

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK DİETİL NİTROZAMİN İLE İNDÜKLENEN
HEPATOSELLÜLER KARSİNOGENEZİS SÜRECİNDE *Eremurus spectabilis*
M.Bieb. (ÇİRİŞ OTU) BİTKİ EKSTRELERİNİN HÜCRESEL VE ENZİMATİK
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilara GENÇ
Danışman: Prof. Dr. İsmail ÇELİK

VAN – 2023

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK DİETİLNİTROZAMİN İLE İNDÜKLENEN
HEPATOSELLÜLER KARSİNOGENEZİS SÜRECİNDE *Eremurus spectabilis*
M.Bieb. (ÇİRİŞ OTU) BİTKİ EKSTRELERİNİN HÜCRESEL VE ENZİMATİK
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilara GENÇ

Bu çalışma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından YFL-
2022-9912 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN – 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. İsmail ÇELİK danışmanlığında, Dilara GENÇ tarafından sunulan “Ratlarda Deneysel Olarak Dietilnitrozamin ile İndüklenen Hepatosellüler Karsinogenezis Sürecinde *Eremurus Spectabilis* M. Bieb. (Çiriş otu) Bitki Ekstrelerinin Hücrel ve Enzimatik Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 17/08/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İsmail ÇELİK

İmza:

Üye: Dr. Öğr Üyesi Deniz İRTEM KARTAL

İmza:

Üye: Dr. Öğr Üyesi Metin ERTAŞ

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İmza

Dilara GENÇ



ÖZET

RATLARDA DENEYSEL OLARAK DİETİLNİTROZAMİN İLE İNDÜKLENEN HEPATOSELLÜLER KARSİNOGENEZİS SÜRECİNDE *Eremurus spectabilis* M.Bieb. (ÇİRİŞ OTU) BİTKİ EKSTRELERİNİN HÜCRESEL VE ENZİMATİK BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

GENÇ, Dilara

Yüksek Lisans Tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail ÇELİK

Ağustos 2023, 67 sayfa

Kanser, kardiyovasküler sistem hastalıklarından sonra önde gelen ölüm nedenidir. Hepatoselüler karsinom, karaciğerin primer malign tümörlerinin çoğunluğunu oluşturur. Dietilnitrozamin (DEN), genetik olarak etkili kimyasal karsinojenlerin büyük bir bölümünü oluşturur ve karaciğerde metabolize edilmektedir. DEN, laboratuvar hayvanlarında hepatik tümörlerin indükleyicisi olarak bilim dünyasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada da DEN ile deneysel olarak oluşturulan karaciğer kanseri üzerinde çiriş otunun liyofilize bitki yaprağı ekstresi (LBE) ile nanopartikül bitki ekstresinin (NBE) iki dozunun oral yolla muamelesi ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada kullanılan sıçanlar biri kontrol olmak üzere her grupta 6 adet sıçan olacak şekilde; Normal Kontrol (NK), Kanser Kontrol (KK), Kanser+50 mg/kg LBE (KLBE1), Kanser+100 mg/kg LBE (KLBE2), Kanser+50 mg/kg NBE (KNBE1) ve Kanser+100 mg/kg NBE (KNBE2) olmak üzere toplam 6 grup oluşturuldu. DEN ile deneysel olarak oluşturulan karaciğer kanseri üzerinde çiriş otunun liyofilize bitki yaprağı ekstresi (LBE) ile nanopartikül bitki ekstresinin (NBE) iki dozu ile muamele edilip sakrifiye edilen ratlarda bitki ekstralarının hücresel ve enzimatik immün sistem etkilerini ortaya koymak için ratlardan kan, dalak ve akciğer örnekleri alınmıştır. Kan örneklerinde CD3⁺ (olgun T lenfosit), CD4⁺ (yardımcı T lenfosit), CD8⁺ (süpresör-sitotoksik T lenfosit) hücreleri, CD4⁺/CD8⁺ oranı flow sitometri ile incelenmiştir. Keza, Akciğer ve dalakta dokuların ise Miyeloperoksidaz (MPO) ve Adenozin deaminaz (ADA) enzim aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir.

Elde dedilen sonuçlara göre; CD3⁺ ve CD8⁺ T hücreleri KLBE1 grubunda NK ve KK gruplarına göre anlamlı derecede azalmıştır. Yine KNBE2 grubu NK ve KK gruplarına göre istatistiki açıdan anlamlı azalma tespit edilmiştir. CD4⁺ T hücreleri ise NK'ya göre anlamlı azalmıştır. Diğer yandan immün sistemin enzimatik biyobelirteçleri olan ADA enziminde kanser kontrol, normal kontrole göre azalmış iken KNBE1, KNBE2, KLBE1 ve KLBE2 gruplarında akciğer ve dalak dokularında artmıştır. MPO ile ilgili olarak; bitki ekstre takviyesi yapılan gruplarda MPO enzim aktivitesi hem akciğer hem de dalak dokusunda NK ve KK 'ya göre artış göstermiştir. Bu sonuçlara göre çiriş otunun kanser tedavisindeki etki mekanizmalarını ve tedavi amaçlı kullanımının ortaya koymak için daha fazla çalışma yapılmasına gerek duyulduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Dietilnitrozamin, *Eremurus spectabilis* M. Bieb (çiriş otu), Hücresel ve Enzimatik Bağışıklık Sistemi, Karaciğer karsinomu

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF *Eremurus spectabilis* M.Bieb (WEED GRASS) PLANT EXTRACTS ON CELLULAR AND ENZYMATIC IMMUNE SYSTEM IN THE PROCESS OF EXPERIMENTAL DIETHYLNITROSAMINE-INDUCED HEPATOCELLULAR CARCINOGENESIS IN RATS

GENÇ, Dilara

M. Sc., Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Çelik

August 2023, 67 pages

Cancer is the leading cause of death after cardiovascular diseases. Hepatocellular carcinoma constitutes the majority of primary malignancies of the liver. Diethylnitrosamine (DEN) constitutes a significant portion of genetically effective chemical carcinogens. Nitrosamines are metabolized in the liver and possess carcinogenic, teratogenic, toxic, and mutagenic effects. DEN is widely used as an inducer of hepatic tumors in laboratory animals. In this study, it was carried out by oral treatment of two doses of lyophilized plant leaf extract (LBE) and nanoparticle plant extract (NBE) of *Asparagus* on experimentally induced liver cancer with DEN.

The rats used in the study were 6 rats in each group, one of which was a control; Normal Control (NK), Cancer Control (CC), Cancer+50 mg/kg LBE (KLBE1), Cancer+100 mg/kg LBE (KLBE2), Cancer+50 mg/kg NBE (KNBE1) and Cancer+100 mg/kg NBE (KNBE2). To reveal the cellular and enzymatic immune system effects of plant extracts in rats treated with two doses of lyophilized plant leaf extract (LBE) and nanoparticle plant extract (NBE) on liver cancer experimentally induced with DEN, blood, spleen and lung samples were taken from rats. CD3⁺ (mature T lymphocyte), CD4⁺ (helper T lymphocyte), CD8⁺ (suppressor-cytotoxic T lymphocyte) cells and CD4⁺/CD8⁺ ratio were analyzed by flow cytometry in blood samples. Also, Myeloperoxidase (MPO) and Adenosine deaminase (ADA) enzyme activities were analyzed the lung and spleen tissues.

According to the results obtained; CD3⁺ and CD8⁺ T cells KLBE1 bases were successfully reduced by NK and KK purpose. Again, a statistically significant decrease was found in the KNBE2 group compared to the NK and KK groups. CD4⁺ T cells were significantly decreased compared to NK. On the other hand, ADA enzyme, which is an enzymatic biomarker of the immune system, decreased in cancer control compared to normal control, while it increased in lung and spleen tissues in KNBE1, KNBE2, KLBE1 and KLBE2 groups. Regarding the MPO; In the groups supplemented with plant extract, MPO enzyme activity increased in both lung and spleen tissues compared to NK and KK. According to these results, it was concluded that more studies are needed to reveal the mechanism of action of asparagus in cancer treatment and its therapeutic use.

Keywords: Cellular and Enzymatic Immune System, Diethylnitrosamine, *Eremurus spectabilis* M.Bieb (*Asphodelus*), Liver Carcinoma



TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca yüreklendirici rehberliği, sabrı ve bilgi birikimi ile her zaman yanımda olan, danışmanım Prof. Dr. İsmail ÇELİK'e emekleri için canıgönülden teşekkür ederim.

Desteklerinden dolayı Ögt. Gör. Abdulkaki DEMİR'e, Arş. Gör. Dr. Neşe ERAY VURAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Bedia BATI'ya, Arş. Gör. Ayşe YENİLMEZ'e, deney hayvanları ünitesi kullanımım sırasındaki desteklerinden dolayı Doç. Dr. Yıldray BAŞBUĞAN'a, Van Dursun Odabaş Tıp Merkezi'nde merkezi laboratuvarında flow sitometri incelemelerinde yardımcı olan Murat ALTINBAŞAK'a teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarım sürecince sonsuz sabrı, sevgisi ve desteği için sevgili eşim Nuri GENÇ'e, canım kızım Beren Şifa GENÇ'e, her zaman yanımda olan kardeşim Yaren AĞGÜL ve annem Sevgi AĞGÜL'e, yardımlarından dolayı arkadaşım Arş. Gör. Şeyma SOYANIT ERASLAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmanın yürütülmesinde FYL-2022-9912 nolu proje ile finansal desteklerinden dolayı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkür ederim.

2023

Dilara GENÇ



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Karaciğer Karsinomu Hücresel ve Enzimatik Bağışıklık Sistemi.....	2
1.1.1 Karaciğer Kanseri	3
1.1.2 Karaciğer Kanserlerini Etkileyen Faktörler	4
1.1.3 Karaciğer Kanserinin Tanısı ve Olan Tedavi Yöntemi.....	5
1.1.4 Dietilnitrozamin (DEN) ve Hepatosellüler Karsinom (HCC)	6
1.2 Bağışıklık Sistemi (İmmün Sistem)	7
1.2.1 Doğal Bağışıklık (İnnate).....	8
1.2.2 Kazanılmış Bağışıklık (Edinsel, Adaptif)	9
1.2.3 Humoral İmmunite.....	9
1.2.4 Hücresel İmmunite.....	10
1.2.5 T Lenfositler	10
1.2.6 T Lenfositlerinin Antijenleri İşlemesi ve Tanınması.....	11
1.2.7 T Lenfositinin Antijenleri Tanınması ve Aktive Etmesi.....	11
1.2.8 T Hücre Reseptör Kompleksi	12
1.2.9 T Hücre Reseptör Sinyal İletimi	12
1.2.10 T Hücre Çoğalması	13
1.2.11 T Hücresinin Gelişimi.....	14
1.2.12 T Hücre Fonksiyonları	14
1.2.13 T Hücresi Yorgunluğu	15
1.2.14 T ve B Lenfositleri	15
1.3. Miyeloperoksidaz (MPO) ve Adenozin Deaminaz (ADA).....	16
1.3.1 Adenozin Deaminaz (ADA)	16
1.3.2 Miyeloperoksidaz (MPO)	17
1.3.3 Antibakteriyel Etkisi	18
1.4 <i>Eremurus spectabilis</i> M.Bieb (Çiriş Otu)	18
1.4.1 Çiriş Otunun Kullanım Alanları ve Besin Değeri.....	19
1.4.1.1 Gıda Olarak Kullanımı	19
1.4.1.2 Tıbbi Olarak Nasıl Kullanılır?.....	19

1.4.1.3	Sanayide Nasıl Kullanılır?.....	19
1.4.1.4	Besin Değerleri.....	19
1.4.1.5	Çiriş Bitkisinin Morfolojik Özellikleri.....	20
1.5	Araştırmanın Amacı	21
2.	KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....	23
3.	MATERYAL VE YÖNTEM	29
3.1	Bitki Materyalı	29
3.2	Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması	30
3.3	Bitki Ekstresinin Karakterizasyonu ve Nanopartikül Sentezlenmesi.....	31
3.4	Deney Muamele Şeması.....	32
3.5	Deney Hayvanları.....	34
3.6	Doku Homojenizasyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi	34
3.7	Analizlerin Yapılması	35
3.8	Flow Sitometrik İnceleme	35
3.9	Dokuda Miyeloperoksidaz (MPO) Enzim Tayini	35
3.10	Dokuda Adenozin Deaminaz Enzim Aktivite Tayini	37
3.11	İstatistik Analizler	39
4.	BULGULAR.....	41
4.1	Flow Sitometrik Analizler.....	41
4.2	Adenozin Deaminaz (ADA) ve Miyeloperoksidaz (MPO Enzim Aktivitesi).....	42
4.2.1	MPO Enzim Aktivitesi.....	42
4.2.2	Adenozin Deaminaz Enzim Aktivitesi	44
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	45
5.1	Bitki Materyali	45
5.2	Deney Muamele.....	45
5.3	Adenozin Deaminaz	46
5.4	Miyeloperoksidaz.....	48
5.5	Flow sitometri	50
5.5.1	Süpresör/Sitotoksik T lenfositleri (CD8).....	50
5.5.2	Olgun T lenfositleri (CD3)	51
5.5.3	Yardımcı T Lenfositler (CD4)	52
5.5.4	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ oranı	54
	KAYNAKLAR.....	57
	ÖZ GEÇMİŞ.....	66

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.1 Numunelerin Okumaya Hazırlanma Aşamaları (MPO enzimi için)	36
Çizelge 3.2 Numunelerin Okumaya Hazırlanma Aşamaları (ADA enzimi için)	38
Çizelge 4.1 Çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstralarının immün sistemin bazı hücrel unsurları üzerine etkileri.....	41
Çizelge 4.2 Çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstralarının bazı dokuların enzimatik immün sistemin unsurlarından olan Miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri üzerine etkileri	42
Çizelge 4.3 Çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstralarının bazı dokuların enzimatik immün sistemin unsurlarından olan adenzin deaminaz (ADA) aktiviteleri üzerine etkileri.....	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.1 *Eremurus spectabilis* M.Bieb; (a) çirişlik alan, (b) yaprak, (c) kök ve rizom, (d-e-f) meyve, (g) tohum” (Keskiner ve Tuncer, 2019) (Fotoğraf: K. Keskiner). 21
- Şekil 3.1 *Eremurus spectabilis* M. Bieb. toplandığ yer 29
- Şekil 3.2 *Eremurus spectabilis* M. Bieb. yapraklarının ayrılması ve paketlenmesi..... 30
- Şekil 3.3 *Eremurus spectabilis* M. Bieb. Etanol ekstrelerinin hazırlanması..... 31
- Şekil 3.4 Nanopartikül ekstrelerinin hazırlanışı..... 32
- Şekil 3.5 Liyofilize ve nanopartikül bitki ekstrelerinin deneysel uygulama aşaması.... 34





SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
-----------------	-----------------

%	Yüzde
β	Beta
μ	Mikro
μ l	Mikrolitre
C°	Santigrat derece
dk	Dakika
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nmol	Nanomol
pH	Hidrojen gücü
rpm	Devir/dakika
sn	Saniye
U	Ünite

Kısaltmalar	Açıklama
--------------------	-----------------

ADA	Adenozin Deaminaz
CCl ₄	Karbon Tetraklorür
CD3 ⁺	Olgun T Lenfositleri
CD4 ⁺	Yardımcı T Hücresi
CD8 ⁺	Sitotoksik T Hücresi
DADP	Deoksisedenozindifosfat
DATP	Deoksidenosintrifosfat

DEN	Dietilnitrozamin
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HSK	Hepatosellüler Karsinom
IMP	İnozinamonofosfora
LBE	Liyofilize Bitki Ekstresi
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MPO	Miyeloperoksidaz
NBE	Nanopartikül Bitki Ekstresi
PB	Fenobarbital
TAA	Tiyoasetamid



1. GİRİŞ

Hepatosellüler Karsinom (HSK) ve intrahepatik hücre duplikasyonu primer karaciğer tümörlerinin çoğunluğunu oluşturur. Dünya çapında her yıl yaklaşık 800.000 yeni HSK vakası teşhis edilmiştir (Tuncer vd., 2009). Ölüm oranı oldukça yüksek olan HSK'nın, cinsiyeti erkek olanlarda kadın cinsiyetindekilere göre daha sık görüldüğü ortaya konmuştur. HSK; özel olarak hepatit B ve C enfeksiyonlarının yüksek olduğu bölgelerde (Batı ve Güney Afrika ve Uzak Doğu) yaygındır (Bosch vd., 2004). Aflatoksin B1, hepatit B ve C enfeksiyonları, alkol, fenobarbital, 2-asetilluminoflor, tiyaiketamid ve nitrozaminlerin HCC oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (Rostkowska vd., 1998).

Dietilnitrozamin, N-Nitroso alkilamin yapısına sahiptir ve insan sağlığını kötü etkileyen kanserojen bir kimyasal maddedir (Paula Santos vd., 2014). Dietilnitrosamin; tütün dumanının üstünde, kurutulmuş ve kızartılan gıdalarda, kozmetiklerde, tarım ilaçlarında, alkollü içeceklerde, dönüştürülmüş olan et ürünleri, tarımdaki kimyasallar, peynirde, yüksek oranda nitrat içeren yer altı sularında ve silgi lifleri gibi endüstriyel ürünlerinde bulunur.

Çiriş otu, dünya çapında 50'den fazla türü olan Liliaceae familyasının bir üyesi olan Asphodelaceae familyasının Asphodelus türünü oluşturan bitkilerin ortak adıdır (Tuzlacı, 1985; Bursal vd., 2013). Ortadoğu, Kafkaslar ve Türkiye gibi birçok ülkede yetiştirilmektedir (Pourfarzad vd., 2014). Ülkemizde ağırlıklı olarak Doğu ve Güneydoğu ile İç Anadolu bölgelerindeki dağlarda yetişir (Karaca vd., 2015). Yöre halkı tarafından dağ pırasası veya gülik olarak bilinen çiriş otu, 1000-2750 m yüksekliğinde, çalılar arasında ve kayalık yamaçlarda yetişir. Bol olduğu yerlere çirişlik denir. 50-150 cm uzunluğundaki ince yaprakları, 8-14 cm çapında rozetler, yer altı organları ve 3-4 cm çapında etli yumrulardır. Etli yaprakları koyu yeşil, parlak değil, 20-60 cm uzunluğunda, 3.5-4.5 cm genişliğinde, 6-10 adet buket şeklindedir. Yapraklar, B vitaminleri, C, fosfor, demir, bakır, kalsiyum, potasyum, magnezyum ve sodyum içerir. (Karataş vd., 2011, Tosun vd., 2012, Yıldırım vd., 2001). Yapılan bir çalışmada yapraklar, yetişkinlerin günlük K, P, Ca ve Mg ve antioksidan gereksinimlerini karşılamalarına yardımcı olabilecek %86-92 su, %1.14 protein ve %0.8-1.1 kül içerdiği bildirilmiştir. Bitkinin yeşil yaprakları ke-

silip yerden toplanarak (Bursal vd., 2013) yöresel yemekler, otlu peynirin yapımında kullanılmaktadır (Özçelik, 1989). Ayrıca maya sanayinde, bağcılıkta, yün ayakkabı bağlama ve kaplamada kullanılır (Baytop, 1984).

1.1 Karaciğer Karsinomu Hücresel ve Enzimatik Bağışıklık Sistemi

Kanser, son yüzyılda insanlığın karşı karşıya olduğu hastalıklardan biridir ve toplumdaki görülme sıklığı her geçen gün artmaktadır. Kanser, dünyada ikinci olan ölüm nedenidir. Kanser araştırmalarına göre kanser hızla büyüyor ve 2030 yılına kadar ilk sırayı alacağı tahmin ediliyor. Kanser, dünya çapında artan mortalite ile ilişkili sosyal sorunlardan biri haline gelmiştir. Her sene dünya genelinde 8 milyondan fazla kişiye teşhis konmaktadır (Jemal vd., 2011). Genellikle karaciğer kanserinde yapılan araştırmalar, sağlıklı beslenme ve hayat tarzı değişiklikleri gibi unsurlarla kansere karşı korunabileceğimizi göstermektedir (Anand vd., 2008).

Kanser hücreleri iki ana özellik ile ifade edilir. Birincisi; kanser hücrelerinin, diğer hücrelerin bölgelerine yayılarak hücre bölünmesinin normal sınırlarının ötesinde çoğalmasıdır. Hücrelerin çoğalması kontrol altına alınmazsa kanser veya neoplazi yani birkaç normal kitle (neoplastik hücre) oluşur ve bu tümörler birleşerek tek bir kitle haline geldiğinde buna benign denir. Bu durumda cerrahi bir müdahale ile tam bir iyileşme mümkündür. İkincisi; tümör kötü huyluysa ve hücreler çevre dokuyu istila etmişse malign denir (Alberts ve Wagman, 2008). Bu hücrelerin yapısal kriterleri, büyüme hızı, salgılanan spesifik proteinler, lokal invaziv durumlar ve metastaz yapabilme gibi çeşitli etkiler dikkate alınarak iyi huylu ve kötü huylu tümörler birbirinden ayırt edilebilir (Onat vd., 2006).

Çoğu kanserin başlangıçta tek bir değiştirilmiş hücreden kaynaklandığı düşünülmektedir. Mutant hücrelerden oluşan yeni bir nesilde çok çeşitli ve sonsuz sayıda mutasyon ortaya çıktıktan sonra kanser hücrelerinin oluşmaya başladığı söylenmektedir. Bu tümörlerin gelişimi, somatik hücrelerde doğal seçim ve mutasyon yoluyla, genellikle uzun yıllar süren talihsiz bir evrim sürecini yansıtır. Bu durumda, tümörler doku ve hücre tipine göre sınıflandırılır. Epitel hücrelerden kaynaklanan tümörlerin kanserine sarkom, melanin üreten pigment hücrelerinin neden olduğu kanser türüne ise melanom denir. Bununla birlikte, kan hücrelerinden kaynaklanan birkaç lösemi türü ve sinir sistemi hücrelerinden kaynaklanan tümörler vardır (Alberts ve Wagman, 2008).

1.1.1 Karaciğer Kanseri

Küresel olarak, Hepatosellüler Karsinom (HCC), dünyada en sık meydana gelen kanser türlerinden yedinci sıradayken, kanser ölümlerinde ise ikinci sıradadır. Erkeklerde kadınlara göre 3 kat daha çok görülür (Jemal vd., 2011).

HCC'li hastaların çoğu, hepatit B virüsü (HBV), hepatit C virüsü (HCV), kronik karaciğer hastalığı ve siroz geçmişi sahiptir (El-Serag ve Rudolph, 2007). Sirozun nedenine bağlı olarak karaciğer kanseri gelişme oranları değişkenlik göstermektedir. Ülkemizde HCC'nin en sık görülme sebebi hepatit B ve C enfeksiyonlarıdır. Bunun yanında alkol, karaciğer yağlanması sonucu meydana gelen siroz ve hepatit C'dir. Fakat artan obezite ve enfeksiyonların kontrol edilebilir olması nedeniyle, karaciğer yağlanmasına bağlı oluşan karaciğer kanserlerinin ilk sırada olması beklenmektedir. HCC gelişiminin nedenleri arasında aflatoksinle kontamine besin tüketimi, diyabet, obezite, hemokromatoz kalıtsal durumlar ve bir takım metabolik sorunlar yer alır (Montalto vd., 2002; Gomaa vd., 2008).

