Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (Saccharum officinarum L.) syrup, Food Chemistry, 105, 1119-1125.
- Hallen, H.E., 2002. Studies in amatoxin-producing genera of fungi: phylogenetics and toxin distribution. UMI Microform ProQuest, 3075013.
- Haroun, M.I., 2006. Türkiye'de Üretilen Bazı Çiçek ve Salgı Ballarının Fenolik Asit ve Flavonoid Profillerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ishikawa, Y., Tokura, T., Ushio, H., Niyonsaba, F., Yamamoto, Y., Tadokoro, T., Ogawa, H. ve Okumura, K., 2009. Lipid-soluble Components of Honeybee-collected Pollen Exert Antiallergic Effect by Inhibiting IgE-mediated Mast Cell Activation in vivo, Phytother Res, 23, 11, 1581-6.

- Işiloğlu, M., Gücin, F. ve Mat, A., 1995. Kasım 1994'te İstanbul'da meydana gelen mantar zehirlenmeleri, Ekoloji Çevre Dergisi, 14, 22-28.
- Jaeger, A., Jehl, F. ve Flesch, F., 1993. Kinetics of amatoxins in human poisoning: Therapeutic implications, J Toxicol Clin Toxicol, 31, 63-80.
- Kabir, Y., Kimura, S. ve Tamura, T., 1988. Dietary effect of *Ganoderma lucidum* mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats (SHR), J Nutr Sci Vitaminol, 34, 433-438.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. ve Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 3954-3962.
- Kasper, D.L., Braunwald, E., Hauser S., Longo, D., Jameson, J.L. ve Fauci, A.S., 2004. Harrison's Principles of Internal Medicine, 16 th Edition, McGraw-Hill Companies, 1858-1859.
- Kaur, C. ve Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health, International Journal of Food Science and Technology, 36, 703-725.
- Kaymakçalan, Ş., 1968. Besinlerle husule gelen kimyasal zehirlenmeler, Ankara Üniv. Tıp Fak. Mec., 21, 4, 1213-1239.
- Khalil, M.I., Sulaiman, S.A. ve Boukraa, L., 2010. Antioxidant Properties of Honey and Its Role in Preventing Health Disorder, The Open Nutraceuticals Journal, 3, 6-16.
- Kolaylı, S., Kongur, N., Gündoğdu, A., Kemer, B., Duran, C., Aliyazıcıoğlu, R. ve Küçük, M., 2008. Mineral composition of selected honeys from Turkey, Asian J. Chem., 20, 3, 2421-2425.
- Kolcuoğlu, Y., 2005. Yabani ve Yenilebilir Bir Mantar Olan *Macrolepiota mastoidea*'da Polifenol Oksidaz Enziminin Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Kröncke, K.D., Fricker, G., Meier, P.J., Gerok, W., Wieland, T. ve Kurz, G., 1986. Alpha-Amanitin uptake into hepatocytes, Identification of hepatic membrane transport systems used by amatoxins, J Biol Chem., 25-261, 27, 12562-7.
- Kucuk, H.F., Karasu, Z., Kılıc, M. ve Nart, D., 2005. Liver failure in transplanted liver due to *Amanita falloides*, Transplantation Proceedings, 37, 2224-2226.
- Kumar, V., Cotran, R.S. ve Robbins, S.L., 1994. Temel Patoloji, Çevikbaş U. (Ed.) Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.Sti., 2. Baskı, İstanbul, 545-550.
- Kumawaza, H.T. ve Nakayama, T., 2004. Antioxidant Activity of Propolis of Various Geographic Origins, Food Chemistry, 84, 329-339.

- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoglu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C. ve Candan, F., 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia, Food Chemistry Food Chem., 100, 526-534.
- Ladas, S.D., Haritos, D.N. ve Raptis, S.A., 1995. Honey May Have a Laxative Effect on Normal Subjects Because of Incomplete Fructose Absorption, Am. J. Clin. Nutr., 62, 1212-1215.