Bir karaciğer tümörü üç bölümden oluşur. Bunlar iyi huylu tümör, birincil ve ikincil kötü huylu (metastatik) tümörlerdir. Primer iyi huylu tümörler nadirdir ve karaciğer kanserlerinin %5'inden azını oluşturur. En önemlileri hepatic lavmanlar, canlı adenomlar (bezsiz kökenli (orijinal) olan veya bezsiz bir yapıda meydana gelen iyicil (benign) tümör), fokal nodüler hiperplazi (karaciğer parankimindeki arteriyel bir malformasyon) ve safra kanallarının adenomlarıdır. Primer malignitelerin %70'inden fazlası canlı karsinomlar, %14'ü kolanjiyo (safra kanalı) karsinomlar ve geri kalanı mezenkimal tümörlerdir. Çocukluk çağı hepatoblastomu, karaciğer kanserlerinin %2'sini oluşturur. Kolon-hepatik metastaz en önemli metastatik tümördür. Lenf bezlerinden sonra en sık görülen metastazlar karaciğerdir. Otopside kansere bağlı ölümlerinin %25-50'sinde karaciğer metastazı bulunmuştur (Varolüneş vd., 1997).

Karaciğere metastaz yapan en yaygın tümörler akciğer, meme ve kolondur. Primer karaciğer tümörleri çok nadirdir. En sık görülen iyi huylu lezyonlar kavernoöz hemangiomdur (Cildin daha derin katmanlarında meydana kan damarların genişlemesi). Lösemi ve lenfoma gibi karaciğerden vücudun herhangi bir yerine yayılabilir (Cotran vd., 1994). Karaciğerde en sık görülen hepatosellüler karsinom, endemik viral hepatitis tümörlerin %20-40'ını oluşturur (Cotran vd., 1994). Karaciğer kanserlerinin %83'ü az gelişmiş ülkelerde bulunur ve en yüksek oranlar Asya ve Afrika'dadır (Ferlay vd., 2015). Karaciğer

kanseri insidansındaki eğilimler dünya çapında değişiklik göstermektedir. Örneğin, Asya Pasifik Adası'ndaki insanlar arasındaki karaciğer kanseri oranları, son 15 yılda ya sabit kaldığı ya da azalma eğilimi gösterdiği görüldü (Petrick vd., 2016). Kore'de, 1999-2014 yılları arasında karaciğer kanseri insidansının arttığı bildirilmiştir (Jung vd., 2017). Kore'de karaciğer kanseri insidansının en düşük olduğu neoplazmalardan biridir. Tüm kanser vakaları için, karaciğer kanserinin insidansı erkek bireylerde %1.92 ve kadın bireylerde %1.65'tir. Güney Anadolu bölgesinde en sık görülen kanser türleri arasında kadınlar bireylerde 10., erkekler bireylerde 8. sıradadır (Tuncer vd., 1994).

1.1.2 Karaciğer Kanserlerini Etkileyen Faktörler

Kanser çok geç tespit edildiği takdirde hastanın ölmesi muhtemeldir. Karaciğer kanseri 2012 yılında bildirilen yaklaşık 800.000 vaka ile dünya çapında en yaygın kanser türüdür. Karaciğer kanseri neredeyse her zaman ülke çapında hastalığa neden olur, ancak bu hastalığın nedenleri dünya çapında değişir. Bunlara hepatit B virüsü, zayıf beslenme, hareketsizlik ve mikotoksinler dâhildir. Aşılar hepatit B'yi önleyebilir ve daha iyi sağlık alışkanlıkları yağlı karaciğer hastalıklarının ilerlemesini yavaşlatabildiği gibi durdurabilir de. Tarımdaki iyi uygulama ve saklama koşulları ile küf gelişimi sınırlandırılabilir (Gravitz, 2014). Kronik hepatit B veya C enfeksiyonu, bazı metabolik karaciğerdeki ve siroz hastalıkları ve karaciğer kanseri için risk faktörlerinin %80'inini oluşturur (Zhou vd., 2016). Tehlikeli olan hava kirleticisi de karaciğer kanserlerinde risk faktörüdür. Artan üretim nedeniyle daha fazla hava kirleticisine maruz kalmayla da karaciğer kanserine yakalanabileceği bulunmuştur (Cicalese vd., 2017).

Karaciğer rezeksiyonu, karaciğer nakli ve perkütan rezeksiyon gibi cerrahi müdahaleler, potansiyel olarak tedavi edilebilir karaciğer kanseri için en etkili yaklaşımlar olarak kabul edilir. Ne yazık ki, karaciğer kanseri hastalarının sadece %20'si peperiküler olmayan ve metastatik hasar nedeniyle ameliyat edilebilmektedir. Bununla birlikte, klinik yararın orta düzeyde olduğu ve sorafenibin (tirozin kinaz inhibitörleri sınıfına dahil edilen bir ilaçtır) hastaların yaklaşık %30'unda yararlı olduğu ve 6 ayda ilaç direncine karşı bağımsızlık kazandığına ulaşılmıştır (Chen vd., 2015). Öte taraftan, karaciğer kanserlerinde

kemoterapi ilaçları sınırlıdır ve reçete ile satılan ilaç grubu olan sorafenib en yaygın kullanılandır. Bir faz 3 denemesi, sorafenibin genel sağkalımı ve ilerleme süresini iyileştirebileceğini göstermiştir (Bruix vd., 2012; Wu vd., 2014).

Karaciğer hastalığına yakalanan ve yakalanmayan hastalarda karaciğer karsinomu insidansını karşılaştırmak için retrospektif bir tasarım uygulanmıştır. 66.192 kişi hastalık grubunda ve karaciğer hastalığına yakalanmayan birçok sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan bir çalışmada; yaş ve gelir düzeyine göre sınıflandırılan her grup arasındaki ilişkiyi belirlemek için tüm hastalar için Coxorran riskinin regresyonu yapılmıştır. Alt grupların analizi, karaciğer hastalığının varlığının hem gençlerde hem de yaşlılarda önemli bir risk faktörü olduğunu ve ilaç kullanan hastaların (düşük gelirli gruplar) karaciğer hastalığı riskinin daha yüksek olduğunu ortaya koydu. 50 yaş altı gençlerde karaciğer kanseri görülme sıklığına dikkat çekmek ve gelir düzeyi düşük hastalarda karaciğer kanseri görülme sıklığını azaltmak için önleme çalışmalarına ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (Suh vd., 2018).

1.1.3 Karaciğer Kanserinin Tanısı ve Olan Tedavi Yöntemi

Hepatosellüler karsinom öldürücü bir neoplazmdır. Bazı çalışmalarla, canlı karsinomların sirozlu kişilerde önde gelen ölüm sebebi olduğu gösterilmiştir (Liccioni vd., 2014). Karaciğer sirozu bu malignite için en yüksek risk faktörüdür (Hartke vd., 2017).

Hücreler γ -pocotrienol ve kemoterapötik ilaçlarla tedavi edildiğinde sinerjistik etkiler gözlenmiştir (Özyurt, 2017). Hepatosellüler replasmanın ana etiyolojisi, hepatit B ve hepatit C virüsleri ile kronik enfeksiyondur. Hepio-hücre replasman tedavisi, tümörün ilerlemesi ve karaciğerin korunması dikkate alınarak seçilir. Hepatektomi, karaciğer nakli, bölgesel tedavi, geçici reflaksoloji, kemoterapi ve radyoterapi tercih edilebilir (Yamashita ve Kaneko, 2016). Erken hepatosit duplikasyonunun tedavisi esas olarak cerrahi eksizyon ve transplantasyondan oluşur, ancak lokal tedavi ve soyefenib, cerrahinin en ilerlemiş olduğu veya cerrahinin gerekli olduğu durumlarda faydalıdır. Bazen cerrahi ve topikal tedavinin bir kombinasyonu gerekebilir. Bu nedenle, hepatosellüler karsinomun tedavisinde optimal sonuçlar elde etmek için, optimal tedaviyi ve çeşitli tedavilerde zamanlamayı belirlemek için multidisipliner bir yaklaşımın gerekli olduğu ortaya konmuştur (Grandhi vd., 2016).

Karaciğer kanserinin tanı ve tedavisindeki ilerlemeler, hastalığın erken evrelerinde tedavi olma şansını arttırmıştır (Sun vd., 2016). Kanser tedavisinden sonra tekrarlama olasılığının en aza indirilmesi, tümör kök hücrelerinin yok edilmesine bağlı olduğu söylenmektedir. Tümör kök hücreleri, kanser hücreleri oluşmadan önce kemoterapiye dirençli hücrelerdir. Tümörlerde kanser kök hücre alt popülasyonlarının tanımlanması, kanser gelişimine yeni bakış açıları sağlar. Bu anlayış, tümör kök hücrelerinin tümörleri yok etmek için hedeflenebileceğini ve bu şekilde kanser tedavisinin daha etkili olabileceğini ve hastalık nüksetmesinin önlenebileceğini düşündürmektedir. Genel olarak karaciğer karsinomunda kök hücrelerin tümör büyümesinden, karaciğer yetmezliğinden ve nüksetmesinden ve ayrıca kemoterapi ve radyoterapinin başarısızlığından kaynaklı olduğuna inanılmaktadır (Xu vd., 2010). Bu bilgi, çoğu karaciğer kanserinin tedavisinin çoğu kanser hücresini öldürürken, tedavilerin genellikle yeni tümörler oluşturabilen kök hücrelerden kurtulamadığını göstermektedir. Bu sebeple, kanser kök hücre teorisi, tümörlerin teşhis edilmesi, tedavi edilmesi ve önlenmesi hakkında yeni bilgiler sağlar.

1.1.4 Dietilnitrozamin (DEN) ve Hepatosellüler Karsinom (HCC)

Karaciğer, pestisitler, gıda katkı maddeleri, farmasötikler gibi yüzlerce kimyasalın ilk hedef bölgesidir. Hepato-kanserojen bileşiklerin belirlenmesi ve karaciğer hücrelerinin karsinojen olması esnasında hücresel ve moleküler aşamaların anlaşılması süregelen bir zorluktur (Bakiri ve Wagner, 2013).

HCC için hayvan modelleri oluşturup çalışmak hastalığın tanı ve tedavisi açısından oldukça önemlidir. HCC incelemek için yıllardır kemirgen hayvanlar kullanılmıştır. Ratlar, insanlara moleküler ve genetik benzerlikleri, üreme özellikleri, kısa ömrü ve genetik mühendisliğinin ulaştırdığı sonsuz özellikler sebebiyle eniyi deneysel yollardan biridir (Bakiri ve Wagner, 2013).

Bazı kimyasallar, uygun dozlarda ve uygun zamanlarda uygulandığında tümör oluşumunu tetikler. Kimyasal olarak tetiklenmiş maddelerin avantajı, insanlarda görülen yaralanma-fibroz-malignite şemasına benzemesidir. Bu, onları HCC araştırmaları için favori maddeler yapar (Heindryckx vd., 2009).

Nitrozaminler 1956'dan sonra araştırılmış ve 300'e yakın nitrozamin ve N-nitroso bileşikten %90'ının kanserojen olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bunların çoğu organa özgüdür.

Örneğin, Dimetilnitrozamin deney hayvanlarında karaciğer kanserine, tütüne has bazı nitrozaminler akciğer kanserine yol açar. Nitrozaminler insan ve hayvan dokularında aynı biçimde yıkıldığından, insanların nitrozaminlerin kanserojen özelliklerinden etkilenme ihtimalleri yüksektir (Scanlan, 2000).

Mutasyona sebep veren bir ilaç olan Dietilnitrozamin (DEN), 60'lardan beri kemirgenlerde HCC'yi uyarmak amacıyla kullanılmaktadır (Rajewsky vd., 1966) ve farelerde karaciğer kanserini tetiklemede yaygın kullanılan kimyasaldır. DEN, mutajenik DNA parçalarının oluşmasına yol açan bir DNA alkilleyicidir.

Erken dönemde uygulandığında kanserojen olan DEN, daha sonraki uygulamalarda tümör tetikleyici gerektirir ve bu amaçla tiyoasetamid (TAA), fenobarbital (PB), karbon tetraklorür (CCl₄) ile birlikte kullanılır (Park vd., 2010).

Genelde HCC deneyi oluşturmak için iki aşamalı bir model olarak önce genotoksik bileşik uygulandıktan sonra bir uyarıcı uygulanır. Bir başlatıcı olarak DEN ve bir teşvik edici ajan olarak Tiyoasetamid (TAA) uygulanabilir (Heindryckx vd., 2009).

Tiyoasetamid (TAA), enjeksiyonla veya içme suyuyla hayvanlara verilebilen bir hepatotoksindir. 10-15 haftalık uygulamalardan sonra farelerin karaciğerlerinde fibrozise neden olur (Salguero Palacios vd., 2008). Bileşiğin oksidasyon özellikleri nedeniyle hepatotoksik etkiler ortaya çıkar bunun sonucunda ise oksidatif stres ve karaciğerde hasar gözlemlenir (Heindryckx vd., 2009)

1.2 Bağışıklık Sistemi (İmmün Sistem)

Bağışıklık sisteminin rolü, yabancı organizmaları tanımak ve bir bağışıklık tepkisi oluşturmak için reaksiyon göstermektir. T ve B lenfositleri özellikle bağışıklık sisteminde yer alır. Lenfositler üç tip yabancı madde ile reaksiyona girer (Lichtman ve Abbas, 1997).

➤ Lenfositler (özellikle CD4⁺ T lenfositleri) tolerojenik antijenler ile karşılaştıkları zaman ya fonksiyonel duyarsızlık (anerji) sergilerler ya da apoptozdan sonra ölürlere (İmmün Tolerans).

➤ Lenfositler immünojenik antijenler ile karşılaştıkları zaman aktive olurlar ve bu yabancı antijenlere karşı bir immün yanıt oluştururlar.

➤ Lenfositler, immün olmayan antijenler ile karşılaştıkları zaman, antijeni görmezden gelirler (Lichtman ve Abbas, 1997).

Bağışıklık sisteminin amacı yabancı maddelerin vücuda girmesini engellemek ve varsa hastalık sebebinin yok etmektir. Bağışıklık sistemi hücrelerinin yabancı bir maddeye verdiği tepkiye "bağışıklık tepkisi" denir. Bu sistemi inceleyen bilime "immünoloji" denir. Bağışıklık mikrobiyal, toksik veya alerjik yollarla tanınma sistemlerine göre memeli konakçıda olmayan, mikrop ve toksinlerle paylaşılan maddeleri doğuştan sahip olunan mekanizmalarla bilen doğal (innate) bağışıklık sistemi ve gen düzenleme sistemleri ile orijinal yapılar için özgülük sağlayan kazanılmış (adaptif) bağışıklık sistemi olarak iki gruba ayrılır (Chaplin, 2010).

1.2.1 Doğal Bağışıklık (İnnate)

Doğuştan gelen bağışıklık mekanizması, radyasyon ve biyokimyasal maddeler yoluyla mikroorganizmalara ve zarar görmüş dokulara karşı bir bağışıklık tepkisi oluşmasına neden olur. Hemen hemen tüm organizmalar çeşitli doğuştan gelen bağışıklık mekanizmalarına sahiptir. Doğuştan gelen bağışıklığın temel görevi, yabancı organizmaları tanımak ve onlara karşı bir bağışıklık tepkisi oluşturmaktır. Doğuştan gelen bağışıklık, konuk ve konuk olmayan yapılar arasında ayırım yapar, ancak bu mekanizma antijene özgü değildir. Mikropların evrimsel olarak korunan yapısındaki belirli moleküllere çarparak çalışır (Mannoz, lipopolisakkarit vb.). Doğuştan gelen bağışıklık, yabancı mikroplara hızla yanıt verir, ancak bu tepkilerin anılarını yaratmaz. Tamamlayıcı sistemin elemanları, proteinler ve akut faz sitokinleri gibi bazı kimyasal araçlar, dokuları patojenlerin istilasından korumak için inflamatuvar yanıtta yer alır. Bağışıklık yanıtının altı hızı ve bu yanıtın önceden tasarlanmış gelişimi, bu yanıtın özgülüğünü ve uyarlanabilirliğini engeller. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin yanıt kanalları dağınık ve non-spesifik olduğundan, bu bağışıklık yanıtı sırasında bir miktar hasar meydana gelebilir. Spesifik olmamakla birlikte doğuştan gelen bağışıklık çok etkilidir ve genellikle vücudu mikroorganizmaların yayılmasına karşı korur ve patojenleri yok eder.

Mikroorganizmaların hastalığa neden olma yetenekleri genellikle doğal bağışıklıktan kaçma ve direnme yeteneklerine bağlıdır. Doğal bağışıklık sistemi birçok sistem tarafından düzenlenir. Bu sistemlerdeki hücreler makrofajlar, dentritik hücreleri, nötrofiller, mast hücreleri, doğal öldürücü hücreler (NK) ve doğal lenfoid hücreleridir. Bu hücrelerden makrofajlar ve nötrofillerin fonksiyonu fagositoz yapmalarıdır.

Nötrofillerin bir başka işlevi ise patajenlerin ortadan yok olmasını sağlayan enzimlere sahip olmalarıdır. Nötrofil hücrelerin ömürleri kısa iken makrofajların onlara göre daha uzundur. Ve makrofajlar T lenfositlere antijen oluşumunda da görev alırlar (Silva ve Correia-Neves, 2012). Dentritik hücreler doğal ve adaptif bağışıklık arasında haberci hücre olarak görev alarak adaptif bağışıklığı başlatır (Wang vd., 2018). Bazofiller ve mast hücreleri alerji gibi akut yangısal tepkilerin oluşmasına katkı sağlarlar. Mast hücreleri kan damarlarının etrafındaki bağ dokularda bulunuyorken, bazofiller dolaşımda bulunurlar. Granülositlerden eizonofiller fagosit özelliği var olan fakat fagosit uğrayamayacak kadar büyük olan parazitlerin yok edilmesini sağlarlar. NK hücreleri de virüs ile muamele olan hücreleri veya tümör hücrelerini yok etmede görev alır (Paul ve Lal, 2017).

1.2.2 Kazanılmış Bağışıklık (Edinsel, Adaptif)

Bir anlamda, vücuda sıçrayan doğuştan gelen bağışıklık elemanlarını istila eden yabancı mikroorganizmalar, adaptif bağışıklık mekanizmasını harekete geçirir.

Edinilmiş bağışıklıkta, uzun bir süre boyunca bir bağışıklık tepkisi oluşur, ancak bağışıklık bir antijen hedefi olduğu için hafıza biriktirilir, bu nedenle vücut aynı antijenle karşılaştığında, bağışıklık tepkisi daha kısa sürede gerçekleşir.

1.2.3 Humoral İmmunite

B lenfositlerin ve bu lenfositlerin uyarılmasıyla meydana gelen antijenlere özgü immunoglobulin yapıdaki antikorlar humoral bağışıklıkta esas görev alan moleküllerdir. B lenfositlerin gelişimi kemik iliğinde başlayıp dalakta son bulur. B hücrelerine antijen bağlanması ve aktive olmasından sonra proliferasyona uğrarlar ve hızlı bir şekilde antikor salgılanmaya başlar. B hücreleri antijenlerin bulunduğu germinal merkeze girer ve burada somatik hipermutasyona uğrar ve antikorun antijene bağlanmasında artış gözlenir. Bu artış sonucu B hücreleri hafıza hücrelerine ya da plazmablastlara dönüşebilir (Heesters vd., 2016; Yuseff vd., 2013).

1.2.4 Hücresel İmmunité

İmmün hafızanın oluşmasında ve homeostazının sürdürülmesinde görev alan T hücreleri hücresel immün yanıtı oluştururlar. T lenfositleri tümör gibi çeşitli antijenleri tanıyan reseptörleri ifade ederler. T hücre reseptörleri (TCR), $CD4^+$ $CD8^+$ gibi alt türlere timüsta ayrılır (Famili vd., 2017).

1.2.5 T Lenfositler

Kemik iliğinden gelen T hücreleri timusta büyür ve bağışıklık sisteminin çalışma seviyelerine ulaşır. Hücreler, gelişim sırasında timusa T (TCR) hücre reseptörlerini alır. T hücreleri kemikte kendi antijenlerini yabancı antijenlerden ayırt etme yeteneği kazanır ve daha sonra periferik dolaşıma geçer. Bazı olgun T hücreleri, $CD4^+$ 'ü ve diğerleri $CD8^+$ yüzey moleküllerini ithal eder. Periferik kan lenfositlerinin çoğu, $CD4^+$ yüzey antijenini taşıyan bir tür T lenfositlerdir. $CD4^+$ molekülünü taşıyan T lenfositler, T-eksikliği olan T lenfositler (THA, T helper) ve $CD8^+$ molekülünü taşıyan T lenfositler ($CD8^+$ T), sitotoksik T lenfositlerdir. T lenfositleri, bağışıklık yanıtında önemli bir rol oynar (Janeway vd., 2001).

T Lenfosit'leri

- Yardımcı T Lenfosit
- Sitotoksik T Lenfosit
- Düzenleyici T Lenfosit alt gruplarından oluşmaktadır.

Sitotoksik T lenfositler, hücre içi patojenlere karşı bağışıklıkta rol oynar. Patojenik reseptörler, patojenle enfekte olmuş hücrelerin yüzeyinde bulunur. Bu reseptörleri tanıyabilen ve bu reseptörlere özgü olan sitotoksik T hücreleri, bunlarla temas geçer. Reseptörle temas eden T hücreleri, enfekte olmuş hücreye bir ölüm işareti gönderir. Bu ölüm izinden sonra istiridye hücreleri öldüğünde enfeksiyon ortadan kalkar. T hücreleri ve ilgili reseptörleri bir ilişki ile bağlanır. T hücreleri, gerekli bağışıklık tepkisini oluşturmak için doğru şekilde sunmalı ve bu antijenleri tanımalıdır. T hücreleri, antijenleri T hücresi reseptörü (TCR) aracılığıyla tanır. TCR'ler bir bağışıklık tepkisi sağlar. TCR'ler taşıdıkları polipeptit zincirine göre gruplandırılır. Periferik kandaki çoğu T hücresi (%90-95) $TCRA\beta$ 'yı getirir ve antijene bağlanma MHC'ye bağımlıdır. $TCRA\beta$ hücreleri, $CD4^+$

veya CD8⁺ yüzey moleküllerini taşır ve doğrudan bağışıklık yanıtlarında yer alır. T hücrelerinin küçük bir bölümü (%10-15) ayrıca TCαδ taşır. Genellikle epidermis ve mukus yüzeylerde bulunurlar. Farkındalık γ Markets, TCR MHC ile bağlantılı değildir.

1.2.6 T Lenfositlerinin Antijenleri İşlemesi ve Tanınması

Antijen sunan hücreler, vakuole giren antijenleri pinositoz ve fagositoz yoluyla ayırır. 10-15 amino asitlik bir fragmana atanan antijen parçacıkları, insan lökosit antijenine (HLA) bağlanır, hücre yüzeyine taşınır ve T hücrelerine sunulur.

HLA molekülleri, antijenleri bağışıklık sisteminin etkili hücrelerinden T hücrelerine taşır ve antijenlerden bir bağışıklık tepkisi oluşumunda ilk adımdır. Serbest formdaki antijenin sitoplazmasında, proteozom tarafından 8-9 amino aside bölünür, antijen molekülünden endoplazmik retikuluma taşınır ve daha sonra MHC sınıfı moleküllere ve onlardan T hücrelerine sunulur (Janeway vd., 2001).

1.2.7 T Lenfositinin Antijenleri Tanınması ve Aktive Etmesi

T-hücresi aktivasyonu için ilk sinyal, sınıf I veya sınıf II MHC moleküllerinin antijen bağlama alanları ile etkileşimi yoluyla meydana gelir ve bu da TCR anahtar blok modeliyle sonuçlanır. MHC molekülü insanlarda HLA olarak adlandırılır. CD8⁺ hücreleri, MHC sınıf I moleküller tarafından sunulan antijenleri tanır ve T CD4⁺ hücreleri, MHC sınıf II molekülleri tarafından sunulan antijenleri tanır.

T hücresi yüzeyinde uyarılan CD28 moleküllerinin tepkisini takiben, antijen sunan hücreler üzerindeki ligandlar hakkında ikincil bir rapor oluşur. Bu yanıttan önce, yalnızca 12 T hücresi, ilk sinyal tarafından yeterince aktive edilmedikleri için işlev göremezler.

Üçüncü sinyal, TCR'nin antijenle etkileşiminden sonra hücrelere giren sinyaller yoluyla çeşitli genlerin transkripsiyonu ve sitokin sentezidir. Bu olaydan sonra protein tirozin kinaz aktivitesi artar.

1.2.8 T Hücre Reseptör Kompleksi

TCR'ler çok sınıflı komplekslerdir ve ligand bağlama ve hücre aktivasyon sinyalleri üretebilirler. TCR, bir peptit-MHC kompleksinden ve bir bağlayıcı alan A/β heterodimerinden oluşur. Küçük bir heterodimer alt kümesi γ/δ mevcuttur. α/β ve γ/δ değişken ve sabit alanlardan oluşur. Antikorlarla benzer şekilde, TCR'nin antijen bağlayıcı değişken bölgesi, T hücresi gelişimi sırasında birleşen gen segmentlerinin yeniden düzenlemelerinden kaynaklanır. Bu süreç, antijenitede çeşitlilik potansiyeli sunar.

Toplam 1018 TCR türevi elde edilebilir, ancak Timusta olgunlaşma sırasında uzaklaştırılması nedeniyle fonksiyonel popülasyon beklenenden daha azdır. Zenginleştirme programını tamamlayan her hücre, gen segmenti üretimi tarafından kodlanan benzersiz bir TCR getirir. Dalakta dolaşan lenfomalar, lenf nodları ve T hücreleri hemen hemen her şekilde tanınabilir ve tanıdıklarında sayıları artabilir.

Çalışmalar, A/β 'nin A/β 'nin heterodimerizasyonundan sonra hücre içi sinyalleri iletme yeteneğinden yoksun olduğunu göstermiştir. Bu taşımayı sağlayan, α/β heterokovalent adı verilen bir protein kompleksidir. $CD3^+$, heterodimerler olarak tanımlanan üç alt birim ϵ ve γ 'dan oluşur ve alt birimler birleşerek homodimerler oluşturur. Her alt birim, zincirleri ayrı ayrı sokan bir amino asit yapısı olan bağışıklık tepkisine (ITAM) dayalı bir etkinleştirici motif içerir. Δ , ϵ , γ bir ITAM, ζ tre ITM içerir. Üre tirozin, $CD3^+$ için gereklidir ve zincirin kodunu iletir. TCR α/β zinciri, peptit-MHC kompleksine bağlandığında fosforik asittir. Fosforilasyondan sonra element, T6 hücrelerinin aktivasyonunda bir sinyal zincirinin başladığı diğer proteinler için bir bağlanma noktası haline gelir. $CD4^+$ ve $CD8^+$ proteinleri de sinyal iletiminde yer alır. Bu partner sporcular, uygun MHC komplekslerini ($CD4^+$ -MHC sınıf II, $CD8^+$ -MHC sınıf I), biri kina olan ve ITAM aracılığıyla fosforile edilebilen sinyal moleküllerine bağlar (Malissen, 2003).

1.2.9 T Hücre Reseptör Sinyal İletimi

Ne ligand bağlama alanı ne de $CD3^+$ proteini, T hücrelerinde içsel bir enzimatik fonksiyona sahip değildir. Bu nedenle, proteinlerin tirozitinaz (PTK) aktivasyonunun MHC kompleks peptitleri ile ilişkili olup olmadığı açık değildir. Bununla birlikte, hücre yüzeyindeki TCR birikimi, süreçte önemli bir rol oynayan $CD3^+$ proteininin konforunu

değiştirir. T hücrelerinin uyarılmasından hemen sonra, PTK'lerin SRC (LCK ve FYN) ailesi aktive edilir. En önemli SH2 alanını içeren protein, SYK protein ailesinin bir üyesi olan PTK'dır. Böylece, ligand TCR'nin bağlanması, enzim reseptör kompleksinin, sitoplazmik proteinlerin aktivasyonu ve agregasyonundan sonra aktif bir PTK'ya dönüştürülmesine izin verir.

ZAP-70'in aktivasyonu, T hücrelerinin aktivasyonu için önemli olan ikincil habercilerin oluşumunu tetikleyen birden fazla fosforilasyon substratına yol açar. TCR gen segmentlerindeki rastgele değişiklikler nedeniyle kendiliğinden reaktif TCR oluşumunu önlemek mümkün değildir.

T hücre zenginleştirme programları antijene reaktif T hücrelerini ortadan kaldırır ancak bu işlem %100 başarılı değildir. Bu nedenle konuk hücreleri korumak için daha fazla mekanizmaya ihtiyaç vardır. İki sinyal gereklidir. Biri TCR aracılığıyla, diğeri ise T hücresi aktivasyonu için yardımcı uyarıcı reseptör aracılığıyla. Bu kostimülatörlerin en iyi bilineni CD28 yüzey proteinidir.

Bu kapsamlı uyarıcı gereksinim, otoimmünizasyonu önleyerek T hücrelerinin aktivasyonuna izin verir. Bunun nedeni, antijen sunan hücreler üzerindeki CD80/CD86 ligandlarının yalnızca tehlike sinyallerinin varlığında yukarı regüle edilmesidir. CD28, birkaç TCR ile uyarılan yolu güçlendirir ve spesifik olarak sfosfotidyositol-3 kinazı aktive eder. CD28 sinyali olmadan TCR bağlanması, T hücresi çağrısının değiştirilmiş bir fonksiyonel durumu ile sonuçlanır (Salomon ve Bluestone, 2001).

1.2.10 T Hücre Çoğalması

Spesifik peptit antijenlerine yanıt veren naif T hücreleri düşüktür ve patojenlerle başa çıkmak için çoğalmaları gerekir. Bu nedenle, peptit kompleksi TCR-MHC ile ortak eksitatör reseptörlerin kombinasyonu ve uyarılmasının bir başka sonucu, klonal proliferasyondur. TCR ve CD28 stimülasyonu üzerindeki ikincil dallanma kaskının bir sonucu, T hücrelerinin proliferasyonu için gerekli olan bu sitokin olan IL-2'nin üretimidir. Diğer bir sonuç, IL-2 için yüksek-yüksek reseptörün yukarı regülasyonudur. Böylece aktive T hücreleri, sitokinlerdeki bu artışlara yanıt verebilir. Proliferasyon için IL-2 reseptörü aracılığıyla sinyal verilmesi gereklidir. TCR gibi, IL-2 reseptörü de ikincil haber dizisini başlatmak için sitokinleri kullanır (Anderton ve Wraith, 2002)

1.2.11 T Hücresinin Gelişimi

T hücre bağıışıklığının yeterli olabilmesi için, sekonder lenfoid organlarda çok sayıda olgun T hücresinin bulunması gerekir. Bu hücre popülasyonu, yaşam boyunca tüm yabancı antijenleri tanıyabilen zengin bir TCR repertuarına sahip olmalıdır. Sadece yabancı antijenleri tanıyan T hücrelerinin çevreye dağılması ve antijenlerine yanıt veren T hücrelerinin gelişimini tamamlamaması önemlidir.

T hücreleri timus da olgunlaşır. En iyi bilineni α/β τ hücreleri olmak üzere birçok T lenfosit alt tipi vardır. T γ/δ hücrelerinin antijen reseptörleri, hem NK hem de T hücrelerinde ortak özelliklere sahip olan ve timusta meydana gelen, doğal olarak öldürücü T (NKT) hücrelerinde bulunur. TCR geni yeniden düzenlemeleri, TCR'nin a lokusundan kaynaklanır. Bu dönemde korteksten subkortikal boşluğa geçerler. Farklılıklar ve ilerleme, IL-7 reseptörü yoluyla meydana gelen T hücreleri üzerindeki Çentik reseptörleri ile spesifik olmayan Çentik reseptörleri arasındaki raporlama ile düzenlenir. Bu aşamadan itibaren, T hücresi gelişimi, çoğalması ve hayatta kalması, TCR sinyaline bağlıdır. Hem CD4⁺ hem de CD8⁺ ifade eden timositler artık çift pozitif olarak adlandırılmaktadır ve pozitif ve negatif seçime izin vermektedir. Toplam T hücrelerinin gelişimi için iki kontrol noktasının aşılması gerekir ve timus tarafından sunulan peptid-MHC kompleksleri tarafından uyarılmayan TCR T hücreleri apoptoz ile ölebilir. Düşük afiniteyi tanıyanlar pozitif olgun T hücrelerine dönüşür (pozitif seçim). MHC I tarafından uyarılan TCR'ler CD8⁺, MHC II tarafından uyarılan TCR'ler ise CD4⁺ haline gelir (Germain, 2002). Timositler timik kalsinom ile yüksek afinite de TCR-peptid MHC kompleksi meydana getiriyorsa apopozis olur (negatif seçim). Negatif seçim immünolojik tolerans için önemlidir. Fakat tam anlamıyla etkili değildir (Palmer, 2003).

1.2.12 T Hücre Fonksiyonları

T hücreleri timustan ayrıldıktan sonra sekonder lenfoid organlarda gezinir. Henüz bir antijenle etkileşime girmemiş olan hücreler saf T hücreleridir. Saf T hücreleri, spesifik bir antijenle karşılaşmadıklarında, lenfoid dokuyu terk eder ve kan dolaşımına yeniden katılırlar.

Çoğalma ve farklılaşma programları, saf T hücresi yeniden temas ettiğinde T hücrelerini aktive eder. Bu nedenle antijene hızlı yanıt verir. Naif ve aktive edilmiş T hücreleri arasındaki fark, hücre yüzeyindeki kemokin ve integrin reseptörlerin ifadesinde yatmaktadır. CD4⁺ ve CD8⁺ hücreleri, işlevsel olgunluğa ulaşmak için benzer farklılaşma süreçlerinden geçer, ancak enfeksiyona karşı bağışıklık tepkisinde farklı roller oynar. Saf hücrelerin her iki soyu da, TCR'nin MHC peptid kompleksi etkileşimi ile aktive edilir. Fark, antijen karşılaşmalarında yerel sitokin ortamıyla etkileşime giren TCR sinyal gücünün, diğer t-hücresi yüzey reseptörlerinin, ligandların ve ligandların uyarılmasından etkilenir. Bu sinyallerin kombinasyonu, imza transkripsiyon faktörlerinin ve anahtar efektör moleküllerin ifadesini geliştirerek olgun T-hücre fonksiyonunu gösterir (Zhu ve Paul, 2010).

1.2.13 T Hücresi Yorgunluğu

Normal koşullar altında akut enfeksiyon, patojenik T hücrelerinin ekspresyonunu, patojenlerin temizlenmesini ve hafıza T hücrelerinin gelişimini tetikler. Bununla birlikte, HBV, HCV ve HIV gibi bazı patojenler, benzersiz patojen hücrelerine rağmen tamamen ortadan kaldırılmadan yaşam boyu devam eder. Bu kalıcı enfeksiyonlar, kronik antijene sebep olup T hücrelerini öldüren ve enfeksiyonu kontrol etmeye yardımcı olan sitokinlerin üretimini durdurur. CD8⁺ yorgun T hücreleri TNF- α üretmez ve enfekte olan hücreleri parçalayamaz. Böylece, T CD8⁺ hücreleri tamamen duyarsız hale gelir ve sonunda apoptoz geçirir. İşlevsel yanıt kaybından yorulan hücreler, hücre yüzeyi inhibitörlerinin reseptörlerini düzenler. Bunlardan en bilineni programlanmış hücre ölümü 1'dir (PD1). PD-1 stimülasyonu, T hücrelerinin tepkisini baskılar (Day vd., 2006; Jin vd., 2011).

1.2.14 T ve B Lenfositleri

Normal lenfoid dokuda T ve B hücreleri olmak üzere iki tip hücre gözlenir. T lenfositleri aktif lenfosit gelişiminden sorumlu iken, B lenfositleri antikör oluşumundan sorumludur. T ve B hücreleri kemik iliğinde oluşur. T lenfositlerinin olgunlaşma aşaması

timüsta gerçekleştiği için T lenfositleri adını almıştır ve T lenfositleri hücrel immüniteden mesuldür. B lenfositler ise antikor yapımında görevlidir ve önce karaciğer daha sonra ise kemik iliğinde oluşur. B lenfositleri humoral bağışıklıktan mesuldür.

T lenfositleri kemik iliğinde oluştuktan sonra timusa geçer. Çok hızlı bölünür ve antijenlere karşı cevap oluşturmak üzere şekillenir. Bu şekilde gelişen T lenfositleri timustan ayrılarak lenfoid dokulara yerleşir. $CD3^+$, $CD4^+$ ve $CD8^+$ molekülleri kök hücrelerin yüzeyindeki reseptörlerde yoklardır fakat timustan geçerken T hücrelerine farklılaşırlar. $CD4^+$ ve $CD8^+$ molekülleri arasında sayısal veya aktivite yönünden bir tutarsızlık söz konusu olduğunda hücrel bağışıklığın bozulduğu anlaşılır. Örneğin AIDS hastalığında $CD4^+/CD8^+$ oranı azalmıştır. Yani $CD4^+$ hücre sayısı HIV virüsü nedeniyle bozulmuştur.

1.3 Miyeloperoksidaz (MPO) ve Adenozin Deaminaz (ADA)

1.3.1 Adenozin Deaminaz (ADA)

Adenosindaminaz (ADA), pürin nükleotit metabolizmasını azaltmada adenosin ve deoksidenozinin geri dönüştürülmüş hidrolitik deaminasyonunu katalize eden bir amino-idolazdır (Kaneko vd., 1996). Adenosin ve deoksidenozin metabolizmasında önemli bir adımdır ve bu nükleotitleri pürin metabolizmasının bir parçası olarak kapsülleyebilir. Adenozin, adacık adenosini (AK) veya deaminasyon yoluyla deaminaz amplifikasyonu ile inozinamonofosfora (IMP) inozine dönüştürülür (Koizumi vd., 1993).

Adacıkların ana biyolojik işlevi, lenfositleri adenozin, deoksidenosintrifosfat (DATP) ve deoksidenedozindifosfanın (DADP) toksik etkilerinden korumak, böylece lenfositlerin ve lenfositlerin bağışıklık fonksiyonunu azaltmaktır (Senesi vd., 1990).

ADA, çeşitli araştırmacıların sitoplazma ve çekirdekte bulunduğu inandıkları, insanlarda ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan bir enzimdir (Kane, 1992).

Bazı araştırmacılar, adacık aktivitesi ile immün dışsal fonksiyonlar arasındaki ilişkiyi araştırmış ve enzim eksikliğinin, proliferasyon inhibisyonu ile, özellikle T lenfositlerinin farklılaşması ile ilişkili olduğunu beyan etmiş, bu da 'hücrelerin yüksek düzeyde bozulmasına' işaret etmektedir (Onodera vd., 1998).

Mürin ADA genini Wilson ve arkadaşları, Escherichia coli'de rekombinant şekilde yapmışlar ve yapısını incelemişlerdir. E. Coli ve fare dizileri % 33 benziyorken, insan ve dizileri arasında % 83 benzerlik bulunmuşlardır. Kataliz ve Substrat bağlama bölgeleri için oldukça önemli artıkları barındırır. Bunlar kristallografik yöntemlerle tespit edilmiştir (Dolezal, 2001).

ADA enziminin iki tür inhibitörü mevcuttur. Bu inhibitörler incelemelerde, viral enfeksiyon tedavilerinde ve malign hücrelerde kullanışlıdır. Ayrıca ilaçlar insan T ve B hücre tümörlerinde immün yanıtı düzenlemektedir (Lluis vd., 1998).

Adenozin deaminazın hücre dışı şekline Ekto-ADA adı verilir ve bazı hücrelerde bu şekilde bulunmaktadır. Ekto-ADA, hücre-hücre bağlantılarının kurulmasında rol oynamaktadır. Yani Ekto-ADA lenfoid dokuların gelişmesini sağlamaktadır (Lluis vd., 1998). ADA lenfoid hücre farklılaşmasını sağlayan enzimdir. İmmünitinin değiştiği birçok hastalığı denetlemede kullanılmıştır. ADA enzimi insandaki lenfoid dokularda bulunmakta ve monositler ile makrofajların olgunlaşmasında da görev almaktadır. Hücreler farklılaşır çoğaldıkça ADA enzim aktivitesi seviyesinde değişimler meydana gelmektedir. T lenfositler ve monositler ADA aktivitesine sahiptirler. T ve B lenfositlerde ADA düzeyi fazladır fakat T lenfositlerde özellikle T4 ve T8lerde yüksek derecede bulunmaktadır. Bundan dolayı hücrel immünitinin ve T hücre etkinleştirilmesi ADA düzeyi belirteçtir (Yoneyama vd., 2003; Ateş vd., 2005). ADA'nın enzimatik aktivitesi adenozin düzeyini düzenlemektedir. Adenozin özellikle nükleik asitler için önemli bir sinyal molekülüdür (Lluis vd., 1998; Dolezal, 2001).

1.3.2 Miyeloperoksidaz (MPO)

Miyeloperoksidaz (MPO), (H_2O_2 ossidoradüktaaz), memeli nötrofillerinin granüllerinde bulunan bir enzimdir ve fagositik bakterilerin yok edilmesinde önemli rol oynar. Tanımlanan üç tip enzim vardır: I, II ve III. Kristal yapının X-ışını incelemesi, her MPO molekülünün iki alt birimden oluştuğunu doğruladı. Toplam moleküler ağırlığı 140.000 daltondur ve 2, 2 uzun polipeptit zincirine ve 2 yarı sahiptir. MPO, 1940'larda verdo-peroksidaz olarak biliniyordu, ancak daha sonra miyeloperoksidaz olarak yeniden adlandırıldı. Ortalama olarak, toplam enzim ağırlığının %3-4'ü karbonhidrattır. Birçok enzimde olduğu gibi, bazı inhibitörlerin (aynı zamanda asitler olarak da adlandırılır) bir dizi

inhibitörün aktivitesini bloke ettiği rapor edilmiştir (Fenna, 1987; Klebanoff, 1968). MPO'nun tükürükte olduğuna dair kanıtlar var. Ancak tükürükten kaynaklandığı için peroksidaz olarak tanımlanır (Güven vd., 1996).

1.3.3 Antibakteriyel Etkisi

MPO, H₂O₂ (hidrojen peroksit) ile halojen iyonlarının (bromür, klorür) varlığında antibakteriyel etki gösterir. Halojenler, iyodürler, bromürler ve klorürlerle aynı etki sırasına göre sıralanır. Yani en etkili kombinasyon MPO⁺ H₂O₂⁺ I⁻'dir. Diğer halojenlerin konsantrasyonunun artırılması antibakteriyel etkiyi artırır.

“H₂O₂'nin antibakteriyel mekanizmalardaki rolü, mikrobiyal metabolizma üzerindeki etkisidir. H₂O₂ tek başına antibakteriyel etkiye de sahiptir” (Marshall ve Lands, 1986).

Ortamdaki H₂O₂ fagositotik hücreler tarafından üretilir ve salınır. H₂O₂ konsantrasyonu da antibakteriyel mekanizmada çok önemli bir rol oynar. Bu konsantrasyon azaldıkça antibakteriyel etki azalır. MPO I, II ve III, antibakteriyel mekanizmalarda bağımsız roller oynayabilir. En güçlü etki MPO'dan oluşur. Bu etkideki fark, hedef hücrelere MPO şeklindeki bağlanmanın gücünden kaynaklanmaktadır (Carranza vd., 2006).

1.4 *Eremurus spectabilis* M.Bieb (Çiriş Otu)

Çiriş otunun besleyici özelliğinden dolayı sebze olarak tüketilebilen, sanayide ve kesme çiçek sanayinde süs toprak bitkisi olarak kullanılabilen, tükenmiş bir yabancı bitki türüdür. Liliaceae familyasının *Eremurus* cinsine aittir. Bu türün yaklaşık 50 türü vardır. *Eremurus* türleri, Ortadoğu, Kafkaslar ve Türkiye dâhil güney ve Asya bölgelerinde bulunur (Tuzlacı, 1985). Ot gibi yenen *Eremurus* türlerinin türlerinden biridir. Anadolu'da *Eremurus spectabilis* M.Bieb. ve *Eremurus cappadocus* olmak üzere sadece iki tür rapor edilmiştir (Güngör, 2002). Türkiye'nin İç ve Doğu Anadolu bölgelerindeki dağlarda yaygındır. Bitki 1000-2750 m yükseklikte bozkır, çalılık, kayalık yamaç ve taşların üzerine yayılır.

Tıbbi, yabancı ve endemik bitki türlerinin yok olması türün büyümesi, devamlılığı ve sürdürülebilirliği için önemlidir. *Eremurus spectabilis* M.Bieb. mevcut haliyle tehlike

altında değildir, ancak doğadan veya köklerin yok edilmesi veya bitkilerin yerden sökülmesi gibi yerel popülasyonlar tarafından bitki toplama sırasında bilinmeden toplanır. Dolayısıyla bu türlerin korunması ve ıslahına başlanması için gerekli adımların atılması genetik kaynaklarımızın devamlılığı açısından önemlidir.

1.4.1 Çiriş Otunun Kullanım Alanları ve Besin Değeri

1.4.1.1 Gıda Olarak Kullanımı

Bitkinin taze sürgün ve yaprakları pişirilerek sebze olarak tüketilmektedir. Çiriş otunun bulgur pilavı, çorbası, böreği, etli ve etsiz yemekleri yapılır (Alpaslan ve Önal, 2016, Ünver Alçay vd., 2018). Filizlerin yanı sıra kökleri de çorba yapımında kullanılır (Wendelbo, 1982).

1.4.1.2 Tıbbi Olarak Nasıl Kullanılır?

Çiriş otu merhem haline getirildikten sonra uyuz ve frengi tedavisinde kullanılmıştır (Baytop, 1984). Yapılan çalışmalarda yapraklarının ezilmesiyle elde edilen özütün mantar ve egzama hastalıklarının tedavisinde, kökünün kaynatılmasıyla elde edilen özütün ise diyabet tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Tuzlacı ve Doğan, 2010). Ayrıca *Eremurus spectabilis* M.Bieb. yapraklarından elde edilen bir flavonoid olan isoorientin'in de etkili olduğu belirlenmiştir. Böylece antikanserojen etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Gündoğdu vd., 2018).

1.4.1.3 Sanayide Nasıl Kullanılır?

Eremurus spectabilis M.Bieb. kökleri kurutulduktan sonra oluşan toz doğal yapıştırıcı olarak kullanılmaktadır (Dashti vd., 2005).