- Lengsfeld, A.M., Löw, I., Wieland, T., Dancker, P. ve Hasselbach, W., 1974. Interaction of phalloidin with actin, Proc Natl Acad Sci USA, 71, 7, 2803-7.
- Letschert, K., Faulstich, H., Keller, D. ve Keppler, D., 2006. Molecular characterization and inhibition of amanitin uptake into human hepatocytes, Toxicol Sci, 91, 1, 140-9.
- Li, C. ve Oberlies, N.H., 2005. The most widely recognized mushroom: Chemistry of the genus Amanita, Life Sci, 78, 532-538.
- Linskens, H.F. ve Jorde, W., 1997. Pollen as food and medicine - A review, Econ Bot., 51, 78-86.
- Liviu Al, M., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L. ve Bogdanov, S., 2009. Physico chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania, Food Chemistry, 112, 863-867.
- Madsen, H. L. ve Bertelsen, G., 1995. Spices as antioxidants, Trends in Food Science and Technology, 6, 271-277.
- Mărghitas, L.A., Stanciu, O.G., Dezmirean, D., S., Bobiş, O., Popescu, O., Bogdanov, S. ve Campos, M.G., 2009. In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania., Food Chem., 115, 878-883.
- Marquele, F.D., Oliveira, A.R.M., Bonato, P.S., Lara, M. ve Fonseca, M.J.V., 2006. Propolis Extracts Release Evaluation from Topical Formulation by Chemiluminescence and HPLC, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41, 461-458.
- Maruyama, H., Sakamoto, T., Araki, Y. ve Hara, H., 2010. Antiinflammatory Effect of Bee Pollen Ethanol Extract from Cistus sp. of Spanish on Arrageenan-induced Rat Hind Paw Edema, BMC Complement Altern Med, 10-30.
- Marsano, L.S., 2003. Hepatitis., Prim Care., 30, 1, 81-107.
- Mat, A., 2000. Türkiye'de Mantar Zehirlenmeleri ve Zehirli Mantarlar, Nobel Yayınları, İstanbul.
- Mcknight, T.A., Mcknight, K.B. ve Skeels, M.C., 2010. Amatoxin and phallotoxin concentration in amanita bisporigera spores, Mycologia, 102, 4, 763-5.

- Memik, F. ve Dolar, E., 2005. Karaciğer Sirozu, Klinik Gastroenteroloji Nobel ve Güneş Tıp Kitapevleri, 626-633.
- Mihara, M. ve Uchiyama, M., 1978. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test, Ann Biochem., 86, 271- 278.
- Molan, P.C., 1996. Authenticity of Honey, Blackie Academic and Professional, London, 259-303.
- Molan, P.C., 2000. Balın Modern Tıpta Kullanımı, Teknik Arıcılık, 67, 25-31.
- Morais, M., Moreira, L., Feas, X. ve Estevinho, L.M., 2011. Honeybee-collected Pollen From Five Portuguese Natural Parks: Palynological Origin, Phenolic Content, Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity, Food and Chemical Toxicology, 49, 1096-1101.
- Mundo, M.M., Padilla-Zakour, O.I. ve Worobo, R.W., 2004. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys, International Journal of Food Microbiology, 97, 1-8.
- Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H. ve Suziki, N., 2003. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis, Food Chem., 80, 1, 29-33.
- Nisbet, C., Güler, A., Ciftci, G. ve Yarım, G.F., 2009. The investigation of protein profile of different botanic origin honey and density saccharose- adulterated honey by SDS-PAGE method, Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 15, 3, 443-446.
- Oddo, L.P. ve Bogdanov, S., 2004. Determination of Honey Botanical Origin: Problems and Issues, Apidologie, 35, 2-3.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. ve Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, Anl. Biochem., 95, 351-358.
- Okur, A., 2011. Canlıdan Karaciğer Naklinde Vericinin Ameliyat Öncesi Vasküler Anatomisinin Radyolojik Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Erzurum.
- Özbek, H., Cengiz, N., Bayram, İ. ve Öntürk, H., 2008. Alfa amanitinle oluşturulmuş böbrek ve karaciğer toksisitesinde alfa pinen ve silibininin etkisinin sıçanlar üzerinde araştırılması, Genel Tıp Dergisi, 18, 4, 159-164.
- Persson, H., 2007. Mushrooms, Medicine, Elsevier Ltd, 35, 12.
- Potterat, O., Cuendet, M. ve Hostettmann, K., 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, Helvetica Chimica Acta, 80, 1144-1152.
- Prior, R.L. ve Cao, G., 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: Diet and health implications, Horticulture Science, 35, 588-592.



- Quian, W.L., Khan, Z., Watson, D.G. ve Fearnley, J., 2008. Analysis of Sugars in Bee Pollen and Propolis by Ligand Exchange Chromatography in Combination with Pulsed Amperometric Detection and Mass Spectrometry. Journal of Food Composition and Analysis, 21, 78-83.
- Rittgen, J., Pütz, M. ve Pyell, U., 2008. Identification of toxic oligopeptides in *Amanita* fungi employing capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry with positive and negative ion detection, Electrophoresis, 29, 2094-2100.
- Samanta, A., Burden, A.C. ve Jones, G.R., 1985. Plasma Glucose Responses to Glucose, Sucrose and Honey in Patients with Diabetes Mellitus: An Analysis of Glycaemic and Peak Incremental Indices, Diabetic Med, 2, 371-373.
- Sanz, M.L., Polemis, N., Morales, V., Corzo, N., Drakoularakou, A., Gibson, G.R. ve Rastall, R.A., 2005. In vitro Investigation into the Potential Prebiotic Activity of Honey Oligosaccharides, J. Agric. Food Chem., 53, 2914-2921.
- Saral, Ö., 2013. Apiterapik Arı Ürünlerinin (Bal, Polen, Propolis ve Arı Sütü) Biyoaktif Özellikleri ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rollerini, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Sarıkaya, A.O., Ulusoy, E., Öztürk, N., Tuncel, M. ve Kolaylı, S., 2009. Antioxidant Activity and Phenolic Acid Content of Chestnut Honey and Propolis, J Food Biochem, 33, 471-481.
- Schrammd, D., Karim, M., Schrader, H.R., Holt, R.R., Cardetti, M. ve Keen, C.L., 2003. Honey with High Levels of Antioxidants Can Provide Protection in Healthy Human Subjects, J. Agric. Res., 51, 1732-1735.
- Schumann, J., Prockl, J., Kiemer, A.K., Vollmar, A.M., Bang, R. ve Tiegs, G., 2003. Silibinin Protects Mice from T cell-dependent Liver Injury, J. Hepatol., 39, 333-340.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, Methods in Enzymology, 299, 152-178.
- Slinkard, K. ve Singleton, V.L., 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods, Am. J. Enol. Viticult., 28, 49-55.
- Socha, R., Juszczak, L., Pietryzk, S. ve Fortuna, T., 2009. Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoney, Food Chemistry, 113, 568-574.
- Staniskiene, B., Matusevicius, P. ve Budreckiene, R., 2006. Honey as an Indicator of Environmental Pollution, Environmental research, Engineering and Management, 2, 36, 53-58.
- Şahinler, N., Şahinler, S. ve Gül, A., 2001. Hatay yöresi ballarının bileşimi ve biyokimyasal analizi, MKU Ziraat Fakültesi Dergisi, 6, 93-108.

- Taormina, P.J., Niemira, B.A. ve Beuchat, L.R., 2001. Inhibitory Activity of Honey Against Foodborne Pathogens as Influenced By The Presence of Hydrogen Peroxide and Level of Antioxidant Power, Int. J. Food Microbiol., 69, 217-225.