1.4.1.4 Besin Değerleri

Mineral açısından da çok zengin olan bitkiler, iyi C vitamini ve antioksidan kaynaklarıdır. *Eremurus spectabilis* M.Bieb' de (100 g örnekte); 92 g nem, 0.46 g yağ, 0.12

gr protein, 4.06 g karbonhidrat, 0.73 g kül, 2.75 g diyet lifi, 25.9 kcal/ 100 g; K (2.63 mg), Ca (76 mg), 1.5 mg Na, 42.8 mg P, 15.2 mg Mg, 2.4 mg Fe, 0.36 mg Zn, 0.08 mg Cu gibi mineral maddeler; C vitamini (129 mg) açısından da çok zengin olduğunu bulmuşlardır” (Tuzlacı, 1987; Tuncer, 2018).

1.4.1.5 Çiriş Bitkisinin Morfolojik Özellikleri

“Çirişlerin yetiştiği alanlara çirişlik denir (Şekil 1a). *Eremurus spectabilis* M. Bieb yumrulu köklere sahiptir. Kökleri pul pul dökmüş, etli, sulu, kahverengimsi sarı, kalın, iğ şeklinde, uca doğru sivri yapıdadır.” (Şekil 1c) (Güngör, 2002; Akdağ, 2019).

“Rizomlar kısadır ve köklere yapışıktır (Şekil 1c). Yapraklar gövde kısmını oluşturur. Yapraklar rozet şeklinde, tüysüz ve uçlara doğru inceler.” (Şekil 1b) (Keskiner ve Tuncer, 2019).

“Bitkinin boyu 50 ile 100 cm arasında değişmektedir. Çiçek salkımları 15-70 cm uzunluğundadır. Çiçekler açık sarı, çan şeklinde ve herstiktir” (Güngör, 2002; Tuncer, 2018).

“Çiçeklenme Haziran-Temmuz aylarında gerçekleşir ve birkaç ay sürer (Şekil 1d). Meyve yeşil renkli olup 3 karpellidir. Her karpelde 4 tohum ve her meyvede 12 tohum vardır (Şekil 1d-f). Tohumları keskin, dar kanatlı, üçgen ve kahverengimsi renklidir.” (Şekil 1g). (Tuncer, 2018; Akdağ, 2019)



Şekil 1.1 *Eremurus spectabilis* M.Bieb; (a) çirişlik alan, (b) yaprak, (c) kök ve rizom, (d-e-f) meyve, (g) tohum (Keskiner ve Tuncer, 2019) (Fotoğraf: K. Keskiner)

1.5 Araştırmanın Amacı

Bitkilerin sekonder bileşenlere sahip oldukları bazı etken maddeler ile koruyucu ve antioksidan etkiye sahip oldukları bilinmektedir. Günümüz dünyasının şartları sentetik ilaçlar yerine, doğal ürünlerin tedavi gücünü kullanmanın yollarını geçmişte olduğu gibi günümüzde de aramaktadır. Sentetik gıda katkı maddelerinin yerini doğal antioksidanlar ile değiştirme çabaları da artmaktadır.

Bitkilerin hastalıkların tedavisinde kullanımı oldukça eskidir. Tarih boyunca nesillerden nesillere aktarılan deneyim ve tedavi yöntemleri, bu alandaki birikimleri oluşturmaktadır (Öztürk ve Özçelik, 1991). Günümüzde de hastalıkların tedavisinde ve hastalıklardan korunma amaçlı olarak bitkisel ilaçlar kullanılmaktadır. Mevcut ilaçların 1/4'i bitkisel kökenlidir ve bunların birçoğunda bitkiden elde edilmek istenen etken madde, laboratuvar ortamında kopya edilmektedir. Son yıllarda sentetik ilaçlarla meydana gelebilen ciddi yan etkilerin yol açtığı medikal ve ekonomik sorunlar, endüstrileşmiş ülkelerdeki çevre kirliliğinin güçlendirdiği ekolojik yaklaşımlar ve hareketler, küratif tedavileri henüz mümkün olmayan birçok kronik hastalığın oluşturduğu tehdit, doğallığın her zaman etkili ve yan etkiden arınmış olduğu düşüncesi gibi birçok etmene bağlı olarak bitkisel

tedavi yeniden popüler duruma gelmiştir. Kanserde bitkisel tedavi, yani fitoterapinin kullanılması, özellikle tıbbi tedavinin yan etkisinin azaltılması, bozuk olan bağışıklık sisteminin düzeltilmesi ve desteklenmesi, tedavinin yararının artırılması, kanser hücrelerinin metastaz yapma yeteneğinin azaltılması, kanser kök hücrelerinin öldürülmesi için tıbbi tedavinin yanında veya sonrasında yardımcı tedavi olarak kullanılır

Ülkemizde çiriş otu gıda olarak tüketilmesinin yanısıra çok eskiden beri tedavi amacıyla da yararlanılmaktadır. Özellikle Arap hekimler tarafından çiriş kökünden hazırlanan merhemler uyuz ve frengi tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Halk arasında çirişin adet söktürücü, süt arttırıcı, egzama, sivilce ve çıban, hemoroit, saçkıran, mafsall ağrıların tedavisinde ilaç olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Önceki çalışmalarla doğal bir antioksidan özellik gösteren fenolik ve flavonoid bileşikleri, çiriş bitki ekstrelerinde yüksek miktarda bulunmuştur. Fenolik ve flavonoid bileşiklerin fazla miktarda olması çirişin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu ön bilgisini göstermektedir.

Çalışmamızda; dietilnitrozamin ile deneysel olarak oluşturulan karaciğer kanseri üzerinde çiriş otunun liyofilize bitki ekstresi (LBE) ve nanopartikül bitki ekstresi (NBE) ile muamele edilip sakrifiye edilen ratlarda bitki ekstrelerinin hücresel ve enzimatik immünolojik etkilerini ortaya koymak için ratlardan kan, dalak ve akciğer örnekleri alındı. Kan örneklerinde CD3⁺ (olgun T lenfosit), CD4⁺ (yardımcı T lenfosit), CD8⁺ (süpresör-sitotoksik T lenfosit) hücreleri ile CD4⁺/CD8⁺ oranı ortaya konmuştur. Keza, Akciğer ve dalakta Miyeloperoksidaz (MPO) ve Adenozin deaminaz (ADA) enzim aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Çiriş bitkisi halk arasında besleyici ve çeşitli hastalıklarda kullanılmasına rağmen hepatosllüler karsinomada hücresel ve enzimatik bağışıklık sistemine etkisi bilinmemektedir. Yapılan bu yüksek lisans çalışması ile çiriş otu liyofilize bitki yaprağı ekstreleri deneysel karaciğer kanserinde hücresel ve enzimatik bağışıklık sistemi üzerinde etkinliğini belirlemeyi hedeflemekteyiz. Bu çalışma ile ülkemizde yaygın olarak yetişen çiriş bitkisi ektrelerinin bağışıklık sistemine olan etkisi bakımından literatüre ve ekonomiye katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Kanserli hücre ile normal hücre karşılaştırıldığı zaman biyokimyasal sistemlerinde birçok fark vardır. Kanserli hücrenin genetik programında meydana gelen değişimler bu farklılığın nedenidir. Tekrarlayan genetik değişimler sonucu gen ekspresyonunun varyasyonu sonucu oluşan protein miktarı ve aktivitesinde farklılıklar gözlenmektedir.

Çoğu kanser türü üzerine yapılan araştırmalar, sağlıklı beslenme ve yaşam tarzı değişiklikleri sunarak kansere karşı korunabileceğinizi göstermektedir (Anand vd., 2008). Kanser, dünya çapında artan mortalite ile ilişkili sosyal sorunlardan biri olmuştur. Her yıl dünya çapında 8 milyonun üstünde kişiye teşhis konuyor (Jemal vd., 2011).

Uzun yıllardır kanseri tedavi etmek için kullanılan yöntemler arasında cerrahi yaklaşımlar, kemoterapi ve radyasyon tedavisi yer almaktadır. Kanser ve rehabilitasyon sırasında kullanılan tedavi şekli, kanser hastalarında maddi kayıplara ve psikolojik sıkıntılara yol açmaktadır (Gruenberger vd., 2015). Karaciğer kanserlerinin %83 civarı az gelişmiş olan ülkelerde bulunur ve en yüksek oranlar Asya ve Afrika ülkelerindedir (Ferlay vd., 2015).

Karaciğer kanseri insidansındaki eğilimler dünyada değişiklik gösterir. Örneğin, Asya Pasifik Adasındaki insanlar arasındaki karaciğer kanseri oranları, son 15 yılda stabil kaldığı ya da azalma eğilimi gösterdiği rapor edilmiştir (Petrick vd., 2016). Kore bölgesinde, toplam karaciğer kanserinin insidansı 1999'dan 2014'e arttığı bildirildi (Jung vd., 2017).

Karaciğer hastalığına yakalanan ve yakalanmayan hastaların karaciğer karsinomu insidansını karşılaştırmak için retrospektif bir tasarım uygulandı. 66.192 hasta ve karaciğer hastalığına yakalanmayan birçok sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan bir çalışmada; yaş ve gelir düzeyine göre sınıflandırılan her grup arasındaki ilişkiyi belirlemek için tüm hastalar için Coxorran riskinin regresyonu yapıldı. Alt grupların analizi, karaciğer hastalığının varlığının hem gençlerde hem de yaşlılarda önemli bir risk faktörü olduğunu ve ilaç kullanan hastaların (düşük gelirli gruplar) karaciğer hastalığı riskinin daha yüksek olduğunu ortaya koydu. 50 yaş altı bireylerde karaciğer kanseri görülme sıklığına dikkat çekmek ve gelir düzeyi düşük hastalarda karaciğer kanseri görülme sıklığını azaltmak için önleme çalışmalarına ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (Suh vd., 2018).

Bitkiler senelerdir hastalıkların tedavi etmede ve hastalıklardan korunmada kullanılmaktadır. Kullanılan ilaçların çoğu bitkisel ve laboratuvarında çoğaltılırlar. Sentetik ilaçların sebep olduğu yan etkilerin artması sonucu bitkisel kaynaklı tedaviler günümüzde daha revaçtadır. Kanserde fitoterapi metastaz yapmayı, kanserli kök hücrelerin yok edilmesini, bağışıklığın desteklenmesini sağlamak için kullanılan bir yöntemdir.

Çiriş otunun çeşitli hastalıkların tedavisi ile ilgili bazı çalışmalar şunlardır:

Ülkemizde genelde gıda olarak kullanılan çiriş otu tedavi yöntemi hatta hastalıklardan korunmak içinde halk arasında kullanılan bir bitki çeşididir. Süt arttırmada, egzamada, dermatolojik hastalıklarda, hemoroitte çiriş otu sıklıkla kullanılmaktadır (Kurtulmuş vd., 2009).

Yine, kanserli hücrelerin araştırıldığı bir çalışmada, çiriş otunun sulu ekstratlarının normal diploid 3T3 fibroblast hücrelerinde lösemi hücrelerine (K562 ve HL-60) kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, çiriş otunda bulunan antikanser moleküllerinin seçici antilösemik ilaç potansiyeli olabileceğini düşündürmektedir (Morad vd., 2015)

Eremurus spectabilis M.Bieb.'un alternatif tıpta farklı tür hastalıkların tedavisinde yararlanıldığı bilinmektedir. Yapraklarının ezilmesiyle elde edilen suyun, fungal hastalıkların ve egzamanın tedavisinde (Tuzlacı ve Doğan, 2010), köklerin kaynatılması ile elde edilen suyun ise, şeker hastalığının tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Tuzlacı ve Doğan, 2010). Bunun yanısıra saç kıran, basur, idrar söktürücü, bağışıklık sistemini artırıcı vücuttaki mikropları öldürücü özelliği ve antioksidan etkisi vardır. Frengi ve uyuz tedavisinde kökleri iyice öğütüldükten sonra oluşan merhem kullanılmaktadır (Baytop, 1984). Yine kökleri içerdiği frukto-oligosakkaritler sebebiyle probiyotik endüstrisi için önem arz etmektedir.

Geleneksel olarak *Eremurus spectabilis* M.Bieb.'ın yaprakları mide-bağırsak rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Deneysel olarak indometazin ile indüklenen ratlar üzerine yapılan bir çalışmada mide ülseri oluşturulmuştur. Çalışma sonunda yapılan analizler neticesinde çiriş (*Eremurus spectabilis* M.Bieb.)'un antiülser etki gösterdiği tespit edilmiştir. *Eremurus spectabilis* M. Bieb. kökleri büyümeleri sırasında yüksek düzeyde fruktan biriktirir. Deneysel karaciğer karsinoma oluşturmak için Dietilnitrozaminin (DEN) ile ilgili bazı çalışmalar şunlardır:

Dietilnitrozaminin serbest radikal oluşturması istenen bir çalışmada kısa zaman içerisinde karaciğerde serbest radikallerin oluştuğu gözlenmiştir. Bir bitki olan Altın çileğin antioksidan kapasitesinin araştırıldığı bir çalışmada DEN ve CCl₄ ile oluşturulan karaciğer kanseri modelinde farklı gruplara farklı dozlarda bitki ekstresi ve DEN verilmiş ve sonuçta karaciğer enzimlerinde, tümör markır seviyesinde düşüş olduğu belirlenirken; antioksidan belirteçleri olan bazı enzimlerde düşüş gözlenmiştir (Hassan ve vd., 2017).

Amereh vd. (2017), iğdenin kanser önleyici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ratlar DEN ile muamele etmişlerdir. Aspartat transaminaz gibi bazı karaciğer biyobelirteçlerinin seviyelerinde azalma tespit edilmiştir. DEN verilmiş ratlara, iğde bitki ekstreleri uygulanmış ve antioksidan etki göstermiştir. DEN uygulanan ratlarda hurmanın anti-tümör etkisi araştırılmış ve kontrol gruplarına kıyasla SOD, CAT gibi serbesrt radikal önleyici enzimlerin lipit peroksidasyon seviyelerinde azalma gözlenmiştir (Khan vd., 2017).

Dai vd. (2013) yaptıkları çalışmada *Scutellaria barbata* bitkisinden elde edilen ekstrelerin DEN verilen sıçanlarda karaciğer kanserine karşı etkileri incelendiği bir çalışmada karaciğerde malondialdehit seviyesi azalmış olduğu ve bitki estresi uygulanması sonucu SOD seviyesinde artış gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre ekstrenin karaciğerde tümör oluşumunu baskılayabileceği sonucuna varılmıştır

Fahmi vd. (2019), zencefil esansiyel yağı uygulanan ratlarda DEN toksisitesini araştırılan bu çalışmada, zencefil esansiyel yağı verilenlerde LDL azalırken HDL artmıştır. Yine karaciğer kanser hattında zencefil esansiyel yağı antitümör etki gözlenmiştir.

Karaciğer karsinoma ve immün sistem ile ilgili bazı çalışmalar şunlardır:

Diğer taraftan; kanser hücrelerinde pirimidin ve pürin yapım-yıkım olayları sonucu oluşan değişiklerin araştırılması konuya açıklık getirmektedir. Kanser hücrelerinde meydana gelen yapım-yıkım olaylarında anahtar enzimlerdeki tekrar düzenlemeyle izah edilmektedir. Pürin pirimidin metabolizmasına kanserli hücrelerde bakacak olursak salvage yolunda anahtar enzim aktiviteleri yükselirken, yıkım olduğunda ise baskılandığı görülmektedir. Bu da kanserli hücrelerin nükleotid havuzunu korumak içindir.

Yapılan çalışmada enzim aktivitesine bakılan ADA enzimi pürin metabolizmasını düzenleyen önemli bir enzimdir. ADA enzimi özellikle adenozinin hücre içi düzenlenmesinde mühimdir. Araştırmalara bakıldığında ADA enziminin genetik seviyede düzenlenmesi ya da aktivitesinde baskılanma ile karşılaştığında hücrede çok önemli metabolik

sorunlar gözlenmektedir. ADA enziminin baskılanmasıyla dATP artışı olur ve bu da ribonükleotid redüktazın baskılanmasına neden olur. Bu baskılanma sonucunda immün yetmezlik oluşur. Pürin yapım yıkım olaylarında ADA enzimi adenozin seviyesini denge tutar.

Literatürde enzimin salvaj yolu olabileceği hakkında farklı fikirler vardır. Bu farklılıkların nedeni farklı kanser tiplerinde ADA enzim aktivitesini artması ya da baskılanmasıyla alakalıdır. Yıkım enzimi diye nitelendirilen ADA enzimi kimi araştırmacıya göre salvage enzimidir. ADA enzimi, nükleotidlerin hücredeki konsantrasyonlarını ayarlar.

Yapılan kanser çalışmalarında ADA aktivitelerinde değişik sonuçlar gözlenmiştir. Sonuçlarda gözlenen bu farklılıkların nedeni kanserli hücrelerin programlanmasıyla alakalıdır. ADA enzimi T lenfositlerin olgunlaşmasında ve farklılaşmasında görev alır. Bazı araştırmacılara göre ADA enzimi immünitinin belirtecidir ve hastalıklara göre ADA enzimi seviyesinde değişim gözlenmiştir (Durak vd., 1993).

ADA aktivitesini inceleyen birçok çalışma yapılmıştır ve sonucunda T hücresinin bulunduğu hastalıklarda ADA aktivitesinin arttığı bulunmuştur. Karaciğer hastalıkları, tüberküloz, brusella, lösemi gibi hastalıklarda ADA düzeyi yüksek olarak gözlemlenmiştir (Gao vd., 2021).

T lenfositlerin aktive edildiği düşünülen bazı hastalıkların neden olduğu ve nasıl geliştiği hakkında ADA enziminin önemini gösteren çok fazla çalışma yapılmıştır. Stancíková vd. (1998) sistemik lupus eritematozus hastalığına sahip olan hastalarda ADA enzimi aktivitesinin sistemik lupus eritematozusun aktive olmasına neden olabileceğini bulmuşlardır. Psoriasisli (Sedef hastalığı) hastalarda ilk olarak doku ve plazma ADA enzim düzeyini çok yüksek olarak kaydetmişler daha sonra kemoterapi yöntemiyle ADA enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiş. Buda ADA enziminin psoriasis hastalığının tedavisinin incelenmesinde kullanılabilir olduğunu göstermiştir (Koizumi vd., 1993).

Morisaki vd. (1985), akut ve kronik lösemili hastaların plazma ADA düzeylerini tedavi olmamış ya da hastalığın tekrarlamış durumlarında fazlayken tedavisi tamamlanmış hastalarda düşük bulunmuştur. Lenfoproliferatif rahatsızlıklarda ADA enzimini amaçlayan tedavi yöntemleri kullanılır. Kanseri iyileştirmede kanserli hücrenin büyüüp çoğalmasını engelleyerek kanserli hücreleri yok etmek asıl amaçtır. Bu amaç için kulla-

nılan tedavi edici ajanlar nükleotid sentezini farklı basamaklarda baskılamış ve DNA sentezini durdurmuştur. Bu şekilde farklı kanser tiplerinde farklı enzim aktiviteleri araştırılmış olup, bunlardan biride ADA enzimidir.

Bazı çalışmalarda ADA aktivitesi kanserli hücrelerde ve dokularda yükselmişken, bazı araştırmalarda azalmıştır. Kontrol grubu ile kanserli grup kıyaslandığında ADA düzeyinin kanserli dokularda yüksek olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda bu çalışmada serum ADA düzeylerinin tedavinin yanıtı konusunda açıklık getireceği gözlenmiştir. Formeister ve Tritsch (1976) kanser üzerine inceledikleri çalışmada ADA enzim aktivitesinin arttığını bulmuşlardır. Keza, Lal vd. (1987) boyun-baş kanserli dokularda yaptıkları çalışmada serum ADA enzim aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla arttığı bulunmuştur. Yine yapılan bu çalışmada fototerapi ile aktivitenin düştüğü tespit edilmiştir.

İmmün sistemin elemanları olan lökositler sindirim kofullarında bulunan parçalayıcı enzimleri ile fagositoz ettikleri mikropları yok ederler. İnsanda MPO-H₂O₂-halid yoluyla virüs, mantar, bakteri gibi hastalık oluşturan mikroorganizmaların öldürülmesini sağlayan bir sistemdir (Yamamoto vd., 1991; Aratani vd., 1999; Klebanoff, 2005). İnflamasyon sırasında birden fazla lökosit dokulara geçer ve bu dokularda enzimler bulunur. Bu enzimler fagosite ile hücreye giren mikroorganizmaları yok ederler. Fagositoz sonrası NADPH oksidaz yolu oksijeni süperoksite döndürür. Süperoksit ise SOD enzimiyle hidrojen peroksite dönüşür. Hücre içi sindirimin gerçekleştiği yer olan fagolizozomda MPO bulunur ve klorür varlığında hipoklorik asit oluşmasını sağlar. Hipoklorik asit ise bakterilerin ölmesini sağlar (Kaya vd., 2013).

MPO enzimi H₂O₂ varlığında guanini 8-nitroguanine dönüştürerek DNA'da hasara neden olur (Tuo vd., 2000). MPO'nun katyonik yapısı sebebiyle asit olan bazı proteinlerle etki oluşur. Bu etkiyle MPO yapısında değişiklikler oluşur. Hem immün sistemde hem de doku hasarında görevli olan MPO tedavi edici özelliği açısından önemlidir (Kettle ve Winterbourn, 1991; Klangprapan vd., 2016).

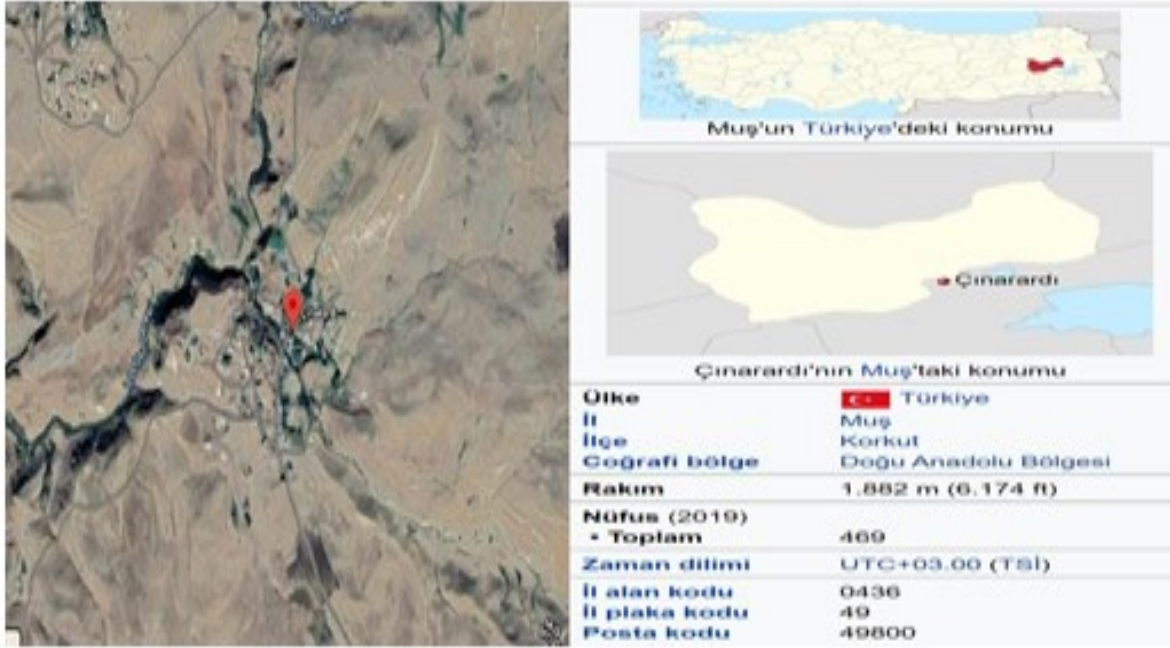
Kaya (2002) insanlarda çörek otu tohumunun CD8⁺, CD4⁺ CD3⁺, T lenfositlerinin ve lökositlerin üzerine etkileri araştırılmıştır. 24-30 yaşları arasında bireylerden uygulama öncesi kan örnekleri alınıp flow sitometrik incelemeler yapılmış daha sonra 4 hafta boyunca bireylere kahvaltıda çörek otu verilmiş ve sonuçlar tekrar analiz edilmiştir. CD3⁺, CD8⁺, CD4⁺ seviyesinin arttığı sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak çörek otu tohumunun hücrel bağışıklığı aktive edebileceği tespit edilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Bitki Materyali

22.04.2021 tarihinde çiriş otu (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) Muş'un Korkut ilçesine bağlı Çınarardı (Pizongan) köyünde toplandı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 *Eremurus spectabilis* M. Bieb. ve toplandığı yer

Toplanan çiriş otu yaprakları birbirinden ayrılmış ve temizlendikten sonra paketlenen numuneler -80 °C’de ekstraksiyonun yapılacağı zamana kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2 *Eremurus spectabilis* M. Bieb. yapraklarının ayrılması ve paketlenmesi

3.2 Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması

Alkol ekstralarının hazırlanmasında, kullanılan alkol konsantrasyonu ekstrenin biyokimyasal profilini etkilemektedir. Vizzotto (2018) elmanın farklı alkol konsantrasyonları ile ekstralarını hazırlamış ve 80:20 (%) oranında etanol:su kullanıldığında ekstralarının antioksidan etkisini, %70’lik etanol ve saf etanole göre daha yüksek bulmuşlardır. Dolayısıyla çalışmada %80 oranında etanol kullanılarak etanol ekstraları hazırlanmıştır. 100 g çiriş yaprağı 500 ml %80 etanol çözeltisi ile blenderdan geçirilip homojenize edilmiştir. Örnekler oda sıcaklıkta manyetik karıştırıcıda, etrafı folyo ile sarılarak bir gece ekstre edilmiştir. Daha sonrası ekstralar önce kaba süzgeç ile süzölmüş ve kaba posası alınmıştır. Oluşan süzöntü tüplere pipetlenmiş ve 3500 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir.

Santrifüjden çıkarılan örnekler kaba filtre kağıdından geçirilip vida kapaklı şişede ışıktan korunarak toplanmıştır. Süzüntü evaporatörde önce 60 atm basınçta 37°C’de evapore edilmiş ve etanol uzaklaştırılmıştır. Daha sonra cihazın basıncı 18 atm’ye düşürülmüş ve suyun buharlaşması sağlanarak yoğunlaştırılmış ekstre elde edilmiştir. Yoğunlaştırılmış ekstre falconlara 15 ml olacak şekilde pay edilmiştir. Falconlar bir gece -80°C’de muhafaza edilip ertesi gün liyofilize edilmiştir.



Şekil 3.3 Eremurus spectabilis M. Bieb. Etanol ekstralarının hazırlanması

3.3 Bitki Ekstresinin Karakterizasyonu ve Nanopartikül Sentezlenmesi

Bitki ekstraları santrifüj edilip süzildükten sonra elde edilen süpernatant rotary evaporatör ile yoğunluğu iki katına çıkarıldı. Yoğun ekstreten 10 ml alınıp viyale konuldu. Bu viyal manyetik karıştırıcıda 5000 rpm’de karıştırırken üzerlerine sırasıyla farklı

başlatıcı olarak amonyum persülfat $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, çapraz bağlayıcı olarak gluteraldehit solüsyonu $(\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO})$ ve hızlandırıcı olarak N,N,N',N' -Tetrametil etilendiamin $((\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2)$ eklendi. Karışım 10000 rpm'de 4 saat bekletildi. Karışımda renk değişimi olduğunda nanopartiküllerin sentezlendiği kabul edildi. 4 saatin sonunda karışım 10000 rpm'de santifrüjlendi. Santrifüj sonrasında kalan süzöntü kurutuldu.



Şekil 3.4 Nanopartikül ekstralarının hazırlanışı

3.4 Deney Muamele Şeması

Wistar cinsi sıçanlar gruplara ayrılmadan önce, uygun dozların belirlenmesi için akut toksisite testi uygulanacak ve sıçanlar bu süreçte gözlemlenerek uygun doz belirlendi. Akut toksisite testi Organization for Economic Corporation and Development (OECD) rehberi 425'e göre yapıldı. Her grupta 3'er sıçan olacak şekilde 2 grup oluşturuldu ve sıçanların canlı ağırlıkları tartılıp, 2 ayrı kafese bırakıldı. Bir gruba 2000 mg/kg

Eremurus spectabilis M. Bieb. etanol ekstresi, diğ er gruba 2000 mg/kg *Eremurus spectabilis* M. Bieb nanopartikül etanol ekstresi oral gavaj yoluyla verilerek ratlar 52 saat gözlemlendi. Herhangi bir ölüm gözlemlenmedi.

Çalışmada kullanılan sıçanlar biri kontrol olmak üzere her grupta 6 adet sıçan olacak şekilde toplam 6 grup oluşturuldu.

Normal Kontrol (NK): Herhangi bir muameleye maruz bırakılmayacak bu gruptaki sıçanlar standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi.

Kanser Kontrol (KK): Bu gruptaki sıçanlar %0.9 fizyolojik suda çözünmüş ayda bir kez 150 mg DEN/kg vücut ağırlığı ile haftada bir kez 200 mg TAA/kg vücut ağırlığı intraperitoneal (ip) olarak muameleye tabi tutuldu, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi.

Kanser+50 mg/kg Liyofilize Bitki Ekstresi (KLBE1): Bu gruptaki sıçanlar %0.9 fizyolojik suda çözünmüş ayda bir kez 150 mg DEN /kg ile haftada bir kez 200 mg TAA /kg vücut ağırlığı (ip) ve günlük 50 mg /kg vücut ağırlığı liyofilize bitki ekstresi ağızdan gavaj yöntemi (gv) ile verildi, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi.

Kanser+100 mg/kg Liyofilize Bitki Ekstresi (KLBE2): Bu gruptaki sıçanlar %0.9 fizyolojik suda çözünmüş ayda bir kez 150 mg DEN /kg ile haftada bir kez 200 mg TAA /kg ve günlük 100 mg /kg vücut ağırlığı liyofilize bitki ekstresi ağızdan gavaj yöntemi (gv) ile verildi, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi.

Kanser+50 mg/kg Nanopartikül Bitki Ekstresi (KNBE1): Bu gruptaki sıçanlar %0.9 fizyolojik suda çözünmüş ayda bir kez 150 mg DEN/kg ile haftada bir kez 200 mg TAA /kg (ip) ve günlük 50 mg/kg vücut ağırlığı nanopartikül bitki ekstresi ağızdan gavaj yöntemi ile verildi, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi.

Kanser+100 mg/kg Nanopartikül Bitki Ekstresi (KNBE2): Bu gruptaki sıçanlar %0.9 fizyolojik suda çözünmüş ayda bir kez 150 mg DEN/kg ile haftada bir kez 200 mg/kg Tiyoasetamid (TAA) intraperitoneal (ip) ve günlük 100 mg/kg vücut ağırlığı nanopartikül bitki ekstresi ağızdan gavaj yöntemi (gv) ile verildi olup, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi.

Normal kontrol grubu dışındaki sıçanlara %0.9 fizyolojik tuzlu suda çözünmüş 150 mg DEN/kg ayda bir doz (ip) olarak uygulandı. DEN uygulamasından 2 hafta sonra sıçanlara periyodik olarak TAA uygulamasına maruz bırakıldı ve %0.9 fizyolojik suda

çözünmüş 200 mg TAA /kg vücut ağırlığı i.p. yöntemi ile 10 hafta boyunca haftada 1 kez uygulandı.



Şekil 3.5 Liyofilize ve nanopartikül bitki ekstraktlarının deneysel uygulama aşaması

3.5 Deney Hayvanları

Araştırmanın canlı materyalini 36 adet, 181-258 g ağırlığında Wistar albino ırkı erkek sıçanlar oluşturdu. Ratlar $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık periyodunda standart plastik kafeslerde muhafaza edildi. Hayvanlara standart yem ve içme suyu verildi. Sıçanlar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edildi ve uygulamalar aynı merkezde yapıldı. Ratlar çalışma başlangıcında tartılarak ve mümkün olduğunca ağırlık bakımından eşit dağılımlı olacak şekilde gruplara ayrıldı. Yapılan çalışmalarda parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındıktan sonra uygulamaya geçildi.

3.6 Doku Homojenizasyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi

Derin dondurucuda (-80°C) bekletilen sıçanların dalak ve akciğer dokuları oda sıcaklığına gelinceye kadar kademeli olarak çözünmesi sağlandı. Dokularda ekstraksiyon işlemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi. Ekstraksiyon için genel doku homojenizasyon tamponu (50 mM KH_2PO_4 , 10 mM EDTA, pH:7.4) hazırlanarak 500 mg doku hassas terazide tartıldı ve üzerine 5 mL soğuk tampon eklendi. Dokular 15-20 sn homojenizatör

yardımıyla ezildikten sonra ultrasonik homojenizatörde 3-5 dakika homojenize edildi. Homojenat 10000 rpm'de +4°C'de 30 dakika santrifüj edildi. Dalak ve akciğer dokusundan elde edilen berrak süpernatantlar analizler için hazır hale getirildi (Inoguchi vd., 1994; Marklund, 1990).

3.7 Analizlerin Yapılması

Adenozin deaminaz (ADA) ve miyeloperoksidaz enzim aktivitelerine dalak ve akciğer dokularında tespit edildi. Flow sitometrik incelemede ise kanda lenfosit subsetlerini (CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺) tayin etmek için Coulter Epic XL flow sitometri cihazı kullanıldı.

3.8 Flow Sitometrik İnceleme

K3 EDTA'lı standart kan sayım tüplerine alınan kan örneklerinin flow sitometrik analizi için kan örnekleri öncelikle bir Coulter Immunoprep Leucocyte Preparation System (Q prep) cihazından geçirildi. Q prep cihazından geçirilen hücre preparasyonunun 100 µl'sine lenfosit subsetleri için monoklonal antibadilerin 20 µl'si (Immunotech Kid No: PN IM0747) ilave edilir ve 15 dakika karanlıkta, oda sıcaklığında inkübasyona tabi tutuldu.

Monoklonal antibadiler FITC (fluorescein isothiocyanate) ve PE (phycoerythrin) ile konjuge edildi. Konjuge monoklonal antibadilerden CD3⁺-FITC dolaşımdaki olgun T lenfositlere, CD4⁺-FITC/CD8⁺-PE ise yardımcı ve sitotoksik T hücrelerine özgüdür.

Antibadilerle etiketlenmiş hücreler bir Coulter Epics XL II flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edildi. Analiz sonrası hücrelerin mutlak sayıları hesaplandı. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular yüzde artış ve eşleştirilmiş t-testi ile değerlendirildi.

3.9 Dokuda Miyeloperoksidaz (MPO) Enzim Tayini

Doku süpernatant miyeloperoksidaz enziminin aktivite ölçümü için Bradley vd. (1982) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem:

Doku homojenat tamponu (GDH): 250 ml için

1.7 g KH_2PO_4 (50 mM)

0.73 g EDTA (10 mM)

Yukarıdaki çözeltiler hassas terazide tartılıp bir kaba bırakıldı. Üzerine 200-220 ml dH_2O (saf su) bırakılıp iyice çözünmesi sağlandıktan sonra pH: 7.4'e ayarlandı (HCl ve NaOH ile) ve en sonunda tampon 250 ml'ye tamamlandı

Ölçüm karışımı: 50 mM KH_2PO_4 pH 6'sı (MA: 136.09) olan 0.167 mg/ml o-dianizidin-HCl ve % 0.0005 H_2O_2 içeren 45 ml ölçüm karışımı aşağıdaki gibidir.

A-0.167 mg/ ml o-dianizidin-HCl 45 ml: (MA: 280.752), 7.5 mg (~0.6 mM) o-dianizidin-HCl;

B- % 0.0005 H_2O_2 (% 30'luk'tan) 45 ml: 83,3 μl % 30'luk'tan alınıp 500 ml ye tamamlandı, ardından bundan 4.5 ml alındı.

C-50 mM KH_2PO_4 pH: 6: 0.3062 g KH_2PO_4 alındı. Bu üç tartım alındı, 40 ml'de çözdürüldü, pH 6'ya ayarlandı ve 45 ml'ye tamamlandı. Önce Fosfat tamponu 35 ml hazırlandı. 35 ml'lik çözeltilere A ve B deki miktarlar kadar eklendi. pH 6.0 ayarlandı. Son hacim 45 ml'ye tamamlandı.

Ölçüm: 3 ml kuarz küvette, aşağıdaki tabloda yer alan miktarlar uygun şekilde karıştırılarak ölçüm yapıldı (Bradley vd., 1982).

Çizelge 3.1 Numunelerin Okumaya Hazırlanma Aşamaları (MPO enzimi için)

	Kör	Numue	Son Konsantrasyon
			52 mM KH_2PO_4 :
Ölçüm Karışımı	2.880 ml	2.880 ml	0.17 mg/ ml o-dianizidin-HCl: % 0.0005 H_2O_2
Numune	-	0.120 ml	-
Homojenat Tamponu	0.120 ml	-	-

Eşitlik 3.1'de elde edilen absorbanslar değerleri yerine konarak hesaplama yapıldı.

$$\text{ADA Aktivitesi}(I.U / L) = \frac{A_n - A_{nk}}{A_{st} - A_{stk}} \times \text{Standart Konsantrasyon} \quad (3.1)$$

An: Numunenin absorbansı

Ank: Numune körünün absorbansı

Ast: Standardın absorbansı

Astk: Standart körünün absorbansı

NOT: Çıkan sonuçlar EU /mg doku X seyreltme faktörü olarak ifade edilir (mg doku: 3 ml küvete pipetlenen homojenattaki miktardır).

3.10 Dokuda Adenozin Deaminaz Enzim Aktivite Tayini

Doku süpernatant adenozin deaminaz enziminin aktivite ölçümü için Giusti ve Gakis (1974) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Bu yöntemde; substrat olarak adenozinin kullanılmasıyla açığa çıkan amonyağın alkali ortamda sodyum hipoklorit ve fenol ile reaksiyona girerek koyu mavi renkli indofenol şeklini alması ADA aktivite düzeyi ölçümünün prensibini oluşturur. Sodyum nitroprussid ikinci reaksiyon için katalizör olarak kullanıldı. Amonyak konsantrasyonunun değişimiyle orantılı olarak indofenol oluşumunda (mavi rengin şiddeti) değişti.

1-Fosfat Tamponu: (50 mM, p:H 6.5) 4.73 gr $\text{NaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve 5.62 g $\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ tartıldı. dH_2O (Distile/saf su) ile çözdürüldü ve son hacmi 1000 ml'ye tamamlandı.

2-Adenozin Çözeltisi: (21 mM, 50 mM fosfat tamponu pH:6.5) 25 ml'lik balon jöjeye ~140 mg adenozin konulup 15 ml fosfat tamponu ilave edildikten sonra sıcak su banyosuna yerleştirildi. Arasına karıştırılarak tamamen çözülünceye kadar sıcak su banyosunda bekletildi. Ardından musluk suyu altında soğutuldu. pH: 6.5'a ayarlandı ve fosfat tamponu ile 25 ml'ye tamamlandı.

3-Amonyum Sülfat Stok Çözeltisi: (15 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 1.982 g anidrat amonyum sülfat dH_2O (Distile/saf su) ile çözülerek son hacmi 1000 ml'ye tamamlandı.

4-Amonyum Sülfat Standart Çözeltisi: (75 μM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 0.5 ml amonyum sülfat stok çözeltisinden alınıp fosfat tamponu ile 100 ml'ye ayarlandı.

5-Fenol-Nitroprussiyat Çözeltisi: (106 mM Fenol, 0.17 mM Na nitroprussiyat) 10 g fenol ve 50 mg Na nitroprussiyat 500 ml dH_2O (Distile/saf su)'da çözdürüldü ve son hacmi 1000 ml'ye tamamlandı.

6-Alkali Hipoklorit Çözeltisi: (11 mM NaOCl, 125 mM NaOH) 125 ml 1 N NaOH ve 16.4 ml %5 hipoklorit (çamaşır suyu) çözeltisi karıştırılıp hacmi 1000 ml'ye tamamlandı (kullanılan hipoklorit çözeltisi yaklaşık %5 w/v NaOCl ihtiva etmektedir). Buradaki klor miktarı tayin edilerek %5 klor bulunduran çözelti hazırlanmış ve bu çözelti kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan tüplerin her birine 1 ml Adenozin tampon çözeltisi alındı. Daha sonra numune tüpüne 50 µl supernatant, standart tüpüne 50 µl standart çözelti, numune körü ve standart körü tüplerine 50 µl distile su ilave edildi. Tüplerin ağızları parafilm ile kapatılarak karıştırıldı ve 37 °C'deki su banyosunda 60 dakika inkübasyonda tutuldu.

Çizelge 3.2 Numunelerin okumaya hazırlanma aşamaları (ADA enzimi için)

Reaktifler	Numune	Numune Körü	Standart	Standart Körü
Adenozin çözeltisi (ml)	1 ml	1 ml	-	-
Örnek (µl)	50 µl	-	-	-
Standart çözeltisi (µl)	-	-	50 µl	-
Fosfat tamponu (ml)	-	-	1 ml	1 ml
Distile su (µl)	-	-	-	50 µl
Tüpler karıştırılıp ağızları parafilm ile kapatılır, +37°C su banyosunda 60 dk inkübe edildi.				
Fenol-Nitroprussiyat Çözeltisi(ml)	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Örnek (µl)	-	50 µl (dH ₂ O)	-	-
Alkalihipoklorid (ml)	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Tüpler karıştırılıp +37°C su banyosunda 30 dk inkübe edildi ve 640 nm'de Distile suya karşı okundu.				

İnkübasyon sonunda bütün tüplere 1.5 ml fenol renk ayırıcı ve 1.5 ml alkali hipoklorit ayırıcı ilave edildi. Tüpler 37 °C'deki su banyosunda 15 dakika inkübasyondan sonra su banyosundan çıkarılarak tüplerin absorbansı 3 dakika boyunca 15 saniyede bir kaydedildi.

Eşitlik 3.2'de absorbans aralığındaki azalmanın lineer olduğu kısımdan dakika başına absorbans azalması tespit edilerek EU hesaplandı.

$$\text{Hesap: EU} = (A / 0.0394) \times \text{Seyreltme faktörü} \quad (3.2)$$

NOT: Çıkan sonuçlar EU /mg doku X seyreltme faktörü olarak ifade edilir (mg doku: 3 ml küvete pipetlenen homojenattaki miktardır).

3.11 İstatistikî Analizler

Ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) Minitab İstatistik Yazılım hazır program kullanarak standart metotlara göre, grup ortalamaları arasındaki fark ise Paired Sample T testi kullanılarak ortaya konuldu. Testlerin önem derecesi, $p \leq 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.





4. BULGULAR

4.1 Flow Sitometrik Analizler

On haftalık çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstraları uygulama sonrasında sakrifiye edilen ratlardan alınan kan örnekleri ile CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ değerleri ve CD4⁺/CD8⁺ oranlarının istatistiksel analizlere ait sonuçları Çizelge 4.1’de yer almaktadır.

Çizelge 4.1 Çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstralarının immün sistemin bazı hücrel unsurları üzerine etkileri

Gruplar	T lenfosit			
	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
NK X ± SD	81.57±8.99	35.79±6.95	17.97±3.53	2.05±0.58
KK X ± SD	80.29±6.53	34.59±5.69	17.34±5.62	2.21±0.88
KNBE1 X ± SD	74.03±9.33	28.7±7.48 ^b	13.25±3.80	2.16±0.55
KNBE2 X ± SD	61.79±11.17 ^{a,b}	27.67±6.09 ^{a,b}	12.91±6.24 ^{a,b}	2.58±1.23
KLBE1 X ± SD	63.77±6.31 ^{a,b}	35.19±3.40	13.34±2.64 ^{a,b}	2.60±0.50
KLBE2 X ± SD	78.03±8.57	37.31±5.60	16.76±5.82	2.50±0.93

^a: NK grubu ile karşılaştırılmasında fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p≤0.05).

^b: KK grubu ile karşılaştırılmasında fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p≤0.05).

Liyofilize ve nanopartikül bitki ekstraları uygulanan muamele gruplarının NK ve KK grupları ile karşılaştırılması neticesinde elde edilen bulgulara göre; CD3⁺ seviyesi hem NK grubuna hemde KK grubuna göre KNBE2 ve KLBE1 gruplarında azalma istatistiksel olarak anlamlı (p≤0.05) tespit edilirken, diğer muamele gruplardaki azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (p≥0.05).

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi yardımcı T hücrelerin (CD4⁺) seviyesindeki değişikliklerin gruplar arası mukayese sonucunda elde edilen sonuçlara göre; KK grubunun NK grubuna kıyasla azalış istatistiksel olarak anlamsız düzeyde olmuştur (p≥0.05). Ancak,

KNBE1 ve KNBE2 grupların ise KK'ya göre ve KNBE2 grubunun NK grubuna göre azalış istatistiki açıdan anlamlı olduğu ($p \leq 0.05$) tespit edilmiştir.

Sitoksik T hücrelerine (CD8+) bakıldığında ise KK grubu NK'a kıyasla azalmış ama bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. Diğer yandan, KNBE2 ile KLBE1 gruplarının ise hem NK grubuna hemde KK grubuna göre azalış istatistiki açıdan anlamlı olduğu ($p \leq 0.05$) tespit edilirken, diğer grupların kıyaslanmasında ise değişiklikler istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır.

CD4⁺/CD8⁺ oranında ise NK grubuna göre KK grubundaki artış ile her iki ekstre muamele gruplarının artış düzeyi de hem NK grubu ile hemde KK grubu ile karşılaştırılmasında meydana gelen artışlar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p \geq 0.05$).

4.2 Adenozin Deaminaz (ADA) ve Miyeloperoksidaz (MPO Enzim Aktivitesi)

On haftalık çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstraktları uygulama sonrasında sakrifiye edilen ratlardan alınan akciğer ve dalak dokuları ile enzimatik immün sistemin unsurlarından olan Miyeloperoksidaz (MPO) ve Adenozin deaminaz (ADA) enzim aktivitelerinin istatistiksel analizlere ait sonuçları sırasıyla Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'de yer almaktadır.

4.2.1 MPO Enzim Aktivitesi

Çizelge 4.2 Çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstraktlarının bazı dokuların enzimatik immün sistemin unsurlarından olan Miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri üzerine etkileri

Gruplar	Dokular	Dalak (U/g)	Akciğer (U/g)
NK X ± SD		1443.1±237	1190.3±290.4
KK X ± SD		1570.5±229.2 ^a	1442.8±218

Çizelge 4.2 Çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstralarının bazı dokuların enzimatik immün sistemin unsurlarından olan Miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri üzerine etkileri (devam)

KNBE1 X ± SD	1804±334	1374.1±118 ^a
KNBE2 X ± SD	1854.3±255 ^b	1481±308 ^a
KLBE1 X ± SD	1872.7±137.5 ^b	1763.3±153.7 ^b
KLBE2 X ± SD	1820±361	1348.2±237.4 ^a

^a: NK grubu ile karşılaştırılmasında fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p \leq 0.05$)

^b: KK grubu ile karşılaştırılmasında fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p \leq 0.05$)

Nanopartikül bitki ekstresi uygulanan gruplarda: dalak dokusunda NK'ya göre KK'da anlamlı ($p \leq 0.05$) derecede azalma tespit edilirken, KK grubu ile kıyaslandığında KNBE2 grubu istatistiksel açıdan anlamlı bulundu.

Akciğer dokusunda ise NK grubunda meydana gelen MPO aktivitesindeki artış KNBE1 ve KNBE2 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) bulunurken, KK ile KNBE1 ve KNBE2 gruplarının kıyaslanmasında MPO aktivitesi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Liyofilize bitki ekstresi uygulanan gruplarda: dalak dokusunda ise NK ile KK arasında istatistiksel açıdan anlamlı ($p \leq 0.05$) artış tespit edilirken, KK ile kıyaslandığında KLBE1 grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı oldu.

Çizelge 4.2'de gösterildiği gibi akciğer dokusunda NK grubuna göre KLBE2 gruplarında MPO aktivitesindeki artış anlamlı tespit edilirken, KLBE1 grubu ise KK grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı artmıştır.

4.2.2 Adenozin Deaminaz Enzim Aktivitesi

Çizelge 4.3 Çiriş otu liyofilize ve nanopartikül bitki ekstralarının bazı dokuların enzimatik immün sistemin unsurlarından olan adenozin deaminaz (ADA) aktiviteleri üzerine etkileri

Gruplar	Dokular	Dalak (U/g)	Akciğer (U/g)
	NK X ± SD		3.80±0.48
KK X ± SD		1.75±0.46	1.01±0.47 ^a
KNBE1 X ± SD		5.80±1.60 ^b	6.67±1.8 ^a
KNBE2 X ± SD		7.30±1.90 ^b	7.0±1.8 ^a
KLBE1 X ± SD		3.30±0.60 ^a	3.70±8.0
KLBE2 X ± SD		4.05±1.01	4.04±2.0

^a: NK grubu ile karşılaştırılmasında fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p≤0.05)

^b: KK grubu ile karşılaştırılmasında fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p≤0.05)

Nanopartikül bitki ekstresi uygulanan gruplarda: Dalak dokusunda KK ile nanopartikül bitki ekstresinin verildiği gruplar arasında ADA aktivitesinde anlamlı bir artış tespit edildi (p≤0.05). KK ile diğer gruplar kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunamadı.

Akciğer dokusunda NK'ya göre KNBE1 ve KNBE2'deki ADA aktivitesinde artış istatistiksel olarak anlamlıdır (p≤0.05). Yine NK ile KK grubu arasındaki fark önemli olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p≤0.05).

Liyofilize bitki ekstresi uygulanan gruplarda: Dalak dokusunun ADA enzim aktivitesi KLBE1 grubunun NK ile kıyaslanmasında istatistiksel olarak anlamlı azalış bulunurken, KK grubu ile karşılaştırılmasında ise anlamlı bir değişiklik bulunamadı. Çizelge 4.3'da görüldüğü gibi akciğer dokusunun ADA enzim aktivitesinin gruplar arasında yapılan kıyaslanmada KK'ya göre KLBE1 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunurken, KLBE2 grubu ise NK'ya göre istatistiki açıdan anlamlı tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1 Bitki Materyali

Ülkemiz bitki çeşitliliği yönünden önemli bir yere sahiptir. Bu bitkilerin özellikle çeşitli hastalıklarda tedavi edici özelliklerinin bilimsel bir şekilde ortaya konması oldukça önemlidir. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarda *Eremurus spectabilis* M. Bieb. ekstrelerinin antioksidan, mide koruyucu, sitotoksik, antifungal ve apoptotik etkileri olduğu bilinmektedir. Çiriş otunun indirgeme kuvveti, serbest radikal giderme aktivitesi, fenolik madde içeriği ve metal şelatlama aktivitesi için önemli bir kaynak olduğu bulunmuştur. Çiriş otunun içindeki C vitamini bolluğundan immünite için çok önemli olduğu, egzama, sivilce ve idrar yolu enfeksiyonunu ise hızlı bir şekilde iyileştirdiği bulunmuştur.

Kanser, Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı bir çalışmaya göre 70'li yaşlardan önce meydana gelen ölümlerin başlıca sebebidir. Dünyada kanser insidansı ile ölüm oranı gittikçe artmaktadır. Dünyada önemli bir sağlık sorunu olan karaciğer kanseri kadınlarda altıncı sırada yer almaktadır. Erkeklerde ise ilk beşte yer alan kanser türüdür. Kanser nedeniyle meydana gelen ölümlerin ikinci sebebidir (Jemal vd., 2011). HSK insidansı etnik gruplar, coğrafik bölgeler ve cinsiyetler arasında değişiklik gösterir. Hücreler, kimyasal karsinojenlere, radyasyona ve bazı virüslerle temasa geçtiklerinde mutasyona uğrayabilir, hücrenin kontrolsüz büyümesine yol açan transformasyona uğrayabilir ve tümör gelişebilir. Bağışıklık sistemi tarafından tanınan kanser hücreleri genel olarak yok edilirken; bağışıklık sisteminden gizlenebilen hücreler kaçarak ve yaşayabilirler. Bağışıklık sisteminden kaçarak mikro çevreye uyum sağlayabilen bu tümör hücreleri, dirençli hale gelebilirler.

5.2 Deneysel Muamele

Dietilnitrozamin (DEN) deney hayvanlarında tümör oluşumu için kullanılan bir bileşiktir (Tolba vd., 2015). DEN uygulamasından sonra karaciğer kanseri oluşturmak için uygulanan doz, ratların yaşı ve cinsiyet seçimi oldukça önemlidir (Heindryckx vd., 2009). Farelerin yaşının küçük seçilmesinin nedeni, karaciğer hücrelerinin hızlı bölünmesi sonucu karaciğer kanserinin oluşumunun daha hızlı meydana gelmesidir (Vesselinovitch ve Mihailovich 1983). Keza, karaciğer kanseri çalışmalarında deney hayvanları

olarak ratların seçilmesinin sebebi insanlarla genetik benzerlikleri, kısa ömürlü olmaları ve üreme özellikleridir (Heindryckx vd., 2009).

Kanserin nedenleri ve tedavi yöntemleri sonuçlarının takibi için in vitro ve in vivo olarak birçok çalışma yapılmaktadır. Kanser araştırma çalışmalarında deneyler için oldukça uzun süreler gereklidir. Karakurt (2018) 21 haftalık, Moreira vd. (2015) 10 hafta, Vuran (2021) 24 hafta devam eden çalışmalar yapmışlardır. Bizim çalışmamızda literatürde yer alan diğer çalışmalara benzer olarak 10 hafta sürdüğünden deneysel muamele için makul bir süredir.

DEN verilen deney hayvanlarında canlı ağırlıklarında azalma gözlenirken karaciğer ağırlıklarında artma gözlenmektedir (Ding vd., 2017). Çalışmamızda hayvanların haftalık vücut ağırlıklarına bakıldığında DEN ve TAA uygulanan gruplarda normal kontrole göre azalma gözlenmiştir. DEN ve TAA'nın böyle bir etkisinin sebebinin kesin olarak bilinmemekle birlikte deneysel hepatosellüler karsinom sonucunda hücrelerin metabolik olaylarının hızlanmasıyla veya iştah kesilmesiyle böyle bir durumun ortaya çıktığı söylenebilir.

Yapılan bir çalışmada kanser grubunda normal kontrole göre ağırlıkta azalma olduğu fakat buna karşılık karaciğer ağırlığında artma olduğu gözlenmiştir (Salimi vd., 2021). Dolayısıyla, bu çalışmanın bu sonuçları çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Ratlarda deneysel olarak DEN ile indüklenen hepatosellüler karsinogenezis sürecinde çiriş otu bitki ekstraktlarının bağışıklık sisteminin enzimatik unsurlarından ADA ve MPO dalak ve akciğer dokuları üzerine etkilerinin araştırılması sonuçları ile ilgi olarak,

5.3 Adenozin Deaminaz

ADA enzimi pürin metabolizması için çok önemli bir enzimdir. Reaksiyonlar sonucu oluşan adenozin ya da deoksiadenozini inozin veya deoksiinozine dönüştürmektedir. Oluşan bu deaminasyon reaksiyonu geri dönüşümsüzdür ve hız sınırlayıcıdır.

Kanserli dokularda ve hücrelerde ADA enzim aktivitesinin incelendiği birçok çalışma vardır. Bu çalışmalar neticesinde oldukça farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı araştırmacılar kanserli hücrelerin ADA enzim aktivitesini arttığı sonucuna varmışlardır (Kozizumi vd., 1993; Durak vd., 1993).

Yapılan bazı kanser çalışmalarında ise (mesane, cilt, meme kanseri) ADA enziminin artmasının salvej yolu için önemli olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın yapılan bazı araştırmalarda, baş-boyun, mide ve gırtlak kanserinde ADA enzim aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (Durak vd., 1993). Azalan ADA aktivitesinin pürin metabolizmasında bir yıkım enzimi gibi çalıştığını öngörmüşlerdir.

Kanserli hücredeki genlerin yeniden düzenlenmesiyle birlikte enzimlerde değişimler meydana gelir. Kanser hücrelerindeki enzim aktivitelerinin incelenmesi kanserli hücrelerin durumu hakkında bizleri bilgilendirir. Enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen artış azalmalar malign hücrede oluşan yeniden programlanmış kalıtsal bilgi hakkında bize haber verir (Balkan, 2019). Yapılan bazı çalışmalarda ADA aktivitesinin kanser evresiyle doğru oranda arttığını ileri sürmüşlerdir. Sufrin vd. (1978) mesane kanserli hastalarda görülen artışın kanserin evresiyle doğru orantılı olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca akciğer kanserli hastaların ameliyattan sonra ADA enzim aktivitesi düzeyinde azalma gözlemlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise radyoterapi verilen hastaların ADA enzim aktivitelerinin çok büyük oranda azaldığı saptanmıştır (Nishihara vd., 1970).

Bizim çalışmamızda ise ratlarda DEN ve TAA ile oluşturulan karaciğer kanseri dokularında ADA enzim aktivitesi ölçülmüştür. Çalışmamızda TAA ve DEN uygulanmayan normal kontrol, DEN ve TAA uygulanan fakat bitki ekstraları uygulanmayan kanser kontrol, DEN, TAA ve bitki ekstraları (liyofilize ve nanopartikül) uygulanan tedavi edici gruplar bulunmaktadır. Bu gruplarda akciğer ve dalak dokusunda ADA enzimi aktivitesi tayin edilmiştir. Edinilen sonuçlara göre ilk olarak liyofilize olarak verilen çiriş otu bitki ekstre grupları ile normal ve kanser kontrol kıyaslanacak olursa; akciğer dokusunda normal kontrole göre kanser kontrol grubu azalmış buna karşın kanser+liyofilize 50 mg/kg (KLBE1) ve kanser+liyofilize 100 mg/kg (KLBE2) grupları artmıştır. Fakat bu artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Dalak dokusunda da normal kontrole göre KK azalmış, KLBE1 ve KLBE2 KK'ya göre artmıştır. Fakat bu dokuda KLBE1 grubu ile NK arasındaki fark anlamlı olarak bulunmuştur ($p<0.05$).

Çiriş otunun nanopartikül bitki ekstresi verilen gruplardan alınarak incelenen akciğer ve dalak dokusunda ADA enzim aktivitesi ise; akciğer dokusunda kanser kontrol normal kontrole kıyasla önemli oranda azalmıştır. Fakat kanser+nanopartikül 50 mg/kg (KNBE1) ve kanser+nanopartikül 100 mg/kg (KNBE2) grupları ise normal kontrole göre anlamlı olarak artmıştır. Dalak dokusunda da akciğer dokusuna benzer olarak kanser

kontrol normal kontrole göre azalırken, KNBE1 ve KNBE2 grupları artmıştır ve bu artış istatistiksel açıdan anlamlıdır.

Literatür taraması yapıldığında ADA enzim aktivitesinin arttığı veya azaldığı birçok kanser çalışması vardır. Durak ve arkadaşları meme ve mesane kanserli hastaların kanser dokusunu araştırmış ve ADA enzim aktivitesinin artmış olduğunu gözlemlemişlerdir. Yine yapılan çalışmada larenks kanseri olan hastalardan alınan kanser dokularında ADA enzim aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (Durak vd., 1993).

Literatürdeki diğer araştırmalara bakıldığında bu modelde deneysel hepatosellüler karsinoma oluşturulan ratlarda ADA enzim aktivitesindeki değişiklikleri yapan bir çalışmaya rastlanılmadığından bu çalışmada elde edilen sonuçları karşılaştırma fırsatı ve oluşan değişimler hakkında bir genelleme yapılması imkânsızdır. Ancak, kanser çeşitleri arasında ADA aktivitesinde meydana gelen bu tür değişiklikler muamelelerin seyri hakkında iyi bir bilgi verebilir.

Bu bilgiler ışığında bu tür hastalıkların teşhisi ve tedavisi sırasında elde edilen sonuçların yorumlanması ile kıymetli bilgiler sağlamaktadır. Çalışmamızda edinilen sonuçlara göre ADA aktivitesinin kanser grubunda normal kontrole göre azaldığı tespit edilmiştir ve tedavi gruplarında ise kanser kontrole göre artmıştır ve bu sonuçlar anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlara enzim aktivitelerinde KNBE1, KLBE1 ve KNBE2 grupları kanser kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Gırtlak kanseri ile ilgili yapılan çalışmada ADA aktivitesi tıpkı bizim çalışmamızdaki gibi kanser grubunda azalmıştır. Buda bu kanser türlerinde nükleotidleri korumanın bir yolu olduğunu ve ADA enziminin pürin metabolizmasında ksantin oksidaz gibi bir yıkım enzimi olduğunu ileri sürülebilir (Durak vd., 1993).

5.4 Miyeloperoksidaz

Reaktif oksijen türlerinin önemli bir kaynağı nötrofillerdir. İhtiva ettikleri NADPH oksidaz ile O₂'yi süperoksit radikaline çevirir. Süperoksit radikali ile oluşan H₂O₂ MPO enzimi ile hipoklorik asit oluşumunu sağlar. Oluşan bu hipoklorik asit ise hem proteinleri ve sitokromların inaktive edilmesinde, amino asitlere ve proteinlere karşı sitotoksik etki göstermesinde, sülfidlerin oksidasyonunun sağlanmasında görev alır (Maruyama vd., 2004).

Bu çalışmada DEN ve TAA ile indüklenen hepataselüler karsinomda çiriş otu bitki ekstralarının 10 haftalık uygulanmasından sonra dalak ve akciğer dokularında MPO enzim aktivitesi araştırıldı.

Uchida ve arkadaşlarının fareler üzerinde parasetamol toksisitesi oluşturarak inceledikleri çalışmada toksisite edilen gruplarda MPO düzeyinde artış gözlenmiştir. Çalışmada karaciğer MPO nun artmasının karaciğerde meydana gelen hasarla alakalı olduğu sonucuna varılmıştır. Yine incir çekirdeğinin tedavi grubu olarak kullanılmasına dayanan bir toksisite deneyinde toksisite grubunda MPO artışının gözlendiğini ve incir çekirdeği yağı uygulanan grupta ise azaldığı gözlenmiş olup, bu etkininde incir çekirdeği yağının nötrofil göçünü azalttığına dair bir yorumda bulunmuşlardır (Uchida vd., 2017)

Çalışmamızda liyofilize bitki ekstresi verilen gruplarda MPO aktivitesi (KLBE1, KLBE2) hem akciğer hem de dalak dokusunda normal kontrole göre kanser kontrol grubu artmıştır. KLBE1 grubu kanser kontrole göre artmış olup istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu da literatürdeki bilgileri destekler niteliktedir. Dalak dokusunda ise yine kanser kontrol, KLBE1 ve KLBE2 normal kontrole göre artmıştır. Fakat bu artış anlamlı değildir ($p < 0.05$). KLBE1 kanser kontrole göre artmış ve istatistiksel açıdan anlamlıdır. Fakat tedavi grubunun artmış olması nötrofillerden kaçışın olmadığı anlamına gelebilir. Çalışmamızda nanopartikül bitki ekstresi verilen gruplarda MPO enzim aktivitesi akciğer dokusunun normal kontrol ile kıyaslandığında kanser kontrolde istatistiksel olarak anlamlı yükselmiştir. Buda akciğerde meydana gelen hasar sonucu nötrofil göçünün arttığını göstermektedir.

Çiriş otu nanopartikül ekstresi verilen gruplarda ise KNBE1 grubu kanser kontrole göre azalmıştır. Diğer yandan, KNBE2 grubunun kanser kontrole göre MPO aktivitesinde istatistiksel açıdan anlamlı yükselmiştir. Dalak dokusunda ise yine KK, KNBE1, KNBE2 gruplarında artış gözlenmiştir. KK ile karşılaştırılmada KNBE1 ve KNBE2’de meydana gelen bu artış anlamlı bulunmamıştır.

Özyurt vd. (2007) yaptığı bir çalışmada antikanserojen etkisi bulunan bir antibiyotik olan bleomisin (BLM) ile akciğer fibrozisi oluşturmuşlar. Akciğer fibrozisinde bir antioksidan, antiviral, immun uyarıcı, antiinflamatuvar özellikleri bulunan kafeik asit fenil esterinin CAPE ‘nin etkileri araştırılmıştır. BLM verilen grupta MPO aktivitesinde

artış gözlenirken kontrol grubunda azaldığı gözlenmiştir. Rainis vd. (2007) kanserli hastalarda kolonik tümör dokusu ile sağlam dokuyu incelemişlerdir. Tümör dokuları kontrol gruplarına göre 2 kat arttığını bulmuşlardır.

Etil alkolün immünotoksik özelliklerine karşı ıhlamur çiçeği verilen grupların iyileştirici etkilerini ADA VE MPO enzim aktivitesini arttığı yönünde rapor edilmiştir. Bu çalışmada ratlar 4 gruba ayrılmış ve birinci gruba sadece musluk suyu, ikinci gruba musluk suyu ve etil alkol karışımı, üçüncü gruba musluk suyu ve ıhlamur çiçek karışımı, dördüncü gruba ise etil alkol ve ıhlamur çiçek karışımı verilmiştir. Ve kontrol gruplarına göre ADA ve MPO enzimlerinin arttığı bulunmuştur (Özok ve Çelik, 2019).

5.5 Flow sitometri

Ratlarda deneysel olarak DEN ile indüklenen hepatosellüler karsinogenezis sürecinde çiriş otu bitki ekstraktlarının bağışıklık sisteminin hücresel unsurlarından CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ ve CD4⁺/CD8 oranları üzerine etkilerinin araştırılması sonuçları aşağıda verilmiştir.

5.5.1 Süpresör/Sitotoksik T lenfositleri (CD8)

Sitotoksik T lenfositleri her zaman CD8⁺ yüzey antijenine sahiptir ve antitümör immün yanıtta bir işlev oynar. Mevcut çalışmalarda, CD8⁺ T lenfosit en yaygın T hücresi alt kümesidir. CD8⁺ mide, yemek borusu kanseri gibi tümörlerde iyi bir prognozla bağlantılı olduğu gösterilmiştir. HCC'de, CD8⁺ T hücreleri de yaygın olarak söz konusudur. Son zamanlarda yapılan birkaç araştırma, HCC ile tümör dokusunda CD8⁺ TIL (Tumour Infiltrating Lymphocytes=Tümör infiltre edici lenfosit) ekspresyonunun azaldığını belirtmiştir. Yarchoan vd.,(2017) yaptığı çalışmada, HCC'li 29 vakadan alınan CD8⁺ TIL'ler için immünohistokimya boyaması yapılmıştır ve tümör dokusunda CD8⁺ T hücrelerinin ekspresyonunun karaciğer arka planındakinden önemli şekilde daha az olduğunu ayrıca tümör tarafındaki CD8⁺ T hücrelerinin ekspresyonunun, tümürlü olanın tümör olmayan tarafındakinden daha düşük olduğu bulunmuştur. Sınır bölgesi ile karşılaştırıldığında, merkezi tümör bölgesi daha düşük bir ekspresyona ve daha küçük bir CD8⁺ T lenfosit alanına sahip olduğu gözlenmiştir (Zhao vd., 2019).

Diğer tümörlerde olduğu gibi birçok uzman HCC'de CD8⁺ T lenfositin koruyucu bir faktör olduğunu göstermiştir. Araştırmaya göre, intratümöral ve perivasküler bölgelerde CD8⁺TIL'lerin yüksek ekspresyonu, iyileştirilmiş sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. 446 HCC vakasının kohort analizinde hem intratümör hem de sınır alanındaki CD8⁺TIL'lerin yoğunlukları, genel ve normal sağkalım ile pozitif korelasyon gösterdi ve daha yüksek yoğunluklu CD8⁺ TIL'ler, azalmış nüks oranını gösterdi. Sideras vd. (2018) 154 hastadan alınan HCC doku örneklerini immünohistokimyasal analiz kullanarak analiz ettikten sonra CD8⁺ TIL'leri düşük yoğunluklu hastaların kötü bir şekilde hayatta kaldığını bildirmiştir, bu da doğrulama kohortlarında da doğrulanmıştır. Bu sonuç, yüksek ekspresyona sahip CD8⁺ TIL'lerin pozitif bir prognostik rolü olduğunu düşündürdü. Yine de, CD8⁺ TIL'lerin normal olarak antitümör aktivite gösterip gösteremeyeceği, yine de yüzeylerindeki inhibe edici reseptörlerin ekspresyon seviyesi tarafından belirlendi (Sun vd., 2016; Xu vd., 2019).

Bu çalışmada, kanser oluşturulan ratlarda çiriş otunun liyofilize bitki ekstralarının kullanımı sonrasında yapılan akış sitometrisi analizleri sonucunda çiriş otu ekstralarının CD8⁺ T hücrelerinin sayısının normal kontrole göre kanser kontrol ve diğer gruplarda azaldığı gözlemlendi. NK'ya göre KK grubunda meydana gelen azalma anlamlı bulunmuştur. Yine nanopartikül bitki ekstresi verilen gruplarda benzer sonuçlar gözlenmiştir. NK'ya kıyasla meydana gelen azalmalar KNBE1 ve KNBE2 gruplarındaki azalmalar anlamlı değil iken, KK' daki anlamlı bir azalma meydana gelmiştir.

5.5.2 Olgun T lenfositleri (CD3)

CD3⁺ aynı zamanda T lenfositlerinin tipik yüzey antijenidir. I ila IV evre HCC'li 65 hastanın yer aldığı bir çalışmada, tümörlerin hem merkezinde hem de kenarındaki yüksek CD3⁺ TIL yoğunluklarının, düşük nüks ve uzun süreli hastalısız sağkalımı öngördüğü bulundu. Yao'nun çalışmasında da 3173 HCC hastasıyla ilgili 23 makaleyi içeren bir meta-analizde aynı sonuca vardı. Perivasküler alandaki CD3⁺ TIL'lerin değeri de aynı şekilde kanıtlanmıştır. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, perivasküler bölgede yüksek miktarda CD3⁺ TIL'leri olan hastaların uzun hastalısız sağkalımlara sahip olduğunu bulmuştur, bu da perivasküler lokasyondaki CD3⁺ TIL'lerin de HCC'nin bağımsız

bir öngörücüsü olarak kullanılabileceğini ima etmektedir. Bu çalışmalara rağmen, bir makale yüksek CD3⁺ TIL'lerin HCC için kötü prognoz faktörü olduğunu gösterdi. 1274 HCC hastasını içeren TIL'ler üzerine yedi makalenin bir meta-analizi, tümör merkezinde yüksek oranda CD3⁺ T lenfosit infiltrasyonunun, hastalığın ilerlemesini sağladığı ortaya konmuştur (Gabrielson vd., 2016). Özetle: anlaşmazlıklar olmasına rağmen çoğu çalışma, tümörde veya perivasküler bölgede yüksek bir CD3⁺ TIL konsantrasyonunun HCC'de olumlu bir sonucu öngördüğünü rapor edilmiştir. Bu çalışmada, kanser oluşturulan ratlarda çiriş otunun liyofilize bitki ekstralarının kullanımı sonrasında yapılan akış sitometrisi analizleri sonucunda çiriş otu ekstralarının CD3⁺ T hücrelerinin sayısının normal kontrole göre kanser kontrol ve diğer gruplarda azaldığı gözlemlendi. Bu farklılıkta ise sadece kanser+50 mg/kg liyofilize bitki ekstresi (KLBE1) grubu ile NK arasındaki azalma önemli (p≤0.05) bulundu. Diğer yandan, KK ve nanopartikül bitki ekstresi verilen gruplarda ise yine NK göre anlamlı azalma görülmüş olup, KNBE2 ile NK arasındaki fark anlamlı bulundu. Yine KNBE2 ve kanser kontrol arasındaki farkın önemli olduğu bulundu. Bununla birlikte çiriş otu bitki ekstralarının lenfosit hücreleri ve bağışıklık hücreleri ile etkisinin incelendiği çalışma bulunamadığından karşılaştırma yapılamamıştır.

5.5.3 Yardımcı T Lenfositler (CD4)

CD4⁺ T lenfositleri, sitokinleri salgılayarak ve CD8⁺ T lenfositlerini aktive ederek tümöre karşı bağışıklık tepkisinde aktivite üstlendiler.

Sitotoksik aktiviteye sahip CD4⁺ T hücreleri, CD4⁺ CTL'ler olarak adlandırılmaktadır. CD4⁺ CTL'lerin antiviral ve antitümör etkiler sergileyebildiği gösterilmiştir. CD4⁺ T hücreleri, HCC dâhil olmak üzere birçok kanserde kapsamlı bir şekilde keşfedilmiştir. Erken evre HCC ile karşılaştırıldığında, ileri evre HCC'de CD4⁺ TIL'lerin miktarı daha düşüktü, bu da CD4⁺ TIL'lerin kademeli olarak azalmasının HCC ilerlemesi ile ilişkili olabileceğini düşündürür. Geç evre HCC'de CD4⁺ TIL'lerin düşüş mekanizmasını daha iyi anlamak için, Chaoul'un ve arkadaşları CD4⁺ TIL'lerin alt kümelerini gözlemledi. HCC hastalarının dolaşımdaki kanıyla karşılaştırıldığında, terminal olarak farklılaşmış efektörlerin (TEFF) hem peritümörde hem de merkezi tümörde güçlü bir şekilde azaldığını ve tükendiğini buldular, bu da CD4⁺ TIL'lerin bağışıklık sisteminden kaçmak için seçici olarak tümöre alındığını gösterir.

CD4⁺ TIL'lerin HCC'de koruyucu görev üstlendiği bulunmuştur. CD4⁺ CTL'lerin ilerleyici düşüşü, kötü prognoz ve yüksek HCC nüksü ile ilişkilidir. NASH fare modelinde gerçekleştirilen başka bir çalışma, CD4⁺ T lenfositlerinin apoptozunu indüklemenin HCC gelişimini destekleyebileceğini, CD4⁺ T lenfositlerinin apoptozunu kurtarmanın ise HCC gelişimini önleyebileceğini ortaya koydu. Bununla birlikte, CD4⁺ TIL'lerin azalmasının aracılık ettiği HCC ilerlemesinin mekanizması belirsizliğini koruyor. Bir yandan, CD4⁺ TIL'lerin azaltılmış ve tükenmiş TEFF'sinden doğrudan sorumluydu. Öte yandan, CD4⁺TIL'lerin yardımı olmadan CD8⁺ TIL'lerin yetersiz uyarılması, HCC'nin kötü prognozunda rol oynayabilir. Bunun yanında, birkaç araştırma, CD4⁺ TIL'ler ile HCC ilerlemesi arasında bir korelasyon olmadığını savundu. Yüksek AFP ve zayıf tümör farklılaşması ile pozitif korelasyon gösterse de, CD4⁺ TIL'lerin ne genel hayatta kalma ne de hastalıklı hayatta kalma ile ilişkili olmadığı keşfedildi (Witkowski vd., 2011).

Çalışmamızda CD4⁺ lenfositleri ise liyofilize bitki ekstresi verilen gruplarda NK ve KK kıyasla daha mühim bir fark meydana gelmemiş aksine kanser kontrol grubu normal kontrol grubuna göre azalmıştır. KLBE1 ve KLBE2 gruplarında da azalma devam etmiştir. Bu durumunda istatistiki açıdan anlamsız olduğu anlaşılmıştır.

HCC'nin geliştirilmesinde onları birbirine bağlayan çoklu sinyal yollarına sahip karmaşık bir harita oluşturmak için çalışmalar yapılmıştır. TIL'lerin işlev gördüğü belirli işlevler ve mekanizmalar gibi keşfedilmemiş TIL alanlarını ortaya çıkarmak için gelecekteki araştırmalar gereklidir. Uzun vadede, HCC ilerlemesinin rolleri ve mekanizmalarında TIL'ler üzerinde çalışmak, HCC ilerleme yasasını en iyi şekilde anlamamıza ve yenilikçi immünoterapi stratejilerini belirlememize yardımcı olabilir (Liu vd., 2021).

Medenica vd. (1993) çörek otuyla yaptıkları bir incelemede CD3⁺, CD8⁺ ve CD4⁺ lenfositlerini incelemişler ve sayılarının arttığını gözlemlemişler. Bu artışın kan hücrelerinin uyarılması sonucu olabileceği kanısına varmışlardır.

Çalışmamızda nanopartikül bitki ekstresi verilen gruplarda CD4⁺ ise tam tersi normal kontrole göre kanser kontrol ve KNBE1, KNBE2 gruplarında önemli derecede azalma gözlemlendi. Fakat bu azalmalar kanser kontrole göre anlamlı bulunmamıştır. CD8⁺ hücrelerinde ise kanser kontrol literatür taramasını destekler nitelikte azalmıştır. Fakat hem liyofilize hem de nanopartikül bitki ekstresi verilen gruplarda kanser kontrol ve nor-

mal kontrol gruplarında önemli derecede azalma gözlenmiştir. Bununda çiriş otu bitkisinin karaciğer kanseri sürecinde CD8⁺ hücrelerini olumsuz yönde etki gösterdiği öne sürülebilir.

5.5.4 CD4⁺/CD8⁺ oranı

Genel olarak, bir antitümör efektörü olarak görev yapan CD8⁺, tümörlü dokuda azaldı ve bunun, çalışmaların çoğunda HCC'de kötü prognoz ile bağlantılı olduğu anlaşılmıştır. Çoklu alt gruplara sahip tümör infiltre edici T lenfositleri, aynı anda antitümör ve protümör etkiler sergileyerek, HCC için anlamlı prediktif değer göstermiştir. Bu nedenle yüksek CD4⁺/CD8⁺ TIL oranının iyi prognoz ile ilişkili olduğu gösterildi. CD8⁺/CD3⁺TIL oranı ise HCC'de sağkalım ile korelasyon göstermedi. Son karaciğer transplantasyonunu kabul eden 69 HCC hastasını içeren bir rapor, yüksek CD4⁺/CD8⁺TIL oranı olan hastaların tedaviden sonra nüks riskinin düşük olduğuna işaret etti. Yapılan araştırmalarda CD4⁺/CD8⁺ oranının 1'in üzerinde olması bağışıklığın güçlü olduğunu işaret eden bir belirteçtir (Mathai vd., 2012).

Çalışmamızda yine liyofilize bitki ekstresi gruplarında normal kontrole göre artış gözlemlendi. Bu artış anlamlı bulunmadı. Yine nanopartikül bitki ekstresi gruplarında da değişimler benzer şekildeydi. Bu çalışmada helper hücreleri arttığı CD8⁺ hücreleri azaldığı için CD4⁺/CD8⁺ oranı yüksek çıkmıştır.

Çörek otu kullanılan bir çalışmada CD4⁺, CD8⁺ ve CD3⁺ lerde arttığı bulunmuştur. Bu artışın hematopoezde aktifleşme sonunda immün sistemde olduğunu bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise çiriş otunun CD3⁺ ve CD8⁺ hücrelerinde kanser kontrole göre bir artış gözlenmemiş aksine dahada düşürmüştür (Kaya, 2002).

Canlılarda pek çok neden CD4⁺ ve CD8⁺ hücre sayısını değiştirmektedir. Normal kontrolde ve kanser kontroldeki ratlarda bakteriyel, viral enfeksiyonlar, analiz yöntemleri, toplanan bitkilerin maruz kaldığı çevresel koşullar, başka birçok biyolojik unsur T lenfosit sayısını değiştirmektedir. Analiz yöntemlerinde ise ratlardan alınan kanın kısa süre sonra (1 gün içerisinde) sayımın yapılması gerekir. Yine flow sitometrik incelemede kullanılan kitlerin uygun koşullarda saklanamaması, ortamın ısısı, ratlardan alınan kanların korunması da T lenfositlerin sayısını etkilemektedir. Keza, analiz yöntemleri gibi biyolojik metotlarda bu hücrelerin sayısını etkilemektedir. Genel olarak, TIL'lerin hepatoselüler karsinomda hem antitümör hem de protümör özellikler sergilediği gösterilmiştir.

CD4⁺, CD3⁺, CD8⁺ ve CD4⁺/CD8⁺ oranı arasında TIL'lerin işlev gördüğü belirli fonksiyonlar ve mekanizmalar gibi keşfedilmemiştir. TIL alanlarını ortaya çıkarmak için gelecekteki araştırmalar gereklidir. Uzun vadede, HCC ilerlemesinin rolleri ve mekanizmalarında TIL'ler üzerinde çalışmak, HCC ilerleme yarasını en iyi şekilde anlamamıza ve yenilikçi immünoterapi stratejilerini belirlememize yardımcı olabilir

Sonuç olarak; bu çalışmada elde edilen veriler sonucunda DEN ve TAA ile oluşturulmuş hepatoselüler karsinogenez sürecinde akciğer ve dalak dokusundaki hasarların normal kontrole göre tespit edilmesi ve çiriş otunun hem liyofilize hem de nanopartikül bitki ekstralarının karsinogenez sürecindeki ratlara uygulanması sonucu immün yanıtın verdiği tepki için T lenfositleri, MPO ve ADA enzimleri araştırıldı.

Elde edilen sonuçlara göre; İmmün sistemin belirteci olan ADA enziminde kanser kontrol grubu normal kontrol grubuna göre azalmış iken KNBE1, KNBE2, KLBE1 ve KLBE2 grupların hem akciğer hemde dalak dokularında artmıştır. Buda bu kanser türlerinde nükleotidleri korumanın bir yolu olduğunu ve ADA enziminin pürin metabolizmasında ksantin oksidaz gibi bir yıkım enzimi etkisinden geldiği ileri sürülebilir.

MPO enziminde ise normal kontrole göre KK 'da artış gözlenmiştir. Fakat yapılan çalışmalarda tedavi gruplarında KK göre azalma gözlenmesi gerekirken akciğer dokusunda KLBE2 ve KNBE1 grupları dışındaki gruplarda artma gözlenmiştir. Bu gruplarda TAA ve DEN'in neden olduğu harabiyet sonucu farklı dokularda değişen biyobelirteçlerin kanser gruplarına göre iyileşme sağladığı söylenebilir.

Çalışmada kanda flow sitometrik analizler sonuçları ile ilgili olarak: CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ oranlarında normal kontrole göre kanser kontrolde azaldığı gözlenmiş olup bu azalma tedavi gruplarında devam etmiştir. CD4⁺/CD8⁺ oranları ise artmıştır. Çalışmamızda çiriş otu bitki ekstralarının hepatoselüler karsinogenez sürecindeki hücrel ve enzimatik bağışıklık sistemi incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre kanser kontrol gruplarındaki etkiler literatürdeki çalışmalar ile örtüşürken, bitki ekstraları ile tedavi gruplarındaki etkilerin zıt sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir. Böylesi etkiler için kesin sonuç söylemek imkansız olmak ile birlikte bitkinin sekonder metabolit maddelerin etkilerinin bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. Çiriş otu ile ilgili olarak bu çalışmaya benzer deneysel bir çalışmaya rastlanılmadığı için önceki çalışmalarla kıyaslama yapılamamıştır.

Dünyada birçok hastalığın tedavisinde ve belirtilerin azalmasında bitkiler bilinçsizce kullanılmaktadır. Fakat bazı bitkilerin olumsuz yan etkileri kaçınılmaz olduğu aşikârdır. Keza, kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkilerin iyileştirici gücünden yararlanılırken olumsuz yan etkileri ile birlikte bitkilerin ekstraksiyon yöntemleri doğru yapılmalı, bitki doğru koşullarda saklanmalı ve bitkilerin kimyasal içerik analiz taraması yapılarak doğru uygulama yapılmalıdır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *Eremurus spectabilis* M. Bieb bitkisinin kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili henüz yeterli sonuçlar elde edilmemiştir. Ancak, bu çalışmada elde edilen sonuçlar bundan sonraki *Eremurus spectabilis* M. Bieb ile ilgili yapılacak in vivo ve in vitro çalışmalara ışık tutacağı kanaatine varılmıştır.



KAYNAKLAR

- Akdağ, Ş. (2019). *Eremurus Spectabilis M. Bieb tohumlarında çimlenme ve çıkış performansını iyileştirmek için farklı kombinasyon uygulamaları*. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Alberts, S. R., Wagman, L. D. (2008). Chemotherapy for colorectal cancer liver metastases. *The Oncologist*, 13(10), 1063–1073.
- Alpaslan, İ., Önal, Ö. (2016). Ağrı bölgesi karapapak terekemelerin yaptığı yemekler. *Uluslararası Karadeniz Havzası Halk Bilimi Araştırmaları Dergisi*, 1(6), 98-123.
- Amereh, Z., Hatami, N., Shirazi, F. H., Gholami, S., Hosseini, S. H., Noubarani, M., Eskandari, M. R. (2017). Cancer chemoprevention by oleaster (*Elaeagnus angustifoli* L.) fruit extract in a model of hepatocellular carcinoma induced by diethylnitrosamine in rats. *EXCLI Journal*, 16, 1046.
- Anand, P., Kunnumakara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Tharakan, S. T., Lai, O. S., Aggarwal, B. B. (2008). Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical Research*, 25, 2097-2116.
- Anderton, S. M., Wraith, D. C. (2002). Selection and fine-tuning of the autoimmune T-cell repertoire. *Nature Reviews Immunology*, 2(7), 487-498.
- Aratani, Y., Koyama, H., Nyui, S. I., Suzuki, K., Kura, F., Maeda, N. (1999). Severe impairment in early host defense against *Candida albicans* in mice deficient in myeloperoxidase. *Infection and Immunity*, 67(4), 1828-1836.
- Ateş. Y., Ergün H., Tüzün, A., Bağcı, S., Kurt, İ. , İnal, A. , Polat, Z. (2005). Ailesel Akdeniz Ateşi olan lenfosit alt grupları ve serum adenozin deaminaz düzeyindedir. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 4 (2), 112-116.
- Bakiri, L., Wagner, E. F. (2013). Mouse models for liver cancer. *Molecular Oncology*, 7(2), 206-223.
- Balkan, M. B. (2019). *Farelerde ehrlich asit solid tümöründe hypericum perforatum'un karaciğer dokusu adenozin deaminaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim aktiviteleri üzerine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur, Türkiye.
- Baytop, T. (1984). *Türkiyede Bitkiler ile Tedavi (geçmişte ve bugün)*. İstanbul Üniversitesi Yayınları,40.
- Bosch, F. X., Ribes, J., Díaz, M., Cléries, R. (2004). Primary liver cancer: Worldwide incidence and trends. *Gastroenterology*, 127(5), 5-16.
- Bradley, P. P., Priebat, D. A., Christensen, R. D., Rothstein, G. (1982). Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *Journal of Investigative Dermatology*, 78(3), 206-209.
- Bruix, J., Raoul, J. L., Sherman, M., Mazzaferro, V., Bolondi, L., Craxi, A., Llovet, J. M. (2012). Efficacy and safety of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: subanalyses of a phase III trial. *Journal of Hepatology*, 57(4), 821-829.
- Bursal, E., Güzel, E., Boğa, R. (2013). Çiriş otunun (*Asphodelus Aestivus*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1), 17-25.
- Chaplin, D. D. (2010). Overview of the immune response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), 3-23.

- Chen, J., Jin, R., Zhao, J., Liu, J., Ying, H., Yan, H., Cai, X. (2015). Potential molecular, cellular and microenvironmental mechanism of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma. *Cancer Letters*, 367(1), 1-11.
- Cicalese, L., Curcuro, G., Montalbano, M., Shirafkan, A., Georgiadis, J., Rastellini, C. (2017). Hazardous air pollutants and primary liver cancer in Texas. *PloS One*, 12(10), e0185610.
- Dai, Z. J., Wu, W. Y., Kang, H. F., Ma, X. B., Zhang, S. Q., Min, W. L., Kang, W. F., Ma, X. B., Zhang, S. Q., Min, W. L., Lu, W. F., Lin, S., Wang, X. J. (2013). Protective effects of *Scutellaria barbata* against rat liver tumorigenesis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(1), 261-265.
- Dashti, M., Zarif Ketabi, H., Paryab, A., Tavakoli, H. (2005). Horasan'da Tilki Kuyruğu Zambağı'nın (*Eremurus spectabilis*) ekolojik gereksinimlerinin araştırılması. *İran Menzil ve Çöl Araştırmaları Dergisi*, 12 (2), 153-166.
- Day, C. L., Kaufmann, D. E., Kiepiela, P., Brown, J. A., Moodley, E. S., Reddy, S., Walker, B. D. (2006). PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature*, 443(7109), 350-354.
- Ding, Y. F., Wu, Z. H., Wei, Y. J., Shu, L., Peng, Y. R. (2017). Hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis in the rat hepatocellular carcinoma induced by diethylnitrosamine. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 143, 821-834.
- Durak, I., Işık, C. Ü., Canbolat, O., Akyol, Ö., Kavutçu, M. (1993). Adenosine deaminase, 5' nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities in cancerous and noncancerous human laryngeal tissues. *Free Radical Biology and Medicine*, 15(6), 681-684.
- El-Serag, H. B., Rudolph, K. L. (2007). Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*, 132(7), 2557–2576.
- Fahmi, A., Hassanen, N., Abdur-Rahman, M., Shams-Eldin, E. (2019). Phytochemicals, antioxidant activity and hepatoprotective effect of ginger (*Zingiber officinale*) on diethylnitrosamine toxicity in rats. *Biomarkers*, 24(5), 436-447.
- Famili, F., Wiekmeijer, A. S., Staal, F. J. (2017). The development of T cells from stem cells in mice and humans. *Future Science OA*, 3(3), 186.
- Fenna, R. E. (1987). Crystallization and subunit structure of canine myeloperoxidase. *Journal of Molecular Biology*, 196(4), 919-925.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5), 359-386.
- Formeister, J. F., Tritsch, G. L. (1976). Adenosine deaminase levels in blood type A patients with metastatic tumor. *Surgery*, 79(1), 111–117.
- Gabrielson, A., Wu, Y., Wang, H., Jiang, J., Kallakury, B., Gatalica, Z., He, A. R. (2016). Intratumoral CD3 and CD8 T-cell densities associated with relapse-free survival in HCC. *Cancer Immunology Research*, 4(5), 419-430.
- Gao, Z. W., Wang, X., Zhang, H. Z., Lin, F., Liu, C., & Dong, K. (2021). The roles of adenosine deaminase in autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*, 20(1), 102709.
- Germain, R. N. (2002). T-cell development and the CD4–CD8 lineage decision. *Nature Reviews Immunology*, 2(5), 309-322.
- Giusti, G., Gakis, C. (1974). Temperature conversion factors, activation energy, relative substrate specificity and optimum pH of adenosine deaminase from human serum and tissues. *Enzyme*, 12(4), 417-25.

- Gomaa, A. I., Khan, S. A., Toledano, M. B., Waked, I., Taylor-Robinson, S. D. (2008). Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors and pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 14(27), 4300–4308.
- Grandhi, M. S., Kim, A. K., Ronnekleiv-Kelly, S. M., Kamel, I. R., Ghasebeh, M. A., Pawlik, T. M. (2016). Hepatocellular carcinoma: from diagnosis to treatment. *Surgical Oncology*, 25(2), 74-85.
- Gravitz, L. (2014). Liver cancer. *Nature*, 516(7529), 1.
- Gruenberger, T., Bridgewater, J., Chau, I., García Alfonso, P., Rivoire, M., Mudan, S., Lasserre, S., Hermann, F., Waterkamp, D., Adam, R. (2015). Bevacizumab plus mFOLFOX-6 or FOLFOXIRI in patients with initially unresectable liver metastases from colorectal cancer: the OLIVIA multinational randomised phase II trial. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 26(4), 702–708
- Gündoğdu, G., Dodurga, Y., Elmas, L., Tasci, S. Y., Karaoglan, E. S. (2018). Investigation of the anticancer mechanism of isoorientin isolated from *Eremurus spectabilis* leaves via cell cycle pathways in HT-29 human colorectal adenocarcinoma cells. *The Eurasian Journal of Medicine*, 50(3), 168.
- Güngör, F. (2002). *Yabani olarak yetişen çiriş (Eremurus spectabilis (Bieb.) fedtsch.), çasıır (Prangos ferulacea lindl.) ve sarı çasıır (Hippomarathrum microcarpum bieb.) bitkilerinin morfolojik ve biyolojik özellikleri ile kültüre alınabilme imkanları üzerine*. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.
- Güven, Y., Satman, I., Dinççağ, N., Alptekin, S. (1996). Salivary peroxidase activity in whole saliva of patients with insulin-dependent (type-1) diabetes mellitus. *Journal of Clinical Periodontology*, 23(9), 879-881.
- Hartke, J., Johnson, M., Ghabril, M. (2017). The diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 34(2), 153-159.
- Heesters, B. A., van der Poel, C. E., Das, A., Carroll, M. C. (2016). Antigen Presentation to B Cells. *Trends in Immunology*, 37(12), 844–854.
- Heindryckx, F., Colle, I., Van Vlierberghe, H. (2009). Experimental mouse models for hepatocellular carcinoma research. *International Journal of Experimental Pathology*, 90(4), 367-386.
- Inoguchi, T., Xia, P., Kunisaki, M., Higashi, S., Feener, E. P., King, G. L. (1994). Insulin's effect on protein kinase C and diacylglycerol induced by diabetes and glucose in vascular tissues. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 267(3), 369-379.
- Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M. J. (2001). Antigen recognition by B-cell and T-cell receptors. *Immunobiology: the Immune System in Health and Disease*, 103-134.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), 69-90.
- Jin, H. T., Ahmed, R., Okazaki, T. (2011). Role of PD-1 in regulating T-cell immunity. *Negative Co-Receptors and Ligands*, 17-37.
- Jung, K. W., Won, Y. J., Oh, C. M., Kong, H. J., Lee, D. H., Lee, K. H. (2017). Prediction of cancer incidence and mortality in Korea, 2017. *Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association*, 49(2), 306-312.

- Kane, B. J., Kuhn, J. G., Roush, M. K. (1992). Pentostatin: an adenosine deaminase inhibitor for the treatment of hairy cell leukemia. *The Annals of Pharmacotherapy*, 26(7-8), 939–947.
- Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A., Asamizu, E., Nakamura, Y., Tabata, S. (1996). Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Research*, 3(3), 109-136.
- Karaca, O. B., Yıldırım, O., Çakıcı, C. (2015). Gastronomi turizminde otlar, ot yemekleri ve sağlıkla ilişkisi üzerine bir değerlendirme. *Journal of Tourism & Gastronomy Studies*, 3(3), 27-42.
- Karakurt, E. (2018). *Ratlarda deneysel karaciğer kanser modelinde silymarin'in koruyucu etkisinin histopatolojik ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılması*. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, Türkiye.
- Karataş, F., Bektaş, İ., Birişik, A., Aydın, Z., Kurtul, A. (2011). Çiriş Otu'nda (*Asphodelus Aestivus* L.) suda çözünen bazı bileşiklerin araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 6(1), 35-39.
- Kaya, H., Yılmaz, S., Gürkan, M., Hisar, O. (2013). Effects of environmental hypercapnia on hemato-immunological parameters, carbonic anhydrase, and Na⁺, K⁺-ATPase enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 95(8), 1395-1407.
- Kaya, M. S. (2002). *Çörek otu (Nigella sativa) tohumunun insanlarda hücresel bağışıklık sisteminin CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ hücreleri ve diğer lökositler üzerine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Keskiner, K., Tuncer, B. (2019). Dormancy breaking treatments for wild *Eremurus spectabilis* M. Bieb seeds. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28, 1167-1173
- Kettle, A. J., Winterbourn, C. C. (1991). Mechanism of inhibition of myeloperoxidase by anti-inflammatory drugs. *Biochemical Pharmacology*, 41(10), 1485-1492.
- Khan, F., Khan, T. J., Kalamegam, G., Pushparaj, P. N., Chaudhary, A., Abuzenadah, A., Al-Qahtani, M. (2017). Anti-cancer effects of Ajwa dates (*Phoenix dactylifera* L.) in diethylnitrosamine induced hepatocellular carcinoma in Wistar rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1-10.
- Klangprapan, S., Chaiyarit, P., Hormdee, D., Kampichai, A., Khampitak, T., Daduang, J., Tavichakorntrakool, R., Panijpan, B., & Boonsiri, P. (2016). Salivary myeloperoxidase, assessed by 3,3'-diaminobenzidine colorimetry, can differentiate periodontal patients from nonperiodontal subjects. *Enzyme Research*, 2016, 7517928.
- Klebanoff S. J. (1968). Myeloperoxidase-halide-hydrogen peroxide antibacterial system. *Journal of bacteriology*, 95(6), 2131–2138.
- Klebanoff S. J. (2005). Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology*, 77(5), 598–625.
- Koizumi, H., Tomizawa, K., Tanaka, H., Kumakiri, M., & Ohkawara, A. (1993). Clinical significance of serum adenosine deaminase activity in patients with mycosis fungoides. *The Journal of Dermatology*, 20(7), 394–399.
- Kurtulmuş A., Fafal T., Mert T.A., Saglam H., Kivcak B., Ozturk T., Demirci B., Baser K.H.C. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of three anthemis species from Turkey. *Chemistry Of Natural Compounds*, 45, 900-904.

- Lal, H., Munjal, S. K., Wig, U., Saini, A. S. (1987). Serum enzymes in head and neck cancer III. *The Journal of Laryngology & Otology*, 101(10), 1062-1065.
- Liccioni, A., Reig, M., & Bruix, J. (2014). Treatment of hepatocellular carcinoma. *Digestive Diseases (Basel, Switzerland)*, 32(5), 554–563.
- Lichtman, A. H., Abbas, A. K. (1997). T-cell subsets: recruiting the right kind of help. *Current Biology : CB*, 7(4), 242–244.
- Liu, Z., Liu, X., Liang, J., Liu, Y., Hou, X., Zhang, M., Li, Y., Jiang, X. (2021). Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: current status and future prospects. *Frontiers in Immunology*, 12, 765101.
- Lluis, C., Franco, R., Cordero, O., Thompson, L. F., Resta, R. (1998). Ecto-ADA in the development of the immune system. *Immunology Today*, 19(11), 533.
- Malissen B. (2003). An evolutionary and structural perspective on T cell antigen receptor function. *Immunological Reviews*, 191, 7–27.
- Marklund S. L. (1990). Analysis of extracellular superoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. *Methods in Enzymology*, 186, 260–265.
- Marshall, P. J., Lands, W. E. M. (1986). In vitro formation of activators for prostaglandin synthesis by neutrophils and macrophages from humans and guinea pigs. *The Journal of Laboratory And Clinical Medicine*, 108(6), 525-534.
- Maruyama, Y., Lindholm, B., Stenvinkel, P. (2004). Inflammation and oxidative stress in ESRD--the role of myeloperoxidase. *Journal Of Nephrology*, 17(8), 72–76.
- Mathai, A. M., Kapadia, M. J., Alexander, J., Kernochan, L. E., Swanson, P. E., Yeh, M. M. (2012). Role of foxp3-positive tumor-infiltrating lymphocytes in the histologic features and clinical outcomes of hepatocellular carcinoma. *American Journal of Surgical Pathology*, 36(7), 980-986.
- Medenica, R., Mukerjee, S., Huschart, T., Koffskey, J., Corbitt, W. (1993). *Nigella sativa* bitkisi ekstraktı insanlarda bağışıklık sistemi yetkin hücrelerin sayısını ve aktivitesini artırır. *Uzman Hematol*, 21, 1186.
- Montalto, G., Cervello, M., Giannitrapani, L., Dantona, F., Terranova, A., Castagnetta, L. A. (2002). Epidemiology, risk factors, and natural history of hepatocellular carcinoma. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 963, 13–20.
- Morad, S. A. F., Davis, T. S., Kester, M., Loughran, T. P., Cabot, M. C. (2015). Dynamics of ceramide generation and metabolism in response to fenretinide – Diversity within and among leukemia. *Leukemia Research*, 39(10), 1071-1078.
- Moreira, A. J., Ordoñez, R., Cerski, C. T., Picada, J. N., García-Palomo, A., Marroni, N. P., Mauriz, J. L., González-Gallego, J. (2015). Melatonin activates endoplasmic reticulum stress and apoptosis in rats with diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis. *Plos One*, 10(12), e0144517.
- Morisaki, T., Fujii, H., Miwa, S. (1985). Adenosine deaminase (ADA) in leukemia: Clinical value of plasma ADA activity and characterization of leukemic cell ADA. *American Journal of Hematology*, 19(1), 37-45.
- Carranza, F. A., Newman, M. G., Takei, H. H., Klokkevold, P. R. (2006). **Carranza's clinical periodontology**. Saunders Elsevier.
- Onat, O. E., Tez, M., Özçelik, T., Törüner, G. A. (2006). MDM2 T309G polymorphism is associated with bladder cancer. *Anticancer Research*, 26(5A), 3473–3475.
- Onodera, M., Ariga, T., Kawamura, N., Kobayashi, I., Ohtsu, M., Yamada, M., Sakiyama, Y. (1998). Successful peripheral t-lymphocyte-directed gene transfer for a patient with severe combined immune deficiency caused by adenosine deaminase deficiency. *Blood*, 91(1), 30-36.

- Özçelik, H., (1989). Van ve yöresinde süt mamüllerinin hazırlanmasında yararlanılan bitkilerin kullanılışları üzerine bir araştırma. *Tübitak Doğa Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi* 13(2), 356-360.
- Özok, N., Çelik, İ. (2019). Sıçanlarda ıhlamur (*Tilia platyphyllos scop*) infüzyonunun immün sistem üzerine etkilerinin araştırılması. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(3), 852-858.
- Öztürk, M., Özçelik, H. (1991). **Doğu Anadolu'nun faydalı bitkileri (Useful plants of East Anatolia)**, SİSKAV (Siirt, ilim, spor, kültür ve araştırma vakfı). Ankara, Türkiye.
- Özyurt, H. , Özyurt, B. , Söğüt, S. , Şahin, Ş. , Temel, İ. Akyol, Ö. (2007). Bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisinde pürin katabolizması enzim aktiviteleri üzerine CAPE'nin etkisi . *Fırat Tıp Dergisi* , 12 (3) , 168-172 .
- Palmer E. (2003). Negative selection--clearing out the bad apples from the T-cell repertoire. *Nature Reviews. Immunology*, 3(5), 383–391
- Park, E. J., Lee, J. H., Yu, G. Y., He, G., Ali, S. R., Holzer, R. G., Osterreicher, C. H., Takahashi, H., Karin, M. (2010). Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression. *Cell*, 140(2), 197–208.
- Paul, S., Lal, G. (2017). The molecular mechanism of natural killer cells function and its importance in cancer immunotherapy. *Frontiers in Immunology*,(8), 1124.
- Paula Santos, N., Colaço, A., Gil da Costa, R. M., Manuel Oliveira, M., Peixoto, F., Alexandra Oliveira, P. (2014). N-diethylnitrosamine mouse hepatotoxicity: time-related effects on histology and oxidative stress. *Experimental and Toxicologic Pathology : Official Journal of the Gesellschaft für Toxikologische Pathologie*, 66(9-10), 429–436.
- Petrick, J. L., Braunlin, M., Laversanne, M., Valery, P. C., Bray, F., McGlynn, K. A. (2016). International trends in liver cancer incidence, overall and by histologic subtype, 1978-2007. *International Journal of Cancer*, 139(7), 1534–1545.
- Pourfarzad, A., Habibi Najafi, M. B., Haddad Khodaparast, M. H., Hassanzadeh Khayyat, M., & Malekpour, A. (2014). Fractionation of *Eremurus spectabilis* fructans by ethanol: Box-Behnken design and principal component analysis. *Carbohydrate Polymers*, 106, 374–383.
- Rainis, T., Maor, I., Lanir, A., Shnizer, S., Lavy, A. (2007). Enhanced oxidative stress and leucocyte activation in neoplastic tissues of the colon. *Digestive Diseases and Sciences*, 52(2), 526-530.
- Rajewsky, M. F., Dauber, W., Frankenberg, H. (1966). Liver carcinogenesis by diethylnitrosamine in the rat. *Science*, 152, 83–85.
- Rostkowska, K. Z. K. A., Zwierz, K., Rozanski, A., Moniuszko-Jakoniuk, J., & Roszczenko, A. (1998). " Formation and Metabolism of N-Nitrosamines. *Polish Journal of Environmental Studies*, 7, 321-326.
- Salguero Palacios, R., Roderfeld, M., Hemmann, S., Rath, T., Atanasova, S., Tschuschner, A., Gressner, O. A., Weiskirchen, R., Graf, J., Roeb, E. (2008). Activation of hepatic stellate cells is associated with cytokine expression in thioacetamide-induced hepatic fibrosis in mice. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods And Pathology*, 88(11), 1192–1203.

- Salimi, A., Saboji, M., Seydi, E. (2021). Synergistic effects of ellagic acid and sorafenib on hepatocytes and mitochondria isolated from a hepatocellular carcinoma rat model. *Nutrition and Cancer*, 73(11-12), 2460–2468.
- Salomon, B., Bluestone, J. A. (2001). Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annual Review of Immunology*, 19, 225–252.
- Scanlan, R. A. (2000). Nitrosamines and cancer. *The Linus Pauling Institute Newsletter*.
- Senesi, S., Batoni, G., Bianchi, F., Freer, G., Dolfi, A., Campa, M., Lupetti, M. (1990). Questioning the role of adenosine deaminase in the development of B lymphocytes in chicken bursa. *Developmental and Comparative Immunology*, 14(1), 95–104.
- Sideras, K., Galjart, B., Vasaturo, A., Pedroza-Gonzalez, A., Biermann, K., Mancham, S., Nigg, A. L., Hansen, B. E., Stoop, H. A., Zhou, G., Verhoef, C., Sleijfer, S., Sprengers, D., Kwekkeboom, J., Bruno, M. J. (2018). Prognostic value of intratumoral CD8⁺/FoxP3⁺ lymphocyte ratio in patients with resected colorectal cancer liver metastasis. *Journal of Surgical Oncology*, 118(1), 68–76.
- Silva, M. T., Correia-Neves, M. (2012). Neutrophils and macrophages: the main partners of phagocyte cell systems. *Frontiers in Immunology*, (3), 174.
- Stancíková, M., Lukác, J., Istok, R., Cristalli, G., Rovensky, J. (1998). Serum adenosine deaminase activity and its isoenzyme pattern in patients with systemic lupus erythematosus. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 16(5), 583–586.
- Sufrin, G., Tritsch, G. L., Mittelman, A., Murphy, G. P. (1978). Adenosine deaminase activity in patients with carcinoma of the bladder. *The Journal of Urology*, 119(3), 343–346.
- Suh, J. K., Lee, J., Lee, J. H., Shin, S., Tchoe, H. J., Kwon, J. W. (2018). Risk factors for developing liver cancer in people with and without liver disease. *PLoS ONE*, 13(10).
- Sun, J. H., Luo, Q., Liu, L. L., Song, G. Bin. (2016). Liver cancer stem cell markers: Progression and therapeutic implications. *World Journal of Gastroenterology*, 22(13), 3547.
- Tolba, R., Kraus, T., Liedtke, C., Schwarz, M., Weiskirchen, R. (2015). Diethylnitrosamine (DEN)-induced carcinogenic liver injury in mice. *Laboratory Animals*, 49(1), 59–69.
- Tosun, M., Ercisli, S., Ozer, H., Turan, M., Polat, T., Ozturk, E., ... & Kilicgun, H. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of foxtail lily (*Eremurus spectabilis*). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 11(3), 145-153.
- Tuncer AM, Özgül N, Olcayto E, Gültekin M. (2009). **Türkiye’de kanser kontrolü. T.C Sağlık Bakanlığı Kanserele Savaş Dairesi Başkanlığı**, Ankara. 35-51.
- Tuncer, B. (2018). Van ilinde sebze olarak tüketilen yabani bitkilerin tespiti. **3. Uluslararası Mühendislik Teknolojileri Konferansı Uygulamalı Bilimler**, Üsküp, Makedonya, 17-21.
- Tuncer, İ., Burgut, H. R., Bozdemir, N., Çoşar, E. F., (1994). **Türkiyede kanser sıklığı**. Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Tuo, J., Liu, L., Poulsen, H. E., Weimann, A., Svendsen, O., Loft, S. (2000). Importance of guanine nitration and hydroxylation in DNA in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, 29(2), 147–155.
- Tuzlacı, E. (1985). Türkiye’de bitkilerin yöresel kullanışları (I). *Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1 (1- 2), 101-106.

- Tuzlacı, E. (1987). Türkiye' nin çiriş otları (II): Asphodeline, Asphodelus, Eremurus ve Anthericum cinsleri üzerinde morfolojik karşılaştırmalar *Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 3(1), 19-26.
- Tuzlacı, E., Doğan, A. (2010). Turkish folk medicinal plants, IX: Ovac. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 14(3), 136-143.
- Uchida, N. S., Silva-Filho, S. E., Cardia, G. F. E., Cremer, E., Silva-Comar, F. M. S., Silva, E. L., Bersani-Amado, C. A., Cuman, R. K. N. (2017). Hepatoprotective effect of citral on acetaminophen-induced liver toxicity in mice. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 1796209.
- Ünver Alçay, A. , Akgül, C. , Badayman, M. Dinçel, E. (2018). Ardiç meyve ve yağının kullanım alanları . *Aydın Gastronomy* , 2 (2) , 45-60 .
- Varolgüneş, H. , İnan, A. , Kaptanoğlu, E. Demirci, S. (1997). Primer ve metastatik karaciğer tümörlerinde tedavi yöntemleri . *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* , 50 (4).
- Vesselinovitch, S. D., Mihailovich, N. (1983). Kinetics of diethylnitrosamine hepatocarcinogenesis in the infant mouse. *Cancer Research*, 43(9), 4253–4259.
- Vizzotto, G. (2018). Effect of flower pollination on fruit set and cropping in apple. *American Journal of Agriculture and Forestry*, 6(5), 156.
- Vuran, N. (2021). *Ratlarda dietilnitrozamin ile oluşturulan hepatosellüler karsinom modelinde Malus sylvestris L. (yabani elma) ekstraktlarının antitümör etkilerinin araştırılması*. Doktora Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Wang, L., Song, X., Song, L. (2018). The oyster immunity. *Developmental and Comparative Immunology*, 80, 99–118.
- Witkowski, M., Spangenberg, H. C., Neumann-Haefelin, C., Büttner, N., Breous, E., Kersting, N., Drognitz, O., Hopt, U. T., Blum, H. E., Semmo, N., Thimme, R. (2011). Lack of ex vivo peripheral and intrahepatic α -fetoprotein-specific CD4+ responses in hepatocellular carcinoma. *International Journal of Cancer*, 129(9), 2171–2182.
- Wu, Z. F., Zhou, X. H., Hu, Y. W., Zhou, L. Y., Gao, Y. B., Peng, X. H., Yang, X. H., Zhang, J. Y., Hu, Y., Zeng, Z. C. (2014). TLR4-dependant immune response, but not hepatitis B virus reactivation, is important in radiation-induced liver disease of liver cancer radiotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy : CII*, 63(3), 235–245.
- Xu, X. L., Xing, B. C., Han, H. B., Zhao, W., Hu, M. H., Xu, Z. L., Zhang, Z. Q. (2010). The properties of tumor-initiating cells from a hepatocellular carcinoma patient's primary and recurrent tumor. *Carcinogenesis*, 31(2), 167-174.
- Xu, X., Jin, Z., Liu, Y., Gong, H., Sun, Q., Zhang, W., Zhao, L. (2019). Carbohydrate-based adjuvants activate tumor-specific Th1 and CD8⁺ T-cell responses and reduce the immunosuppressive activity of MDSCs. *Cancer Letters*, 440-441, 94–105.
- Yamamoto, K., Miyoshi-Koshio, T., Utsuki, Y., Mizuno, S., Suzuki, K. (1991). Virucidal activity and viral protein modification by myeloperoxidase: a candidate for defense factor of human polymorphonuclear leukocytes against influenza virus infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 164(1), 8–14.
- Yamashita, T., Kaneko, S. (2016). Rinsho byori. *The Japanese Journal of Clinical Pathology*, 64(7), 787–796.
- Yarchoan, M., Xing, D., Luan, L., Xu, H., Sharma, R. B., Popovic, A., Pawlik, T. M., Kim, A. K., Zhu, Q., Jaffee, E. M., Taube, J. M., Anders, R. A. (2017). Characteri-

- zation of the immune microenvironment in hepatocellular carcinoma. *Clinical Cancer Research : an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 23(23), 7333–7339.
- Yıldırım, E., Dursun, A., Turan, M. (2001). Yukarı Çoruh vadisinde sebze olarak kullanılan yabancı bitkilerin besin içeriklerinin belirlenmesi. *Türk Botanik Dergisi* : 25(6),367-371.
- Yoneyama, Y., Suzuki, S., Sawa, R., Otsubo, Y., Miura, A., Kuwabara, Y., Araki, T. (2003). Serum adenosine deaminase activity and its isoenzyme pattern in women with normal pregnancies. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 267(4), 205-207.
- Yuseff, M. I., Pierobon, P., Reversat, A., Lennon-Duménil, A. M. (2013). How B cells capture, process and present antigens: a crucial role for cell polarity. *Nature Reviews Immunology*,13(7), 475-486.
- Zhao, Y., Ge, X., He, J., Cheng, Y., Wang, Z., Wang, J., Sun, L. (2019). The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer differs by anatomical subsite: a systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgical Oncology*, 17(1), 85.
- Zhou, Y., Li, Y., Zhou, T., Zheng, J., Li, S., Li, H. B. (2016). Dietary natural products for prevention and treatment of liver cancer. *Nutrients*, 8(3), 156.
- Zhu, J., Paul, W. E. (2010).Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors. *Immunological Reviews*, 238(1), 247-262.



ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Dilara GENÇ

Eğitim Bilgileri

Lisans :

Üniversite : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Fakülte : Fen Fakültesi

Bölüm : Moleküler Biyoloji ve Genetik

Mezuniyet Yılı : 2020







VAN YÜHADYEK
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ

VAN YUZUNCUYILUNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı	Ratlarda Deneysel Olarak Dietilnitrozamin İle İndüklenen Hepatosellüler Karsinogenezis Sürecinde <i>Eremurus Spectabilis</i> M. Bieb. (Çiriş Otu) Bitki Ekstrelerinin Hücresel ve Enzimatik Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması	
Research Title	<i>Investigation of Cellular and Enzymatic Immune System efficacy of Eremurus spectabilis M. Bieb. plant extracts during hepatocellular carcinogenesis induced by diethylnitrosamine experimentally in rats.</i>	
Araştırmacı(lar) Investigator(s)	Yürütücü / Chief investigator:	Prof. Dr. İsmail ÇELİK
	Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s):	Yüksek Lisansiyer Dilara GENÇ
Araştırmanın Başlama Tarihi / Research Starting Date:	15.11.2022	
Araştırmanın Bitiş Tarihi / Research Completion Date:	12.04.2023	
Proje Süresi / Total Time of Project:	24 ay	
Proje No / Project Number:	FYL-2022-9912	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / Funding institution(s) (if available):	VYYÜ BAP	
Destek Şekli ve Miktarı / Type and amount of funding:	19.770,78 TL	
Karar:	Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 01/06/2023 tarih ve 2023/07-22 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.	
Decision:	Final report of the research project detailed above was approved by Van Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 01/06/2023 (decision number 2023/07-22)	
	BAŞKAN/CHAIR	
	Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE/Member	ÜYE/Member	ÜYE/Member
Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	Prof. Dr. Sıddık KESKİN	Prof. Dr. Nalan ÖZDAL
ÜYE	ÜYE/Member	ÜYE/Member
Prof. Dr. Atilla DÜRMÜŞ	Prof. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN	Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ
ÜYE/Member	ÜYE/Member	ÜYE/Member
Doç. Dr. Canset Nilmaz DEMİR	Doç. Dr. Abdülhak DOĞAN	Dr. Öğr. Üyesi Dicle ALTINDAL
ÜYE/Member	ÜYE/Member	ÜYE/Member
Doç. Dr. Şükrü ÖNALAN	Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU



VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih. 17/08/2023

Tez başlığı: Ratlarda Deneysel Olarak Dietilnitrozamin İle İndüklenen Hepatosellüler Karsinogenezis Sürecinde Eremurus Spectabilis M Bieb. (Çiriş Otu) Bitki Ekstrelerinin Hücresel Ve Enzimatik Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması"

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın, kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç bölümlerinden oluşan toplam 54 (ellidört) sayfalık kısmına ilişkin, 17/08/2023 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı % 6 (altı) dır.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

17.08.2023

Adı soyadı: Dilara GENÇ

Öğrenci no: 20910001133

Anabilim dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD

Programı: Moleküler Biyokimya

Statüsü: Yüksek lisans Doktora

DANIŞMAN (Prof. Dr. İsmail ÇELİK)

ENSTİTÜ ONAYI

UYGUNDUR

UYGUNDUR