- Tezcan, F., Kolaylı, S., Sahin, H., Ulusoy, E. ve Erım, F.B., 2011. Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys, 33-40.
- Tonks, A.J, Cooper, R.A, Jones, K.P., Blair, S., Parton, J. ve Tonks, A., 2003. Honey Stimulates Inflammatory Cytokine Production From Monocytes, Cytokine, 21, 242-247.
- Tong, T.C., Hernandez, M., Richardson, W.H. vd., 2007. Comparative treatment of alpha-amanitin poisoning with N-acetylcysteine, benzylpenicillin, cimetidine, thioctic acid, and silybin in amurine model, Ann Emerg Med., 50, 3, 282-8.
- Trappe, J.M., Castellano, M.A. ve Trappe M.J., 1992. Australasian truffle-like fungi. IV. Malajczukia gen. nov. (Basidiomycotina, Mesophelliaceae), Australian Systematic Botany, 5, 617-630.
- Ulusoy, E., 2005. Türkiye'nin Bazı Yörelerinden Kestane ve Çiçek Ballarının Antioksidan Aktiviteleri ve Mineral İçeriklerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Vetter, J., 1998. Toxins of Amanita phalloides, Toxicon, 36, 1, 13-24.
- Webster, J., 1989. Inroduction to Fungi, Cambridge University Press, Melbourne,1-669.
- White, J.,W. 1978. Honey, Advances in Food Research, 24, 287-374.
- White, F.V. ve Dehner, L.P., 2004. Viral Disease Of The liver İn Children: Diagnostic And Differential Diagnostic Considerations, Pediatric And Developmental Pathology, 7, 6, 552-67.
- Williams, M.H., 1994. The use of nutritional ergogenic aids in sports: Is it an ethical issue?, Int J Sport Nutr., 4, 120-131.
- Yagi, K., 1994. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine, In Free Radicals in Diagnostic Medicine, 1st edition, Plenum Press, New York.
- Yaprak, O., Yüzer, Y. ve Tokat, Y., 2010. Canlı Vericili Karaciğer Transplantasyonunda Cerrahi Teknikler, Polat C, Editör, Hepatopankreatobiliyer Cerrahi, 1.Baskı, İstanbul, Nobel: 237-44.
- Yeşiltaş, B., Çapanoğlu, E., Fıratlıgil-Durmuş E. ve Boyacıoğlu, D., 2012. İstanbul'dan Toplanan Polen Örneklerinin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 34469, Maslak, İstanbul, Türkiye.

- Yıldız, O., 2011. Bir Gıda Maddesi Olarak Kestane Polenin Kimyasal Bileşimi, Biyoaktif Özellikleri ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rolü, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Yıldız, O., Zehra Can, Z., Saral, Ö., Yuluğ, E., Öztürk, F., Aliyazcıoğlu, R., Canpolat, S. ve Kolaylı, S., 2013. Hepatoprotective Potential of Chestnut Bee Pollen on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Damages in Rats, Research Article, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/461478>.
- Yılmaz, M., 2010. Alkol Dışı Sebeplere Bağlı Karaciğer Sirozlu Hastalarda Growth Hormon, Somatomedin- C ve Hipotalamuspitüiter Adrenal Aks Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Van.
- Zhao, J., Cao, M., Zhang, J., Sun, Q., Chen, Q. ve Yang, Z.R., 2006. Pathological effects of the mushroom toxin alpha-amanitin on BALB/c mice, Peptides, 27, 12, 3047-52.
- Zinner, M.J. ve Ashley, S.W., 2010. Maingot Abdominal Operasyonlar, 11. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1988 yılında Gümüşhane’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Gümüşhane’de tamamladı. 2005 yılında Gümüşhane Ali Fuat Kadirbeyođlu Anadolu Lisesinden mezun oldu. 2006 yılında girdiği Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden Haziran 2010 yılında mezun oldu. 2010 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı.