T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

MEYAN KÖKÜNÜN SIÇANLARDA İDRAR SÖKTÜRÜCÜ VE LAKSATİF ETKİLERİNİ ARAŞTIRMAYA YÖNELİK DENEYSEL ÇALIŞMA

Ecz. Saliha SARAÇOĞLU

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Cemil GÖÇMEN

ADANA-2022

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

MEYAN KÖKÜNÜN SIÇANLARDA İDRAR SÖKTÜRÜCÜ VE LAKSATİF ETKİLERİNİ ARAŞTIRMAYA YÖNELİK DENEYSEL ÇALIŞMA

Ecz. Saliha SARAÇOĞLU

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Cemil GÖÇMEN

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TYL-2019-11714 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ADANA-2022

KABUL VE ONAY

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca kıymetli bilgi ve tecrübelerini paylaşarak her konuda bana destek olan ve her zaman öğrencisi olmaktan onur duyduğum danışman hocam sayın Prof. Dr. Cemil GÖÇMEN'e, destek ve emekleri için Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK'e ve bu süreçte her zaman yanımda olup desteğini esirgemeyen sayın Doç. Dr. H. Sinem BÜYÜKNACAR'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında çokça desteklerini gördüğüm Arş. Gör. Özge ÖZTÜRK ÇİMENTEPE ve eşi Arş. Gör. Mehmet ÇİMENTEPE'ye, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezine, projemize destek sağlayan (TYL-2019-11714) Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini her koşulda yanımda hissettiğim sevgili aileme de en içten duygularımla teşekkür ederim.

Saliha SARAÇOĞLU

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
ÇİZELGELER DİZİNİ viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ ix
ÖZET x
ABSTRACT xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Meyan 3
2.1.1. Tarihçesi 3
2.1.2. Glycyrrhiza glabra L. Türünün Genel Özellikleri 4
2.1.3. Bilimsel Sınıflandırması 5
2.1.4. Kayıtlı Olduğu Farmakopeler 5
2.1.5. Kimyasal Yapısı 6
2.1.6. Halk İlacı Olarak Kullanımı 6
2.1.7. Farmakolojik Etkileri 7
2.2. Düz Kas Çeşitleri ve Fizyolojisi 8
2.3. Mesane 9
2.3.1. Mesane Anatomisi 9
2.3.2. Mesane İnervasyonu 10
2.4. İleum ve İnnervasyonu 11
2.5. Laksatif Etki 11
2.6. Diüretik Etki 11

3. GEREÇ ve YÖNTEM 12
3.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Protokolü 12
3.2. Meyan Kökü Şerbetinin Hazırlanışı 14
3.3. İn vitro İzole Mesane Strip Çalışması 15
3.4. İn vitro İzole İleum Strip Çalışması 15
3.5. İdrar Analizleri 16
3.6. Biyokimyasal Analizler 16
3.7. Patolojik İnceleme 17
3.8. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz 17
4. BULGULAR 18
4.1. Canlı Ağırlık Değişimi Bulguları 18
4.2. Açlık Kan Glikozu Bulguları 19
4.3. İdrar Miktarları ve İdrar Analizi 20
4.4. Histopatolojik Bulgular 22
4.5. Biyokimyasal Bulgular 27
4.6. Sıçan Mesane Dokusu Deney Sonuçları 28
4.7. Sıçan İleum Dokusu Deney Sonuçları 30
5. TARTIŞMA 33
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 37
KAYNAKLAR 39
ÖZGEÇMİŞ 41

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 1.	Glycyrrhiza glabra (Meyan)	4
Şekil 2.	Glycyrrhiza glabra (Meyan)	4
Şekil 3.	Aktif bileşenlerinin kimyasal yapısı	6
Şekil 4.	Mesane Anatomisi	9
Şekil 5.	Çalışmada kullanılan metabolik kafes görüntüleri ve bölümleri	13
Şekil 6.	Deney hayvanlar merkezinde her bir metabolik kafes içinde deney protokolüne alınan deney hayvanlarının durumu.	14
Şekil 7.	Deney başlangıç ve bitiş sıçan ağırlık ölçümleri	18
Şekil 8.	Sıçan kontrol ve meyan açlık kan glikozu ölçümü	19
Şekil 9.	7.Gün ölçülen sıvı tüketimi ve çıkarılan idrar miktarlarının karşılaştırılması	20
Şekil 10.	7 günlük içilen sıvı-çıkarılan idrar miktarları ortalamaları	21
Şekil 11.	Kontrol grubunda santral ven ve portal alan içeren sıçan karaciğer dokusu (H&E:x100)	23
Şekil 12.	Meyan şerbeti verilen grupta sıçan Karaciğer parankiminde tek hücre nekrozu alanlar ve bu alanlarda inflamatuvar hücre odakları görülmüştür. (H&E:x100)	24
Şekil 13.	Meyan şerbeti verilen grupta sıçan karaciğer dokusu portal alanda mononükleerden zengin inflamasyon odakları görülmüştür. (H&E:x100)	25
Şekil 14.	Meyan şerbeti verilen grupta sıçan karaciğer dokusunda hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu görülmüştür. (H&E:x100)	26
Şekil 15.	Her iki grupta yedinci günde alınan kan örneklerinde ELİZA yöntemi ile analiz sonucu elde edilen ALT ve AST değerleri	27
Şekil 16.	Her iki grupta yedinci günde alınan kan örneklerinde ELİZA yöntemi ile analiz sonucu elde edilen Kreatinin değerleri	27
Şekil 17.	Her iki grupta yedi günlük periyodun sonunda yedinci günde öldürülen sıçanların izole mesane dokusunda, ESS (train stimülasyon 10 Hz, 50 V, .0.5 ms) ile oluşturulan nörojenik kasılmalar üzerinde meyan şerbetinin etkisi grafize edilmiştir (Kasılma boyları; Her kolon her bir deneyin sonunda verilen 100 mM KCl ile oluşturulan kasılmanın % 'sini ifade etmektedir., * kontrole göre anlamlılığı ifade etmektedir. P value <0,005) Kasılma boyları ölçümü için deneylerde train stimulasyonun uzun süre uygulanmasından dolayı standart hesaplamayı sağlamak için her bir deneyde her bir deneyin 15. ve 30 dakikalarında oluşan kasılma boyları baz alınmıştır. (n=10)	28
Şekil 18.	Her iki grupta yedi günlük periyodun sonunda yedinci günde öldürülen sıçanların izole mesane dokusunda, ESS (train stimülasyon 10 Hz, 50 V, .0.5 ms) ile oluşturulan nörojenik kasılmalar üzerinde meyan şerbetinin etkisi grafize edilmiştir. Her kolon 15. Ve 30 dakikalarda ölçülen kasılmaların eğri altındaki alanların ortalamasını göstermektedir. * kontrole göre anlamlılığı ifade etmektedir. P value < 0,005 N= 10).	29

Şekil 19. Her iki grupta yedinci gün öldürülen sıçanların izole ileum dokularınında meyan şerbetinin leum dokusunun spontan kasılmaları üzerindeki etkisi grafize edilmiştir. (Her kolon her bir deneyde 35. ve 60. Dakikalarda elde edilen spontan kasılma boylarının ortalama kasılma boyunu göstermektedir. n= 10) 30

Şekil 20. Her iki grupta yedinci gün öldürülen sıçanların izole ileum dokularınında meyan şerbetinin ileum dokusunun spontan kasılmaları üzerindeki etkisi grafize edilmiştir. (Her kolon her bir deneyde 35. ve 60. Dakikalarda elde edilen spontan kasılmalarının eğri altındaki alanlarını ifade etmektedir. (n= 10) 31

Şekil 21. Her iki grupta yedinci gün öldürülen sıçanların izole ileum dokularında meyan şerbetinin ileum dokusunun spontan kasılmalarının sayıları üzerindeki etkisi grafize edilmiştir. (Her kolon her bir deneyde 30-35. İle 55.-60.dk. arasındaki 5 er dakikalık süre içerisinde ölçülen spontan kasılma sayısını ifade etmektedir. (n= 10). 32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1. Kontrol grubu ve Meyan şerbeti verilen deney hayvanlarında yedinci gün alınan idrar örneklerinde idrar kiti çubukları (laboquick idrar stribi) ile yapılan analizlerin sonuçları. 22

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ALT:	Alanin aminotransferaz
AST:	Aspartat transaminaz
MÖ:	Milattan önce
GA:	Glisirizik asit
HIV:	Human Immunodeficiency Virus / İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
SARS:	Ağır akut solunum yolu yetersizliği sendromu
TZ:	Trombin zamanı
ATP:	Adenozin Trifosfat
DETAUM:	Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi
EAA:	Eğri altındaki alan
Cr:	Kreatinin
ESS:	Elektriksel Saha Stimülasyonu

ÖZET

Meyan Kökünün Sıçanlarda İdrar Söktürücü ve Laksatif Etkilerini Araştırmaya Yönelik Deneysel Çalışma

Meyan kökü (Radix Liquiritae), halk arasında, idrar arttırıcı, karaciğer koruyucu ve laksatif olarak kullanılır. Bu çalışmada geleneksel yöntemlerle hazırlanmış meyan kökü şerbetinin gerçekte diüretik ve laksatif etkilerinin olup olmadığı deneysel yöntemlerle sıçanlar üzerinde araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla her iki cinsten wistar albino sıçanlar her grupta 10 ar sıçan olmak üzere 2 grup birer hayvan olarak metabolik kafeslerde 7 günlük bir protokol süresince tutulmuştur. 1. gruba (kontrol grubu) sadece çeşme suyu verilmiştir; 2. gruba (meyan grubu) ise meyan kökü şerbeti verilmiştir. Her bir sıçanın aldığı sıvı ve çıkardığı idrar miktarları günlük takip edilmiştir. Bu protokolün sonunda hayvanlar izole mesane ve ileum doku çalışmaları için anestezi altında öldürülmüştür. Kan ve karaciğer doku örnekleri alınmıştır. Her gün alınan idrarda protein pH, glukoz ve özgül ağırlık bakılmıştır. İzole mesane ve ileum dokularının Krebs solüsyonu içinde kasılma aktiviteleri izometrik transduserler ile bir data veri toplama sistemi aracılığıyla bilgisayara aktarılmıştır. Meyan şerbeti bir diüretik etkiye neden olmamıştır. İdrar glukozu, proteini, pH ve özgül ağırlığı anlamlı olarak etkilememiştir. Kreatinin normal sınırlarda olup meyan kökü şerbeti karaciğerde patolojik değişikliklere neden olmuş, ALT VE AST'yi yükseltmiştir. Meyan kökü şerbeti izole mesane nörojenik kasılmalarını belirgin olarak arttırmıştır.

İzole ileum dokularının spontan kasılma aktivitesi üzerinde meyan kökü şerbeti anlamlı bir etki oluşturmamıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada meyan şerbeti sıçanlarda herhangi bir diüretik etkiye neden olmamıştır, böbrek fonksiyonlarını etkilememiştir. Ancak karaciğer dokusunda belirgin patolojik değişikliklere neden olmuştur. ALT VE AST'yi yükseltmiştir. Meyan kökü şerbetinin laksatif etkisi için izole kolon dokularında ve mesanedeki belirgin nörojenik kasılmaların artışı için daha ileri çalışmalara gerek vardır.

Anahtar Sözcükler: **Radix Liquiritae, İleum, Mesane, Metabolik Kafes**

ABSTRACT

Experimental Study on Investigation of Urinary and Laxative Effects of Radix Liquiritaes in Rats

Licorice root (Radix Liquiritae) is popularly used as a diuretic, liver protector and laxative. In this study, it was aimed to investigate whether licorice syrup prepared by traditional methods actually had diuretic and laxative effects on rats with experimental methods. For this purpose, wistar albino rats of both sexes were kept in metabolic cages as 2 groups, 10 rats in each group, and as one animal for a 7-day protocol. 1. Only tap water was given to the group (control group); The second group (Licorice group) was given licorice sherbet. The fluid intake and urine output of each rat were followed daily. At the end of this protocol, the animals were sacrificed under anesthesia for isolated bladder and ileum tissue studies. Blood and liver tissue samples were taken. Protein, pH, glucose and specific gravity were measured in the urine taken every day. Contractile activities of isolated bladder and ileum tissues in Krebs solution were transferred to the computer by means of a data acquisition system with isometric transducers. Licorice sorbet did not cause a diuretic effect. Urine glucose, protein, pH and specific gravity were not significantly affected creatinine was within normal limits, licorice syrup caused pathological changes in the liver and increased ALT and AST. Licorice sherbet significantly increased isolated bladder neurogenic contractions.

Licorice syrup did not have a significant effect on the spontaneous contractile activity of isolated ileum tissues.

In conclusion, in this study, licorice sorbet did not cause any uretic effect in rats and did not affect kidney functions. However, it caused significant pathological changes in liver tissue. It increased ALT and AST. For the laxative effect of licorice syrup, further studies are needed to increase the pronounced neurogenic contractions in isolated colon tissues and bladder.

Key words: **Radix Liquiritae, Ileum, Bladder, Metabolic cages**

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Glycyrrhiza L. cinsi Leguminosae (Fabaceae, Baklagiller) familyasından çok yıllık çalımsı bir bitki olup dünya üzerinde geniş yayılış alanına sahiptir. Akdeniz, İran, Ön Asya, Rusya, Avrupa ve Ortadoğu'da doğal olarak yetişmektedir. M.Ö. 500 lü yıllardan beri çeşitli tıbbi amaçlarla kullanılmakta olup bitkilerin "büyük babası" olarak tarif edilmiştir.[1]

Ülkemizde tamamen doğal yayılış gösteren Glycyrrhiza cinsine ait 6 tür ve bu türlerin birine ait 2 varyete yetişmektedir. Dünya tıbbi ve endüstriyel bitkileri arasında çok önemli bir yeri vardır.[1]

Birinci yüzyılda Anadolu'da yaşamış tıp hekimi ve farmakolog Dioscorides, kitabında bu bitkiden tatlı (glukos) kök (riza) olarak söz ettiğinden, bu cinse "Glycyrrhiza" adı verilmiştir. Kökün tatlı içeriği glisirrizik (glisirrizinik) asitten gelir. Triterpenik saponin türevi olan bu madde, sakkarozdan 50 kat daha tatlıdır. Çukurova bölgesinde, kökün suyla kaynatılması sonucu elde edilen yöresel adıyla haşlama denilen meyan şerbeti, yöre insanının özellikle yaz aylarında çokça içtiği bir içecektir.[2]

Meyan şerbetinin başlıca göğüs yumuşatıcı, balgam söktürücü ve öksürük kesici özellikleri olduğu bilinmektedir.[1] Meyan, halk ilacı olarak idrar söktürücü, böbrek taşlarını düşürücü etkisi için de kullanılmaktadır. Yumuşak bir müshil olup bağırsaklar üzerinde hafif bir etkisi olduğu söylenmektedir. Yöremizde özellikle idrar arttırıcı ve taş düşürücü etkileri nedeniyle çok kullanılan bu bitkinin laksatif etkileri de olduğu ileri sürülmektedir. Literatür taramasında meyan kökünün idrar artırıcı etkisine ve laksatif etkilerine yönelik deney hayvanları üzerinde yapılmış bir bilimsel çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada meyan kökünün gerçekte idrar artırıcı ve laksatif etkilerinin sıçanlar üzerinde invitro farmakolojik yöntemlerle deneysel olarak anlamlı olup olmadığının ispatlanması amaçlanmıştır. Bazı literatürlerde Glycyrrhiza radix in karaciğerde üzerine etkisi olabileceği ileri sürülmüştür. [2] Meyan şerbeti dışardan verilecek bir bitkisel içecek olduğundan karaciğer gibi çok önemli bir organda herhangi bir patolojik değişikliğe

sebep olup olmayacağını da test etmek için, kullanılan deney hayvanlarının karaciğer enzimlerine ve karaciğer patolojilerine de bakılması planlanmıştır.

Diüretik ve laksatif amaçlı da kullanılan meyan kökünün muhtemel olumlu veya olumsuz etkilerinin bilimsel olarak gösterilmesi birçok çalışmaya öncülük edebilir, yeni ilaç gelişiminin önünü açabilir ve yaygın kullanımı bilimsel bulgularla doğru bir biçimde sağlanabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meyan

2.1.1. Tarihçesi

Tarihi kayıtlardan elde edilen bilgilere bakılacak olursa Glycyrrhiza köklerinin çeşitli tıbbi amaçlar için kullanımı çok eski çağlara dayanmaktadır. Eski Çin tababetinde bitkinin panzehir olarak kullanılan ilaçların içeriğinde bulunduğu kayıtlıdır.[3]

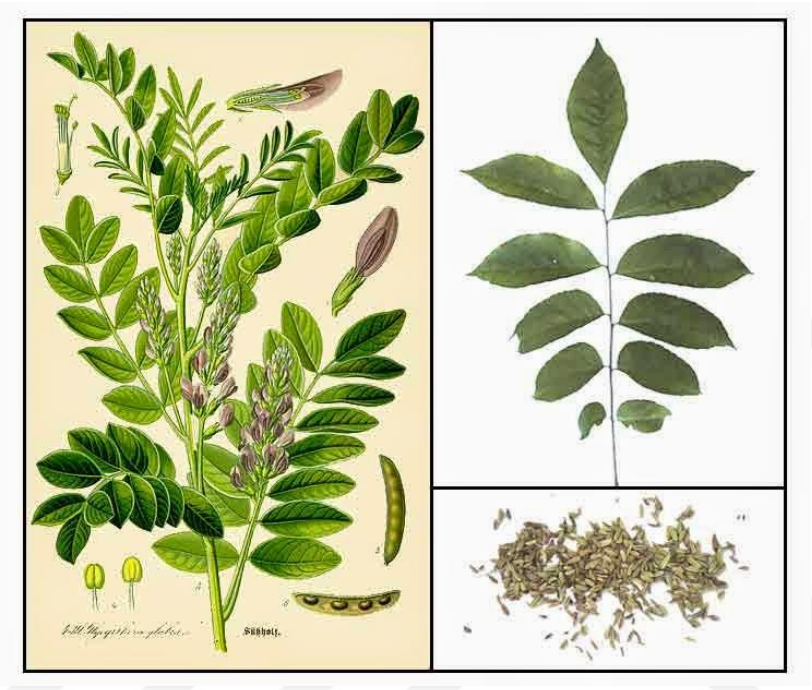
Eski Mısır medeniyetinde Meyan kökünün mide hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı, aynı zamanda insana canlılık ve zindelik veren, Maisus adı verilen bir içki yapıldığı hiyerogliflerden anlaşılmaktadır. M.Ö. 3.yüzyılda farmakognozinin babası olarak sayılan Theophrastus meyan köklerinin öksürük ve göğüs hastalıklarının tedavisinde etkili olduğunu belirtmiştir. Aristotales Meyan kökünü sıtma, astım, öksürük ve göğüs hastalıklarında kullanmıştır. Galen ise Meyan kökünden hazırlanan içkinin tatlı olmasına karşı susuzluğa sebep olmadığını, bunun yanında teskin edici özelliğinin de olduğunu bildirmiş ve tedavide kullandığı meyan kökünü Glycyrrhiza olarak adlandırmıştır.[3]

Meyanın birçok yararı anlaşıldıktan sonra, 16. yüzyıldan itibaren tarımla yetiştirilmesine önem verilmiştir. Bugün meyan bazı ülkeler için önemli bir gelir kaynağı halindedir. 18. yüzyılda George Dunkill adlı bir kimyager, Glycyrrhiza köklerine, tatlılığı veren maddeyi izole ederek bu maddenin şekerleme sanayiinde de kullanılabileceğini söylemiştir.[4]

Meyan kökü, askeri amaçlarla ilk kez Roma imparatoru Büyük İskender'in yaptığı seferlerde, askerlerin susuzluğunu gidermek için kullanılmıştır. Sultan III. Mehmet için hazırlanan "Terkib-i Şahi"nin içeriğinde bulunan 6 drogdan biridir. 1873 yılındaki bir kayda dayanarak hekimbaşının ilaç yapımında kullandığı droglar arasında, meyan kökünün de bulunduğu bilinmektedir.[5]

2.1.2. Glycyrrhiza glabra L. Türünün Genel Özellikleri

Glycyrrhiza glabra (meyan), Anadolu'da yaygın olarak yetişen, yüksekliği bazen 1-1,5 metreye ulaşsa da genel olarak boyu 30-60 cm olan çok yıllık, otsu bir bitkidir. Tüysü yapraklı olup yapraklar 5-9 yaprakçıktan oluşur ve bileşiktir.



Şekil 1. Glycyrrhiza glabra (Meyan) [6]

Yaprakların koltuğunda kümeler halinde bulunan mavimsi mor çiçekleri 5-15 cm uzunlukta ve seyrektir. Haziran- temmuz aylarında çiçek açarlar.[7]



Şekil 2. Glycyrrhiza glabra (Meyan) [8]

2.1.3. Bilimsel Sınıflandırması

Alem: Plantae (Bitkiler) Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)

Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)

Takım: Fabales

Familya: Fabaceae (Baklagiller)

Cins: Glycyrrhiza Tür: G. glabra

Latince Adı: Glycyrrhiza glabra L.

Türkçe Adı: Meyan

İngilizce Adı: Licorice

2.1.4. Kayıtlı Olduğu Farmakopeler

Afrika Farmakopesi

Amerikan Farmakopesi

Avrupa Farmakopesi

Çin Farmakopesi

Endonezya Farmakopesi

Escop Monografları

Hint Farmakopesi

İngiliz Farmakopesi

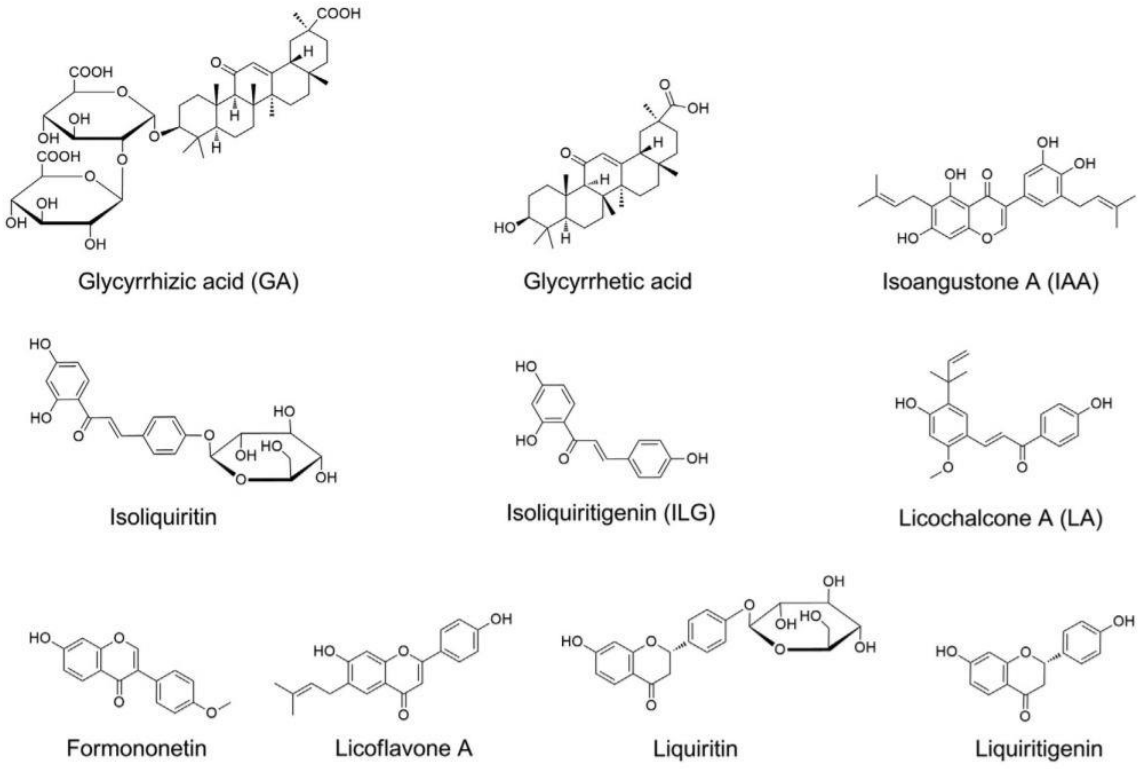
Japon Farmakopesi

Komisyon E Monografları

Macar Farmakopesi

2.1.5. Kimyasal Yapısı

Meyan'ın etken maddesi, şekerden 50 kat daha tatlı olan glycyrrhizin % 6-14 oranında bulunur. Şimdiye kadar meyandan 20'den fazla triterpenoid ve 300 flavonoid izole edilmiştir. Başlıca bileşenleri glisiretik asit, flavonoidler, izoflavonoidler, hidroksikoumarinler ve glukokortikoid ve mineralokortikoid aktivitesine sahip olabilen b-sitosteroid içeren sterollerdir. Meyan kökü, primer aktif bileşen olarak kabul edilen yaklaşık olarak %3- %18 18β -glisirizin ve 18β-glisirizik asitten (GA) oluşur. Glisirizin ağızdan alındığı zaman glisiretik asit haline dönüştürülür ve absorbe olur. Meyanın aktif bileşenleri Şekil 3'de gösterilmiştir.[9]



Şekil 3. Aktif bileşenlerinin kimyasal yapısı [9]

2.1.6. Halk İlacı Olarak Kullanımı

Glycyrrhiza glabra yaklaşık 4000 yıldır çeşitli tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Çin, Hindistan ve Yunanistan'daki tarihi el yazmaları meyan kökünün viral solunum yolu enfeksiyonları ve hepatit semptomları için kullanımından bahseder. Aynı zamanda adet

söktürücü, diüretik olarak ve astım, bronşit gibi hastalıklarda da kullanıldığı anlaşılmaktadır. İbn-i Sina, kronik ateş, göğüs ağrısı, soğuk algınlığı için meyan kökü dekoksiyonunu tavsiye etmiştir.[10] Glycyrrhiza glabra türü şu an ülkemizde soğuk algınlığı, öksürük kesici, göğüs yumuşatıcı, mukoza tahrişini önleyici olarak ve ülsere karşı kullanılmaktadır.[11]

2.1.7. Farmakolojik Etkileri

Daha önceki invitro çalışmalar meyan kökünün antitussif, balgam söktürücü ve demulsent (yatıştırıcı) etkilerini göstermektedir. Meyan kökünün ana bileşenlerinden olan glisirizinin öksürük, nezle ve boğaz ağrısına etkisi bronşiyal mukoza sekresyonunu hızlandırmasına bağlanabilir.[12]

Glycyrrhiza glabra ekstraktlarının ve glisirizik asidin invitro koşullarda antiviral etki mekanizmalarına sahip olduğu bilinir. Epstein-Barr, Human cytomegalovirus, HIV, Herpes simplex, Hepatit A, B ve C, Influenza, şiddetli akut solunum sendromu SARS coronavirüs ve Varicella zoster dahil olmak üzere çeşitli virüslerin çoğalmasına karşı etkisi araştırılmıştır. [13]

Glisirizin, ilk bitkisel bazlı trombin inhibitörü olarak kabul edilen ünlü anti-inflamatuar bir bileşendir. Trombin ve fibrinojen koagülasyon süresini uzatıp (TZ) ve in vitro plazma rekalsifikasyon süresini arttırmıştır. [14]

Meyan kökünün antimikrobiyal, hepatoprotektif, antidiyabetik, antibakteriyel, antioksidan ve endokrinolojik etkilerinin olduğu çeşitli invivo ve invitro çalışmalarda gösterilmiştir. Etnobotanikçiler, fitokimyacılar ve deneysel farmakologlar tarafından biyoaktiviteleri üzerine yapılan çeşitli çalışmalar, bu bitkinin yeni ilaçların kaynağı olabileceğini ve çeşitli hastalık ve rahatsızlıkların tedavisi için terapötik ajanların üretilebileceğini ortaya koymaktadır.[15]

2.2. Düz Kas Çeşitleri ve Fizyolojisi

Her organın düz kası, diğer organlardan çeşitli yönlerden ayırt edicidir: fiziksel boyutları, demet veya katlar halinde organizasyon, farklı tiplerdeki uyaranlara verdiği yanıt, inervasyon özellikleri ve işlev. Ancak, düz kas genel olarak iki temel tipe ayrılabilir: "çok birimli düz kas" ve "üniter (veya tek birimli) düz kas".

Çok birimli düz kas liflerinin en önemli özelliği, her lifin diğerlerinden bağımsız bir şekilde kasılabilmesi ve sinir sinyalleri ile kontrol edilmeleridir. Örneğin gözün siliyer kası, piloerektör kaslar gibi.

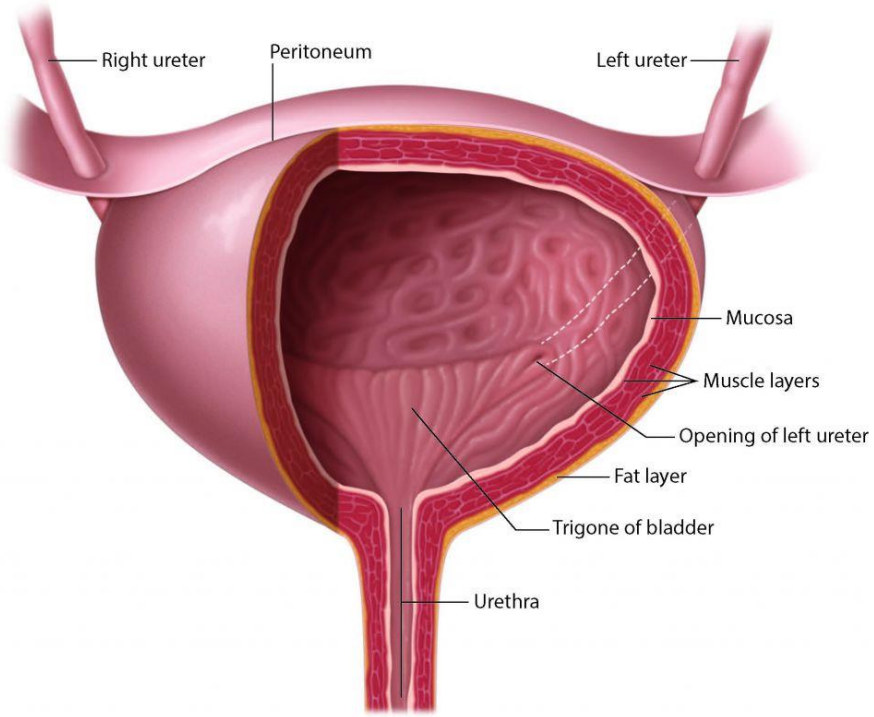
Üniter tek kas lifi anlamına gelmeyip tek bir birim gibi birlikte kasılan düz kas lifi kütlesi anlamına gelir. Elektriksel olarak birbirleriyle bağlantılıdır. Bir hücrenin elektriksel uyarılması komşu düz kas hücresinin uyarılmasını takip eder. Bu, peristaltizmde olduğu gibi, bir kasılma dalgasıyla sonuçlanır. Ayrıca, vücutta barsak, safra kanalları, üreterler, uterus ve kan damarları gibi birçok iç organın duvarında bu tip kas bulunduğundan, bunlara "viseral düz kas" da denir.

Bazı düz kas hücreleri ritmik ve aralıklı olarak kasılırlar (fazik düz kas) ve bunlar gastrointestinal ve ürogenital organların duvarlarındaki düz kasları içerir. Diğer yandan, belli bir tonus düzeyini sürekli korumak için aktif olan düz kaslar da "tonik düz kas" olarak adlandırılır. Damar düz kasları, solunum sistemindeki kaslar ve bazı sfinkterler tonik düz kaslara örnektir.

Düz kasın kendine özgü fizyolojik özellikleri vardır ve özel noktalarda birleşen birçok küçük iğsi hücreler içeren tabakalardan oluşur. Çizgili ve kalp kasında olduğu gibi aktin ve myozin içerir ve hücre içinde kalsiyum arttığı zaman kasılır. Kasılma cevabı kalp ve iskelet kaslarına göre daha yavaş ve uzun surelidir. Tek bir düz kas kasılması sıklıkla iskelet kasındaki gibi saniyenin onda veya yüzde biri gibi değil, saniyeler boyunca sürer. Bu düz kasın, kasılma sırasında ATP' yi yavaş hidrolize etmesi ile açıklanabilir. [16,17]

2.3. Mesane

2.3.1. Mesane Anatomisi



Şekil 4. Mesane Anatomisi [18]

Böbreklerde renal parenkim tarafından oluşturulan idrar, toplayıcı sistemle üreterlere, üreterler tarafından ise alt üriner sisteme iletilir. Temel işlevi idrarı biriktirmek olan mesane detrüsör ve trigon olmak üzere iki farklı yapıdan oluşmaktadır. Mesane düz kasına "detrusor kası" denir. Lifleri tüm yönlerde dağıldığı için kasıldığı zaman mesane içi basıncını 40-60 mm Hg'ya kadar artırabilir. Böylece mesane boşalması için detrusor kasının kasılması temel noktadır. Detrüsörün birbirlerini serbestçe çaprazlayan düz kas demetleri, mesane boynunda dairesel özellik alarak fonksiyonel bir sfinkter özelliği kazanır.[16,19]

Mesanenin arka duvarında mesane boynunun üst kısmında yer alan küçük üçgen bölgeye "trigon" denir. Trigon, üreterlerin giriş deliklerinden mesane boynuna uzanır. Derin trigon detrüsör düz kasının, yüzeyel trigon ise üreter kaslarının uzantısıdır.[16]

2.3.2. Mesane İnervasyonu

Mesanenin ana sinir kaynağı, sakral pleksus ve medulla spinalisin sakral 2 ve 3 segmentleri arasında bağlantıyı sağlayan "pelvik sinirlerdir". Bu sinirler hem duyusal hem motor sinir liflerini taşırlar.

Alt üriner sistem inervasyonu sempatik, parasempatik ve somatik sistem ile olur. Sempatik sinirlerini T11-L2 segmentlerinden; parasempatikleri ise S2-4 seviyesinden alır. Parasempatik sistem ile detrüsörü kasılırken, sempatik sistem ile gevşeyip, mesane boynu ve iç sfinkteri kasarak idrar depolanmasını sağlar.

Düz kasın önemli bir özelliği, özellikle boşluklu organlarda viseral üniter tip düz kasların uzatılma veya kısaltılmalarından sonraki saniyeler içinde neredeyse orijinal kasılma gücüne dönebilmeleridir. Örneğin, mesanedeki sıvı hacminin ani olarak artışı mesane duvarı düz kasının gerilmesine ve kesede ani basınç artışına neden olur. Bununla birlikte, sonraki 15 saniye ile bir dakika arasında mesane duvarında gerim devam etse bile, basınç yaklaşık olarak başlangıçtaki düzeyine döner. Buna "stres gevşemesi" denir ve mesanenin büyük hacim değişikliklerine rağmen, lümenindeki basıncı uzun sure sabit düzeyde sürdürmesine izin vermesi nedeniyle önemlidir.[16]

Tonus, mesane kapasitesini koruyabilmesi için önemlidir. Düz kas tonusu, intrensek ve ekstrensek birçok faktöre bağlı olabilir. Sadece otonomik sinirlere ve dolaşımdaki hormonlara değil; gerilime cevap, lokal metabolitler, nitrik oksit gibi lokal salınan ajanlar ve sıcaklık gibi faktörlere de bağlıdır.

Düz kasın kasılmaları yavaş, sürekli ve yorgunluğa dirençlidir. Düz kasın kasılma ve gevşemesi, iskelet kasından 30 kat daha geç sürede olur ve uzun süreler boyunca aynı seviyede kasılma gerilimini %1'inden daha az enerji harcayarak koruyabilir. Bununla birlikte, hangi hücrelerin mesanede spontan aktiviteyi sağladığı henüz net değildir.[20]

2.4. İleum ve İnnervasyonu

Düz kasın hücre organizasyonu gastrointestinal kanalda daha komplekstir. Gastrointestinal sistemde düz kas, enterik sinir sistemini oluşturan sinir pleksusları tarafından innerve edilir.

İnce bağırsak, insan sindirim sistemi uzunluğunun yaklaşık dörtte üçünü oluşturur. Yaklaşık olarak 5 m uzunluğunda olup ilk %5'i oniki parmak bağırsağıdır. İnce bağırsağın kalan kısmı başlangıç ucuna daha yakın olan ve %40'ını oluşturan jejenum ve son kısmını oluşturan ileumdur.

Gastrointestinal sistem düz kaslarında neredeyse sürekli bir elektriksel aktivite mevcuttur. İnce bağırsaklarda sık görülen harekete segmentasyon denir. Bu hareket dairesel kas tabakasının sık aralıklı kasılmaları ile belirgindir. Bunun tersine peristaltis, dairesel düz kasların birbirini izleyen bölümlerinin ileri doğru kasılmasıdır. İnce bağırsak boyunca düzenli yavaş dalgalar oluşur. Yavaş dalgalarda bazen aksiyon potansiyel sivrileri olabilir, bazen de olmayabilir. Aksiyon potansiyeli oluştuğunda, ince bağırsakta karıştırıcı ve ileri itici hareketleri başlatan düz kas kasılmalarına neden olur.[17]

2.5. Laksatif Etki

Laksatifler, feçesin (dışkının) yumuşamasını sağlayan dolayısıyla defekasyon sırasında atılımını kolaylaştıran maddelerdir. Organizmada diyare (ishal); bağırsak hareketlerinin artmasından ziyade, bağırsak epitelindeki su ve elektrolit sirkülasyonunun bozulması sonucu oluşmaktadır.

2.6. Diüretik Etki

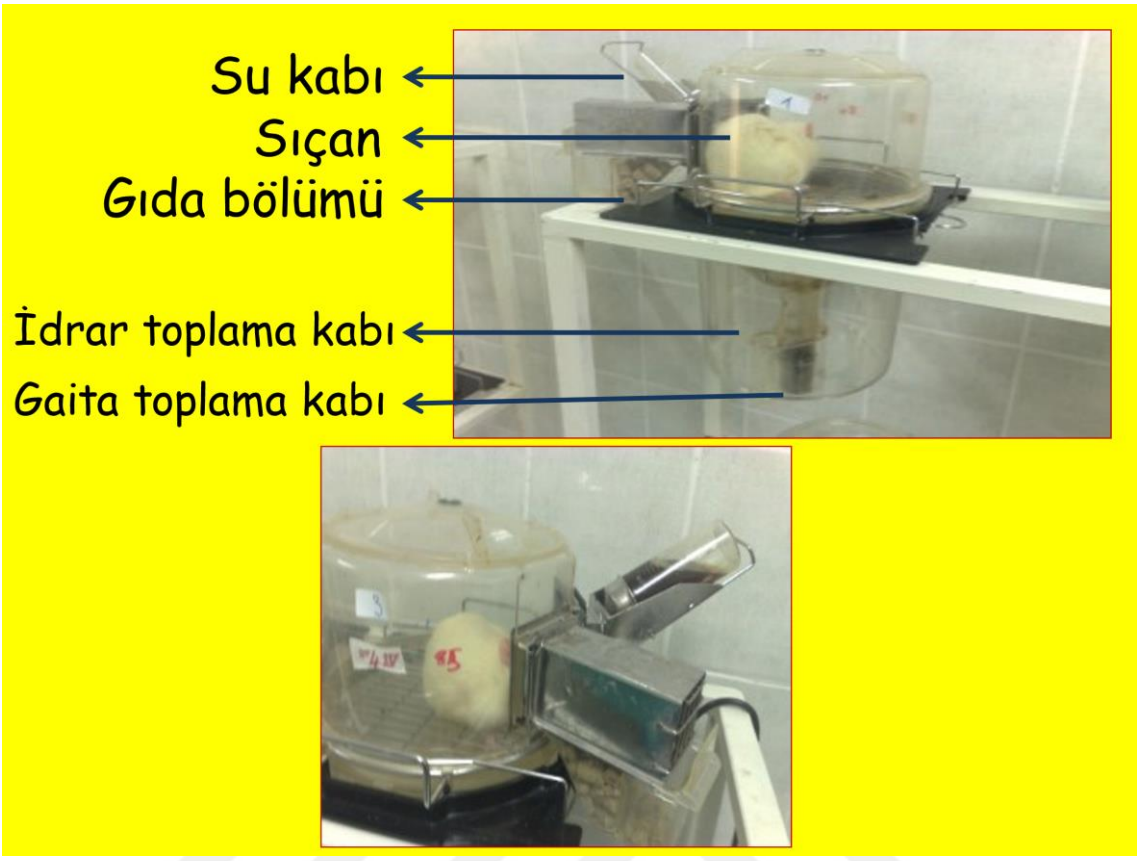
Diüretik etki glomerüler filtrasyonda artış, sodyum ve klorür atılımında artış, osmotik basınçta yükselme ve antidiüretik hormonda azalma gibi çeşitli mekanizmalarla meydana gelebilir. Ayrıca böbrek yetmezliği ve diyabet gibi hastalıklarda tüm bitkisel diüretiklerin kontrendike olduğu unutulmamalı ve dikkat edilmedilir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, deney hayvanlarının normal yaşam şeklini sürdürebileceği ve 24 saatlik idrarının toplanabileceği Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezindeki (ÇÜ TF-DETAUM) özel kafesler (Metabolik kafesler) kullanıldı. DETAUM'dan temin edilen 250- 300 gram ağırlığında Wistar Albino türü erişkin erkek ve dişi sıçanlar (Bu deneyler için Çukurova Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul onayı alındı) kullanıldı. Her bir kafese bir adet sıçan konularak deney protokolü uygulandı.

3.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Protokolü

Çalışma 2 grup deney hayvanı üzerinde yürütüldü. Her bir grupta 10 sıçan kullanıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak değerlendirildi ve hayvanlara günlük yeminin yanında normal çeşme suyu verildi. İkinci gruba (Meyan şerbeti grubu) ise içme suyu yerine belli oranda meyan kökü şerbeti verildi. Her kafeste 1 adet sıçan kullanıldı. Bu iki grupta da aynı protokol uygulandı. Her gün için 24 saat boyunca her bir sıçanın tükettiği su ve/veya meyan şerbeti miktarları ölçüldü. 24 saat sonra biriken idrar miktarları ölçüldü. Aynı zamanda toplanan idrarlarda tam idrar tetkiki (dansite, glukoz, protein vs), kreatinin bakıldı. Bu 24 saatlik protokole 7 gün boyunca devam edildi. 7 günlük protokolün sonunda deney hayvanları Tıbbi Farmakoloji bölümüne götürülüp sevofluran ile anestezi altında servikal dislokasyon ile öldürülerek abdominal kısım açıldı, mesane ve ileumları çıkarıldı.



Şekil 5. Çalışmada kullanılan metabolik kafes görüntüleri ve bölümleri



Şekil 6. Deney hayvanlar merkezinde her bir metabolik kafes içinde deney protokolüne alınan deney hayvanlarının durumu.

3.2. Meyan Kökü Şerbetinin Hazırlanışı

Geleneksel Meyan kökü şerbetinin hazırlanışı: Bitki materyali olarak meyan kökü (Glycrrhiza glabra) kullanıldı. Ticari olarak bir aktardan temin edilen Meyan kökü Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doç.Dr. Serpil Demirci Kayıran tarafından analiz edildi. Meyan kökü şerbeti halkın sıkça kullandığı hazırlanış şekline ve Avrupa Tıp Ajansı farmakopediasında önerilen dozlara göre günlük taze olarak hazırlandı. [21] Bu farmakopediaya göre 4.5 gram meyan kökü 150 ml kaynayan suya atıldı ve demlendi. Demlenmiş şerbet daha sonra süzülerek deney hayvanlarının içimine uygun hale getirildi. Böylece yöremizde sıkça rutin kullanılan miktarlarla meyan kökünün şerbeti geleneksel hazırlanış şekli ile çalışmalara başlandı. Araştırmalarımıza göre yöremizde de meyan kökü şerbetinin hazırlanışı bu yönteme benzer özelliktedir.

3.3. İn vitro İzole Mesane Strip Çalışması

Sıçanlar sevofluran ile anestezi altında servikal dislokasyon ile öldürülerek abdominal kısım açıldı ve mesane bütün olarak çıkarıldı. Daha sonra bu doku, içinde Krebs solusyonu (119 mM NaCl, 4.6 mM KCl, 1.5 mM $CaCl_2$, 1.2 mM $MgCl_2$, 15 mM $NaHCO_3$, 1.2 mM $NaHPO_4$, and 11 mM glukoz) bulunan bir petri kutusu içinde izole edilerek 4 ayrı strip haline getirildiMesane stripleri Krebs solusyonu içeren, 37 ^oC ile ısıtılan ve %5 CO_2 ve % 95 O_2 ile havalandırılan 5 ml'lik izole organ banyoları içine 1 gram tansiyon altında platin içeren elektrodlar arasına asıldı. Doku cevapları izometrik transduserler ile bir Veri Toplama Sistemi'ne (BIOPAC-MP36) aktarıldı. Cevaplar bilgisayar ortamına kaydedildi. Sonuçlar GraphPad programı kullanılarak istatistiksel yöntemlerle değerlendirildi. Dokunun dengelenmesi için 60 dakika beklendi. Bazal spontan kasılma cevapları 60 dakika boyunca kaydedildi. Bu dinlenme periyodunun ardından dokulara bir stimülatör aracılığı (Grass S88) ile ESS (train stimulasyon 10 Hz; 50 V; 0.5 ms.) uygulandı. ESS frekansa bağlı olarak giderek artan kasılma cevapları oluşturdu. Ancak stabil kasılma cevaplar elde etmek için train stimülasyon kullanıldı ve 10 Hz seçildi. Dokular her 20 dakikada bir taze Krebs solüsyonu ile yıkanarak nörojenik cevapların devamlılığı sağlandı. Bu kasılma cevapları 2 saat boyunca kaydedildi. Daha sonra dokular 100 mM KCl içeren Krebs solusyonu ile kastırılarak deneyler tamamlandı.

3.4. İn vitro İzole İleum Strip Çalışması

Meyan kökünün laksatif etkisinin olup olmadığını değerlendirmek amacıyla sıçanlarda abdominal kesi yapıldıktan sonra ince bağırsaklarının ileum kısmından yaklaşık 5-6 cm kesilerek mesanede olduğu gibi içinde taze Krebs bulunan petri içine alındı. Daha sonra içinde Krebs solüsyonu bulunan (iğnesiz) bir enjektör ucu barsak parçasının bir ucuna takılarak barsak içine çok yavaş ve hassas bir şekilde krebs sıvısı verildi. Böylece barsak içeriğinin diğer boş uçtan çıkarılması, barsak içinin yıkanıp gaita atıklarından arındırılması sağlandı. Bu işlem birkaç kez farklı temiz petri kutularında aynı şekilde tekrarlandı. Barsak parçasının iyice temizlendiğine emin olunduktan sonra enjektör ucunun yerleştirildiği uç parçası kesilip atılarak kesilmiş bu

uçtan itibaren 1 cm boyunda 4 eşit ileum parçası ayrı ayrı izole edildi. Barsak parçalarının her iki ucundan organ banyosuna ve ipler aracılığı ile izometrik transduserlere bağlanarak barsak spontan kasılma aktiviteleri bir Veri Toplama Sistemi'ne (BIOPAC-MP36) aktarıldı ve cevaplar bilgisayar ortamına kaydedildi. Kontrol grubu ileum spontan kasılmaları ile meyan kökü şerbeti verilmiş sıçanların ileum spontan aktivitelerinin maksimum kasılma boyları frekans ve her bir kasılmaya ait eğri altında kalan (EAA) ölçümleri her grup için karşılaştırılarak sonuçlar GraphPad programı kullanılarak istatistiksel yöntemlerle değerlendirildi.

3.5. İdrar Analizleri

Deney protokolünde her gün sabah 24 saatlik idrar örnekleri alınıp miktarları ölçülüp kaydedildi ve biyokimyasal analizler için farmakoloji bölümüne götürüldü. Burada hazır idrar analiz kit stripleri (Laboquick İdrar Stribi: 10 parametrelik 100 strip) kullanılarak idrar dansitesi, glukoz, protein ve kreatinin ve diğer birkaç parametreye bakıldı.

3.6. Biyokimyasal Analizler

Sıçanlardan intrakardiyak ponksiyonla kan örnekleri alınarak biyokimyasal tüplere konuldu. Kan örnekleri santrifüj işleminin ardından serum kısımları ayrılarak biyokimyasal testler çalışılmak üzere -80^{o}C'de saklanmıştır. Alınan kan örneklerinde Alanin transaminaz (ALT), Aspartik transaminaz (AST), ve kreatinin (Cr) seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak ölçülmüştür.

Serum ALT, AST ve Cr Seviyelerinin Ölçümü:

1. Hazırlanan standart kontrollerden 50 µL alınarak kuyucuklara aktarıldı ve üzerine 50 µL Streptavidin-HRP eklendi.
2. Serum örnekleriden 40 µL alınarak kuyucuklara eklendi ve üzerine 10 µL antikor ile 50 µL Streptavidin-HRP konuldu.

3. Plağın yüzeği kapatıltıkdan sonra 37°C'de 1 saat inkübe edildi.
4. Otomatize yıkama cihazında herbir kuyucuğa 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi.
5. Herbir kuyucuğa ALT ve AST için 50 µL kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B, Cr için 50 µL subsrat solüsyon A ve subsrat solüsyon B eklenerek 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi.
6. Stop solüsyondan 50µL eklenerek 450 nm dalga boyunda okuma işlemi yapıldı.

3.7. Patolojik İnceleme

7 günlük deney protokolü tamamlandıktan sonra mesane ve ileum deneysel çalışmaları için hayvanlar sevofluran anestezisi altında bayıltılıp dekapitasyon suretiyle öldürüldükten sonra her bir hayvandan kan örnekleri alındı**.** Bu kan örneklerinde kan glukozu, karaciğer enzimleri ve kreatinin klerens bakılarak meyan kökü şerbetinin böbrek ve karaciğer fonksiyonları üzerindeki etkileri de değerlendirildi. Öldürülen hayvanların karaciğerleri alınarak formaldehit içeren tüpler içinde muhafaza edilerek patolojiye (Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı) gönderildi. Böylece meyan kökü şerbetinin uzun sure yoğun kullanımın karaciğerdeki etkisini hakkında da bilgi sahibi olunmaya çalışıldı.

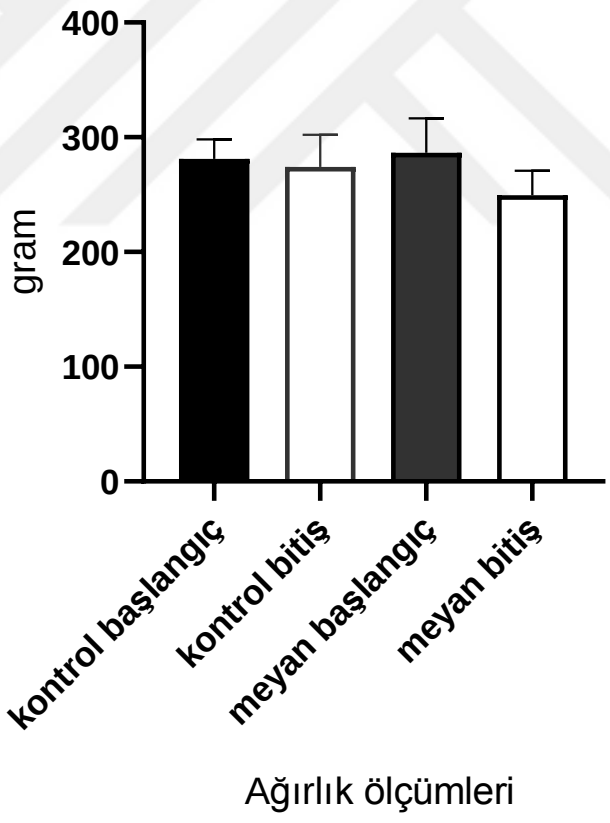
3.8. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

İkiden fazla grubun olduğu deneylerde, gruplar arası karşılaştırma tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) ile değerlendirildi. Bu karşılaştırma Bonferoni-t kullanılarak yapıldı. (GraphPad Prism). İkili grupların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde ise student-t testi kullanıldı. 0,05'den küçük *P* değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Bütün veriler, Ortalama ± Standart Hata olarak ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1. Canlı Ağırlık Değişimi Bulguları

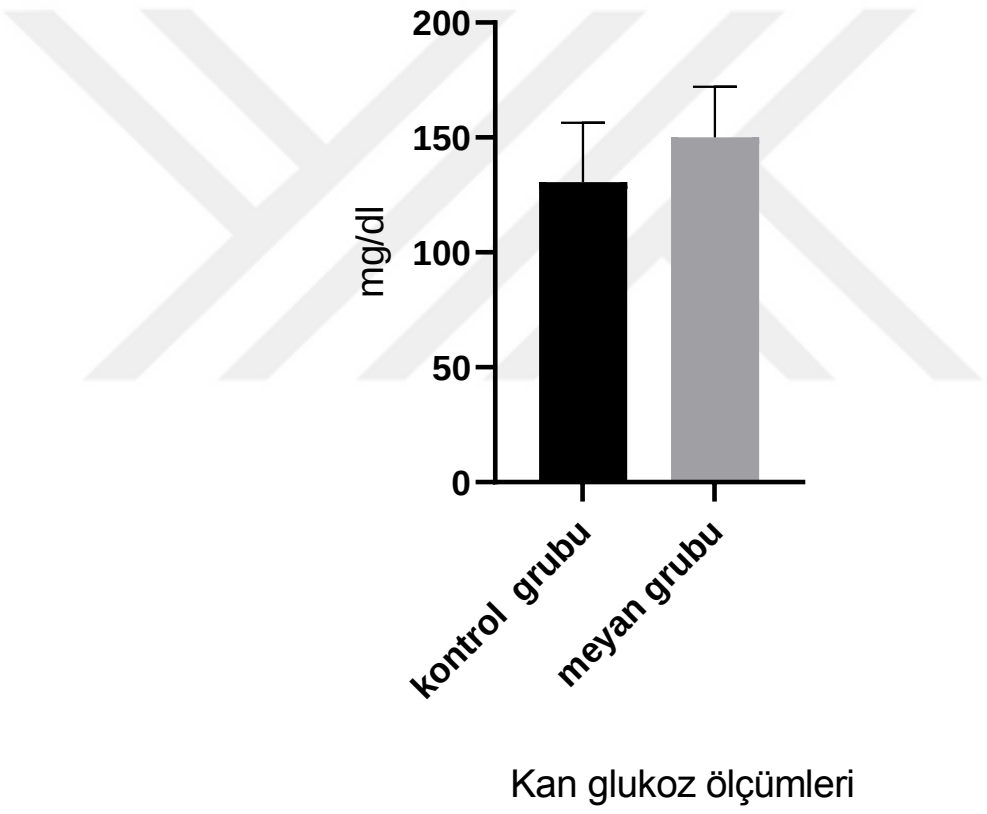
Her iki gruptaki hayvanlar metabolik kafeslere konulmadan önce ayrı ayrı tartılmıştır (Başlangıçtaki ağırlıklar). 7 Gün süren içme suyu veya meyan şerbeti verilme takip sürecinden sonra invitro izole organ deneylerine alınırken tekrar ağırlıkları ölçülmüş (Meyan Bitiş) ve her iki grubun ağırlıkları karşılaştırılmıştır (Şekil 7). Elde ettiğimiz bulgular her iki grubun metabolik kafeslerde 7 günlük takip süresince hafif derecede ağırlık kaybı yaşadıklarını ancak bu azalmanın her iki grupta da istatiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur.



Şekil 7. Deney başlangıç ve bitiş sıçan ağırlık ölçümleri

4.2. Açlık Kan Glikozu Bulguları

Çalışmamızda 7 gün boyunca çeşme suyu (Kontrol Grubu) veya Meyan şerbeti (Meyan Grubu) verilen deney hayvanları izole organ banyo çalışmaları için öldürülüp dokuları alınırken bu hayvanların bir glukometri cihazı ile kan glukozu düzeylerine bakıldı. Kontrol grubu kan glukoz düzeyleri ile meyan şerbeti verilen Meyan grubunun kan glukoz düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Keza meyan grubunda kan glukoz düzeyleri anlamlı olmayan hafif bir artış göstermiştir (Şekil 8).

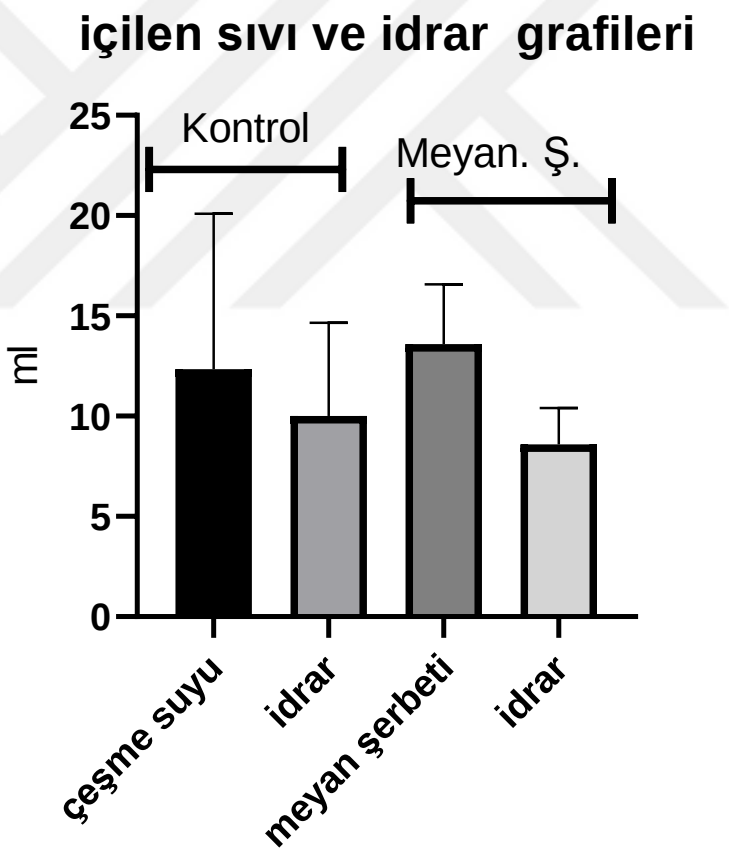


Şekil 8. Sıçan kontrol ve meyan açlık kan glikozu ölçümü

4.3. İdrar Miktarları ve İdrar Analizi

A. 7.Gün ölçülen sıvı tüketimi ve çıkarılan idrar miktarlarının karşılaştırılması:

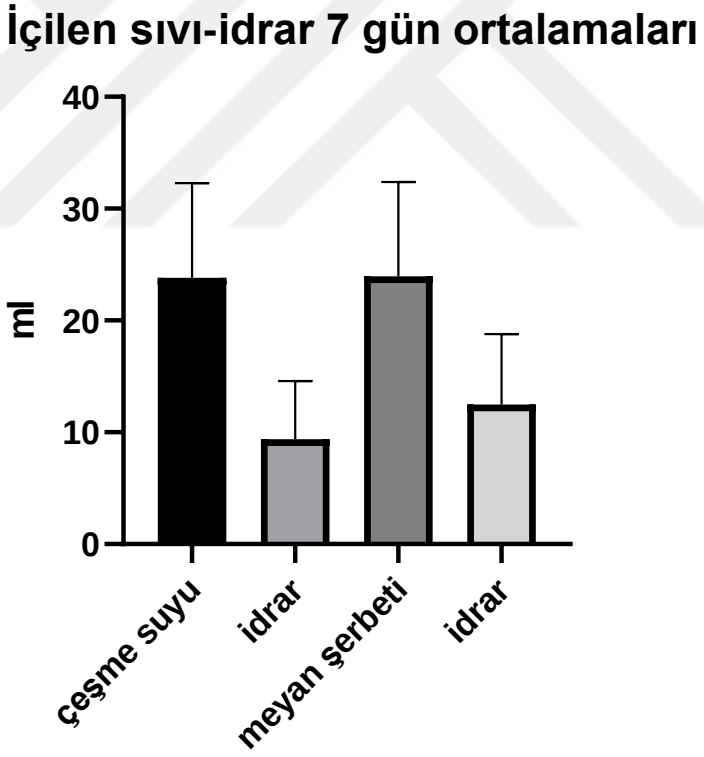
Her iki grupta 7 Günlük takip süreci sonunda deney hayvanları farmakolojik izole doku çalışmalarına alınmadan önce 7. günkü sıvı tüketimleri ve çıkarılan idrar miktarları ölçülerek karşılaştırıldı. (Şekil 9) Bulgularımız kontrol ve meyan şerbeti verilen iki grupta da 7. Gün sıvı alımlarında ve çıkarılan idrar miktarlarında hafif azalma görüldüğünü ancak bu azalmanın istatiksel olarak anlamlı olmadığını göstermiştir.



Şekil 9. 7.Gün ölçülen sıvı tüketimi ve çıkarılan idrar miktarlarının karşılaştırılması

B. 7 gün ölçülen sıvı tüketimi ve çıkarılan idrar ölçümlerinin ortalamalarının karşılaştırılması:

Kontrol ve meyan şerbeti içirilen her iki grupta 7 Günlük takip süresince her gün kaydedilen sıvı tüketimlerinin ve idrar miktarlarının ortalamaları alınarak (10 deney hayvanın 7 günlük ortalamaları alındı) sadece 7. Günkü ortalamalara alternatif ikinci bir karşılaştırma yapıldığında da (Şekil 10), kontrol grubunda alınan çeşme suyu miktarları ile meyan şerbeti grubunda alınan meyan şerbeti miktarları yaklaşık benzer oranlarda olduğu halde meyan şerbeti alan grubun çıkarılan idrar miktarları ortalaması kontrole göre hafif yüksek bulunmuştur. Ancak bu artışın istatiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.



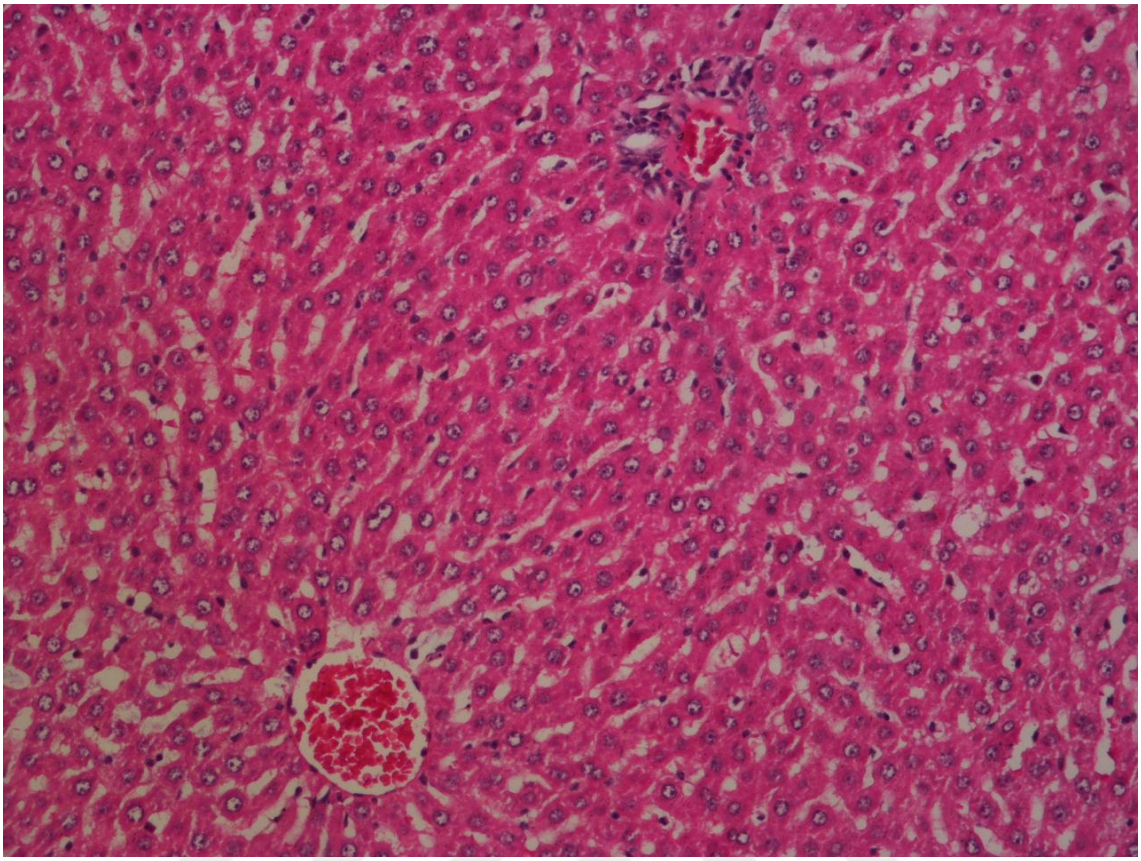
Şekil 10. 7 günlük içilen sıvı-çıkarılan idrar miktarları ortalamaları

Çizelge 1. Kontrol grubu ve Meyan şerbeti verilen deney hayvanlarında yedinci gün alınan idrar örneklerinde idrar kiti çubukları (laboquick idrar stribi) ile yapılan analizlerin sonuçları**.**

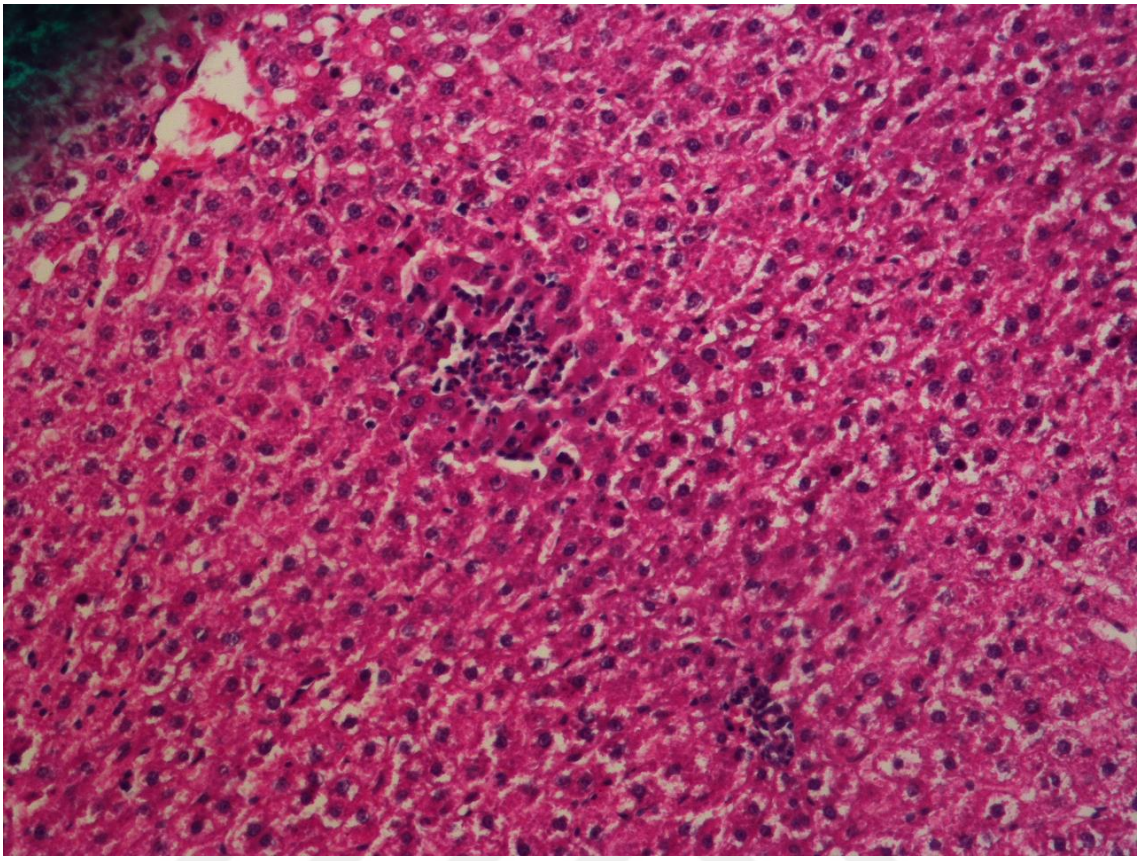
Ölçülen parametre	**Kontrol grubu**	**Meyan şerbeti grubu**
Protein mg/dl	199.5 g	215,09
pH	7.99	8.55
SG (özgül ağırlık)	0.977	o.945
Glikoz mg/dl	0	0

4.4. Histopatolojik Bulgular

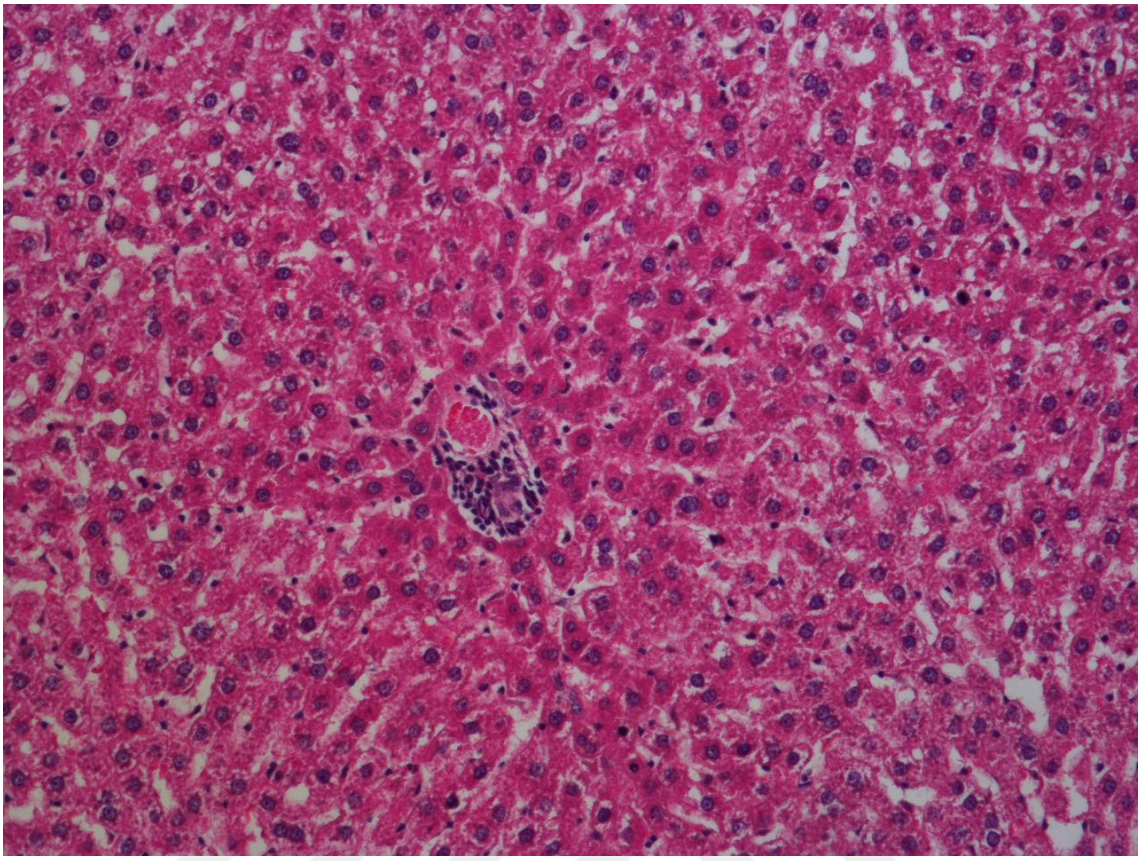
7 günlük takip süreci boyunca çeşme suyu verilen kontrol grubu ile meyan şerbeti içirilen meyan şerbeti grubundaki sıçanların izole doku örnekleri invitro farmakolojik deneylere alındığı sırada. Öldürülen hayvanlardan alınan karaciğer dokularının histopatolojik incelemelerinde meyan şerbetinin karaciğer dokusunda kontrol grubuna (Şekil 11) göre anlamlı patolojik değişikliklere yol açtığı görülmüştür. 7 günlük meyan şerbeti uygulamasının yapıldığı gruptaki sıçanların karaciğer parankiminde tek hücre nekrozu alanlara ve bu alanlarda inflamatuvar hücre odaklarına (Şekil 12); portal alanda mononükleerden zengin inflamasyon odaklarına rastlanmıştır (Şekil 13). Yine patolojik incelemede tespit edilen diğer önemli bir bulgu ise hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonudur (Şekil 14).



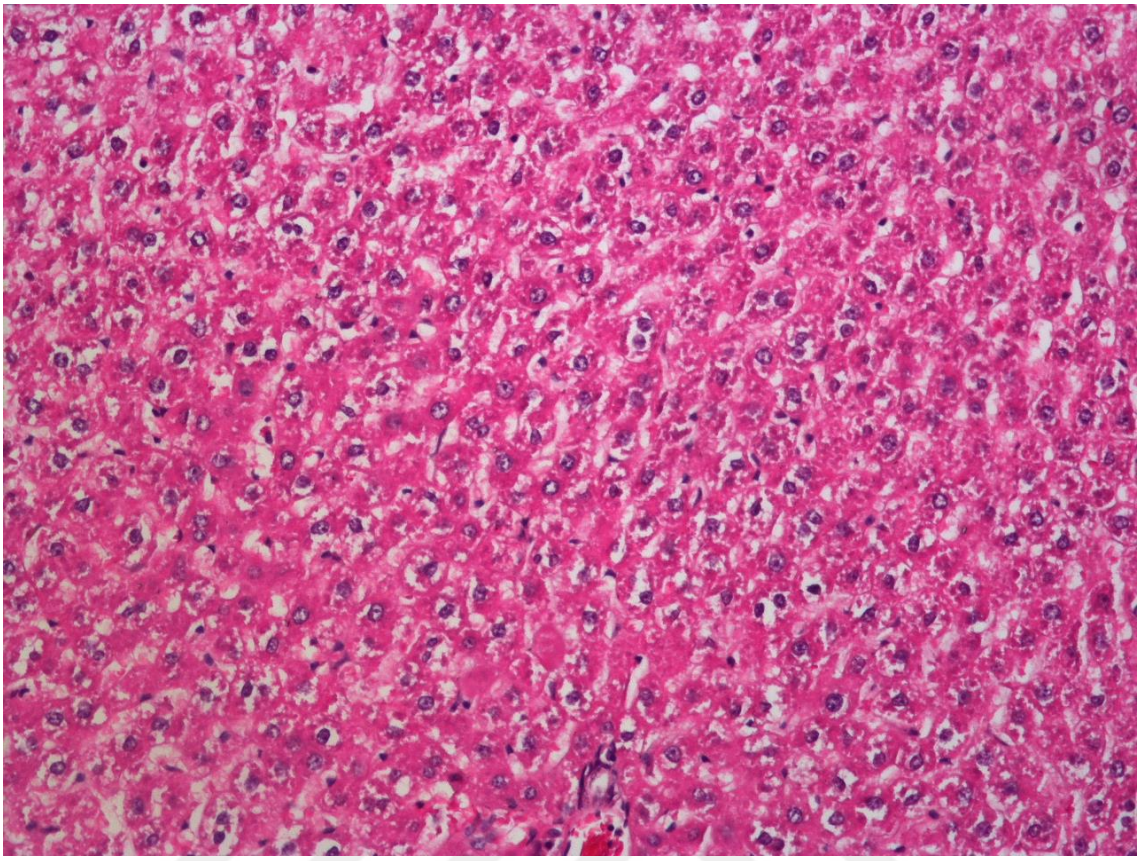
Şekil 11. Kontrol grubunda santral ven ve portal alan içeren sıçan karaciğer dokusu (H&E:x100)



Şekil 12. Meyan şerbeti verilen grupta sıçan Karaciğer parankiminde tek hücre nekrozu alanlar ve bu alanlarda inflamatuvar hücre odakları görülmüştür. (H&E:x100)

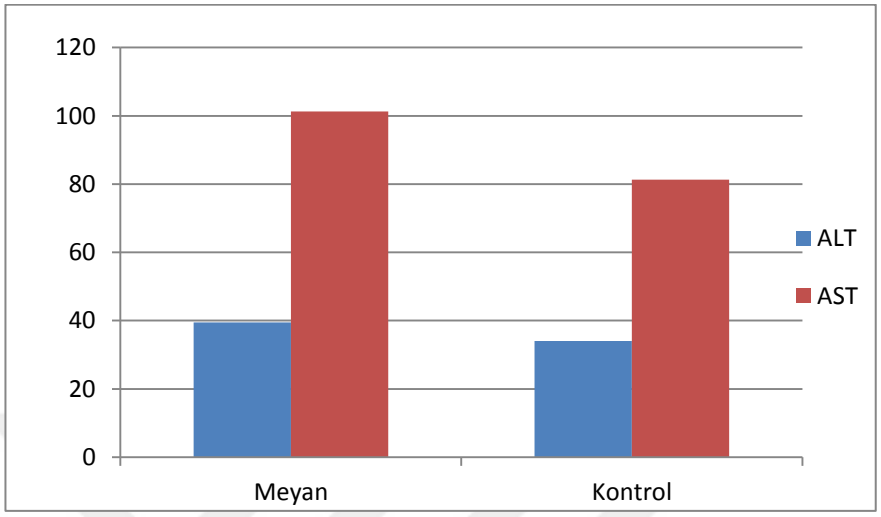


Şekil 13. Meyan şerbeti verilen grupta sıçan karaciğer dokusu portal alanda mononükleerden zengin inflamasyon odakları görülmüştür. (H&E:x100)

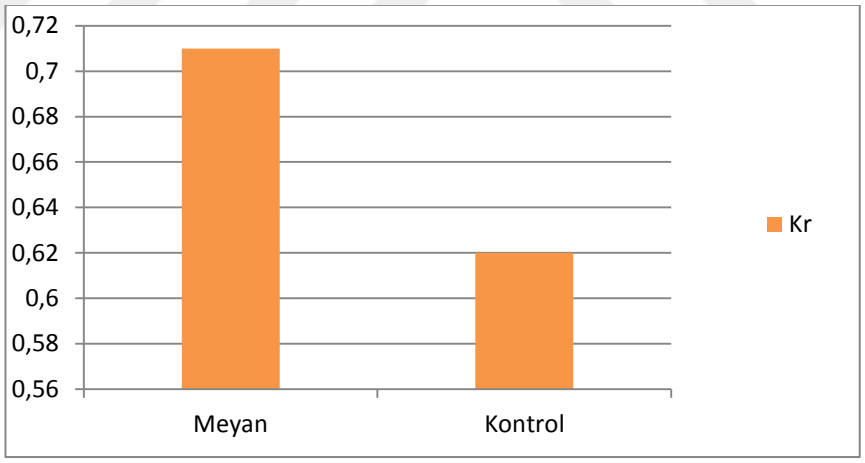


Şekil 14. Meyan şerbeti verilen grupta sıçan karaciğer dokusunda hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu görülmüştür. (H&E:x100)

4.5. Biyokimyasal Bulgular



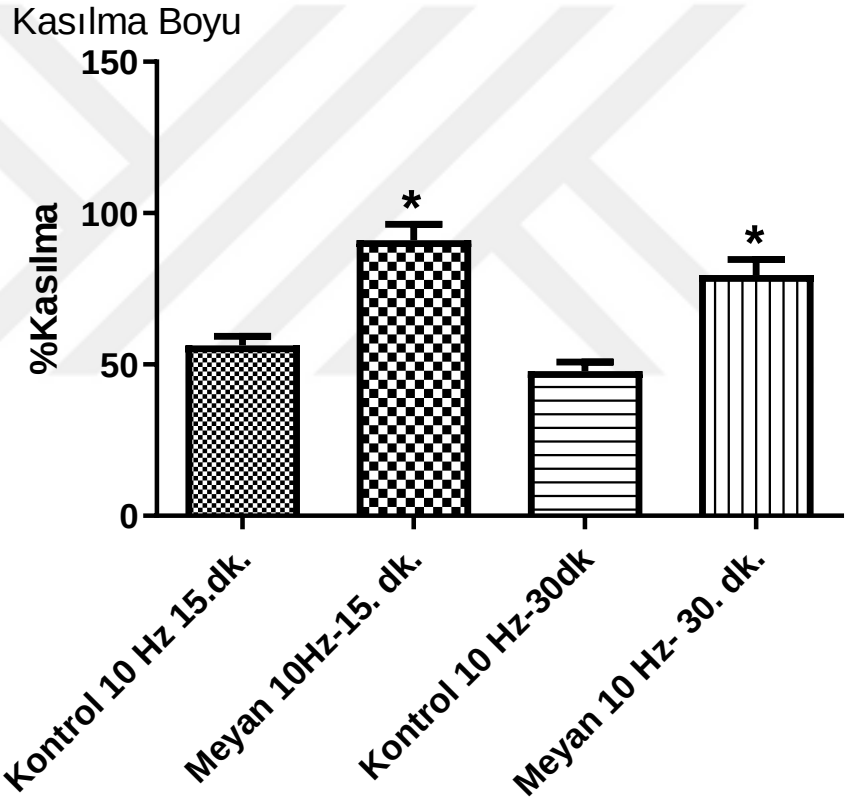
Şekil 15. Her iki grupta yedinci günde alınan kan örneklerinde ELİZA yöntemi ile analiz sonucu elde edilen ALT ve AST değerleri



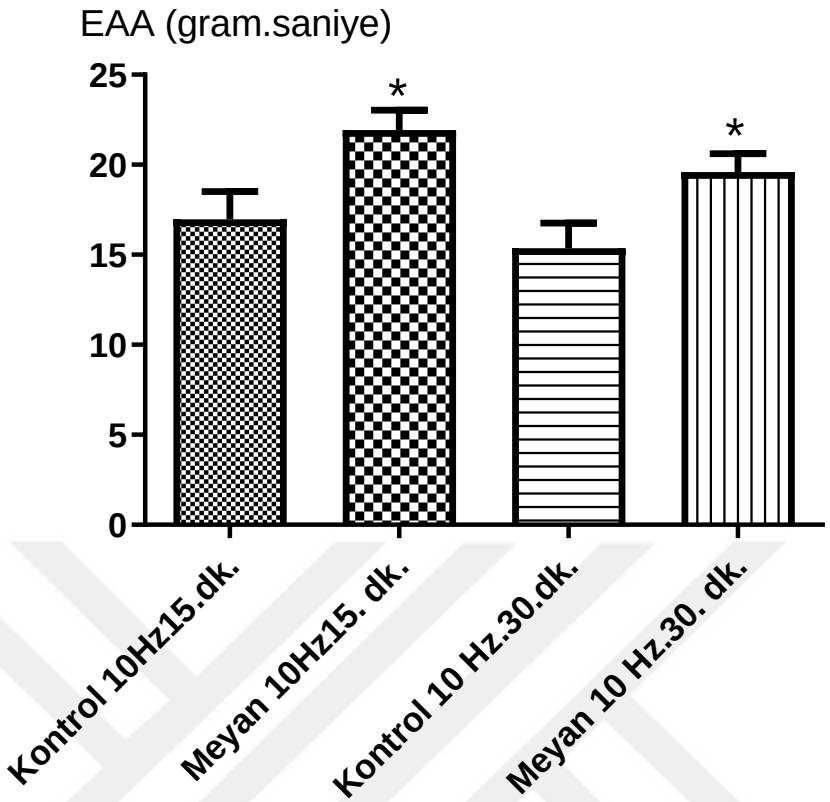
Şekil 16. Her iki grupta yedinci günde alınan kan örneklerinde ELİZA yöntemi ile analiz sonucu elde edilen Kreatinin değerleri

4.6. Sıçan Mesane Dokusu Deney Sonuçları

İzole mesane dokularının in vitro organ banyolarında Ess (train stimülasyon 10 Hz, 50 V, 0.5 ms) ile oluşturulan nörojenik kasılmaları incelendiğinde, meyan şerbeti verilen grupta izole mesane dokularının nörojenik kasılmalarının kontrol grubuna göre belirgin olarak artış gösterdiği gözlemlenmiştir. (Şekil 17; * P value < 0,005). Aynı şekilde bu kasılmaların eğri altındaki alan ölçümleri de (EAA değerlendirildiğinde) aynı anlamlı artışın bu parametre üzerinde de oluştuğu görülmüştür (Şekil 18).



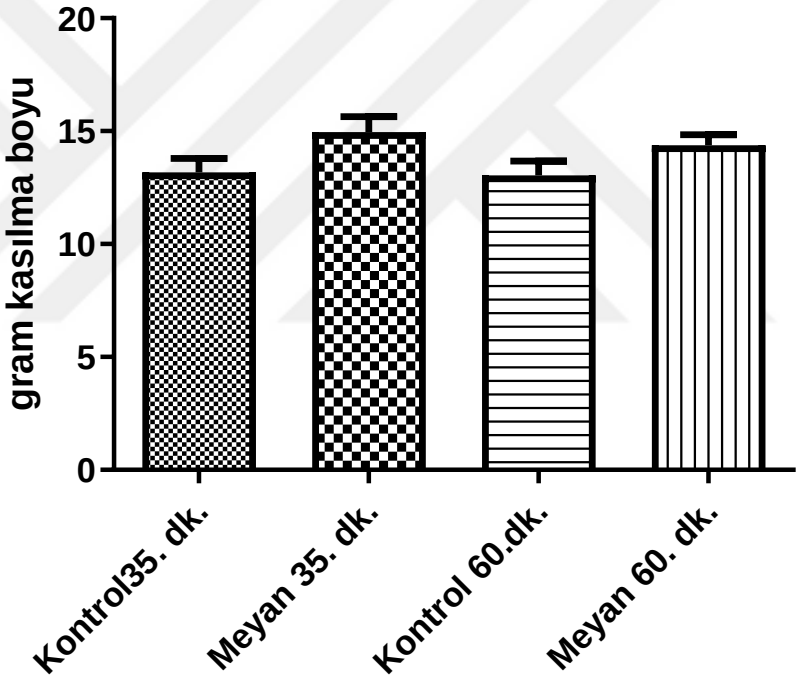
Şekil 17. Her iki grupta yedi günlük periyodun sonunda yedinci günde öldürülen sıçanların izole mesane dokusunda, ESS (train stimülasyon 10 Hz, 50 V, .0.5 ms) ile oluşturulan nörojenik kasılmalar üzerinde meyan şerbetinin etkisi grafize edilmiştir (Kasılma boyları; Her kolon her bir deneyin sonunda verilen 100 mM KCl ile oluşturulan kasılmanın % 'sini ifade etmektedir., * kontrole göre anlamlılığı ifade etmektedir. P value <0,005) Kasılma boyları ölçümü için deneylerde train stimulasyonun uzun süre uygulanmasından dolayı standart hesaplamayı sağlamak için her bir deneyde her bir deneyin 15. ve 30 dakikalarında oluşan kasılma boyları baz alınmıştır. (n=10)



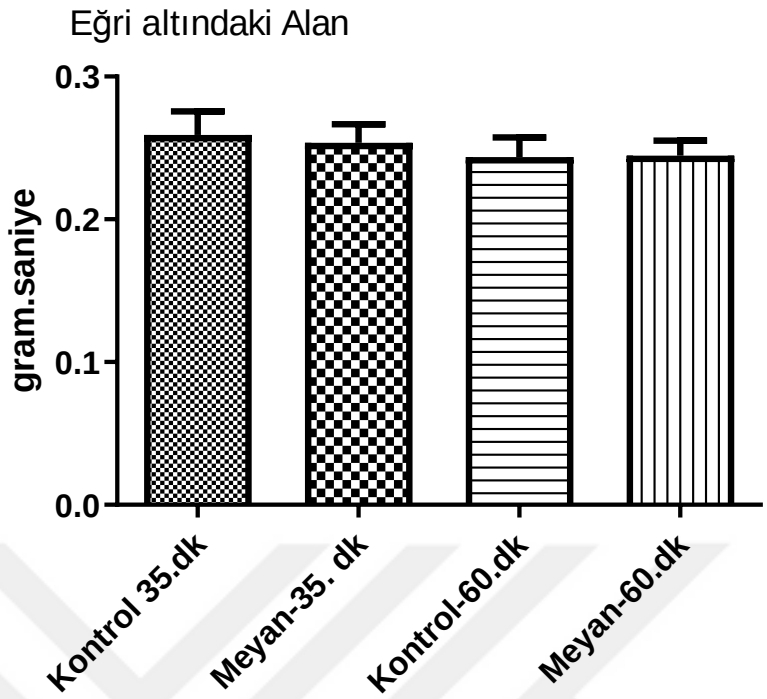
Şekil 18. Her iki grupta yedi günlük periyodun sonunda yedinci günde öldürülen sıçanların izole mesane dokusunda, ESS (train stimülasyon 10 Hz, 50 V, .0.5 ms) ile oluşturulan nörojenik kasılmalar üzerinde meyan şerbetinin etkisi grafize edilmiştir. Her kolon 15. Ve 30 dakikalarda ölçülen kasılmaların eğri altındaki alanların ortalamasını göstermektedir. * kontrole göre anlamlılığı ifade etmektedir. P value < 0,005 N= 10).

4.7. Sıçan İleum Dokusu Deney Sonuçları

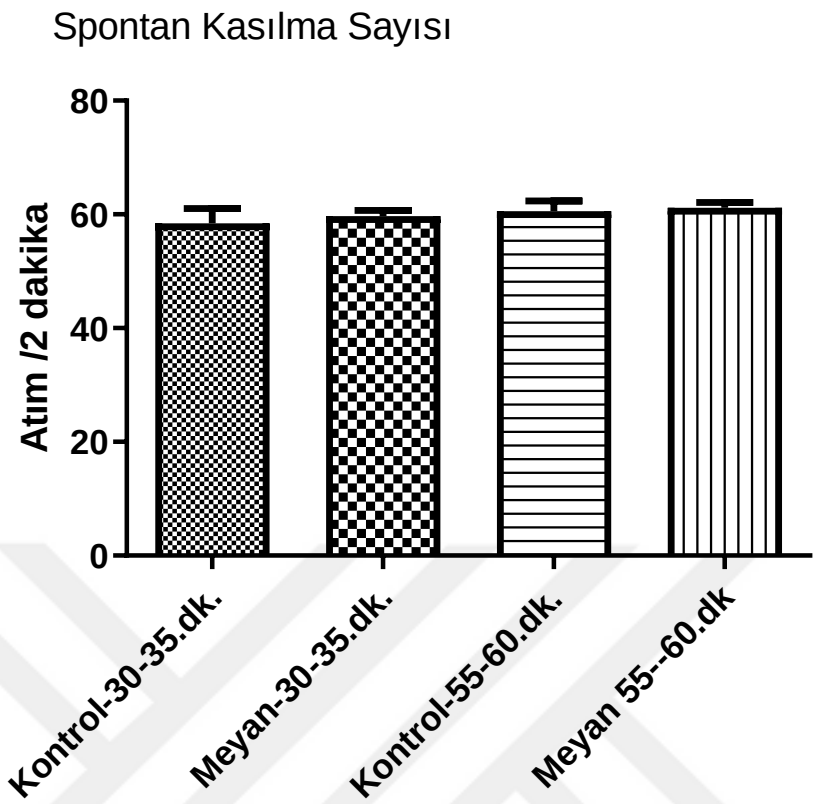
Meyan şerbetinin izole organ banyosunda ileum dokusunun spontan kasılmaları üzerindeki etkileri incelendiğinde spontan kasılmaların boylarında kontrol grubuna göre hafif bir artış olmasına rağmen bu artışların istatiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Şekil 19) Aynı şekilde bu spontan kasılmaların eğri altındaki alanlarının (EAA) ölçümünde de her iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Şekil 20). İzole ileum dokusunun birim zamandaki spontan kasılma sayıları karşılaştırıldığında da her iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Şekil 21).



Şekil 19. Her iki grupta yedinci gün öldürülen sıçanların izole ileum dokularınında meyan şerbetinin ileum dokusunun spontan kasılmaları üzerindeki etkisi grafize edilmiştir. (Her kolon her bir deneyde 35. Ve 60. Dakikalarda elde edilen spontan kasılma boylarının ortalama kasılma boyunu göstermektedir. n= 10)



Şekil 20. Her iki grupta yedinci gün öldürülen sıçanların izole ileum dokularınında meyan şerbetinin ileum dokusunun spontan kasılmaları üzerindeki etkisi grafize edilmiştir. (Her kolon her bir deneyde 35. Ve 60. Dakikalarda elde edilen spontan kasılmalarının eğri altındaki alanlarını ifade etmektedir. (n= 10)



Şekil 21. Her iki grupta yedinci gün öldürülen sıçanların izole ileum dokularında meyan şerbetinin ileum dokusunun spontan kasılmalarının sayıları üzerindeki etkisi grafize edilmiştir. (Her kolon her bir deneyde 30-35. İle 55.-60.dk. arasındaki 2' Şer dakikalık süre içerisinde ölçülen spontan kasılma sayısını ifade etmektedir. (n= 10).

5. TARTIŞMA

Meyan kökü şerbetinin mesane ve ileum üzerindeki etkilerini araştırma amacıyla yapılan bu tez projesinde, çeşme suyu verilen kontrol grubu ile meyan şerbeti verilen grubun metabolik kafeslerde takip edildiği 7 günlük protokolün sonunda meyan grubundaki deney hayvanlarının kan glukoz seviyeleri kontrole göre anlamlı olmayan bir artış göstermiştir. Hayvanların ağırlıkları her iki grupta da hafif azalma göstermiştir. Çalışmamızın en önemli bulgularından biri izole mesane çalışmalarında meyan grubunda mesane kasılmalarının kontrol grubuna göre belirgin anlamlı artış göstermesidir. Bunun dışında diğer bir önemli bulgu da meyan grubundaki hayvanlardan alınan karaciğer örneklerinin histopatolojik incelemelerinde belirgin tek hücre nekrozu ve yaygın inflamasyona rastlanmasıdır. Çalışmamızda ileumun spontan kasılma aktiviteleri de incelenmiş olup her iki grup arasında ileumun spontan kasılma aktiviteleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. 7 günlük protokolün sonunda izole doku çalışmalarına alınan sıçanların kanlarında bakılan eliza testleri bulgusunda ALT ve AST düzeyleri kontrole göre anlamlı artmıştır. Kan kreatinin bulgularında anlamlı bir yükselişin olmaması meyan şerbetinin bu çalışmada kullanıldığı doz ve sürede karaciğeri etkilediğini ancak böbrek fonksiyonunu etkilemediğini göstermiştir.

Deney protokolünün başladığı 1. günde ölçülen deney hayvanlarının ağırlık ortalamaları ile protokolün sonunda farmakolojik izole doku çalışmalarına alındığı 7. gün ölçülen ağırlık ortalamaları karşılaştırıldığında her iki grupta da hayvanların ağırlıklarında hafif bir azalma görülmüştür. İstatiksel olarak anlamlı olmayan bu azalmanın nedeni hayvanların 7 gün boyunca metabolik kafes gibi dar alanda kapalı tutulmaları sonucu yem alım miktarlarının azalması olabilir.

Deney protokolünün 7. Günü hayvanların izole doku çalışmalarına alındığı günde sıçanlardan alınan kanlarda ölçülen kan glukoz düzeylerine bakıldığında meyan grubunda kontrole göre hafif ama anlamlı olmayan bir artış görülmüştür. İstatiksel olarak anlamlı olmayan bu artışta Glycyrrhiza köklerine tatlılığı veren içeriklerine (ki

bu içerikteki maddeler izole edilerek şekerleme sanayiinde de kullanılmaktadır) bağlı olabilir. Zaten Meyan'ın etken maddesi şekerden 50 kat daha tatlı olan glycyrrhizin %6-14 oranında bulunduğundan böyle bir artışın görülmesi beklenebilir. [9]

Çalışmamızın ana konusu olan meyan şerbetinin çıkarılan idrar miktarları üzerine etkisi olup olmadığına bakıldığında 7. Günde elde ettiğimiz veriler meyan şerbeti alımının çeşme suyu alımından bir miktar daha fazla olduğu halde çıkarılan idrar miktarları ortalamasının kontrol grubuna göre daha az olması çok ilginçtir. Bu ortalamalar arasındaki fark istatiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen elde ettiğimiz sonucun beklediğimizden çok farklı çıkması çalışmamızın en ilginç sonuçlarından biridir. Bu bulgunun nedeni çıkarılan idrarın hayvanların gaitaları ile birlikte kafesin gaita bölümüne gitmesi olabilir. Gaitalar idrarı kendine çekerek idrarın toplama kabına akmasını engellemiş olabilir. Zaten kontrol grubunda da gözlemlenen yaklaşık aynı oranlardaki azalma bu görüşümüzü desteklemektedir. Diğer bir açıklama da tezin ana hedeflerinden biri olan meyan şerbetinin diüretik etkiye sahip olduğu iddiasına bilimsel açıdan bakıldığında gerçek olamayacağı görüşüdür ki elde ettiğimiz veriler meyan şerbetinin belirgin bir diüretik etkiye sahip olmadığını göstermektedir.

Yukardaki bulguları teyit etmek amacıyla 7 günlük protokolün 7 günlük ayrı ayrı her sıçanın sıvı alımları ve çıkardıkları idrar miktarların ortalamalarının alınıp karşılaştırıldığı durumda da hemen hemen yaklaşık benzer bulgular elde edilmiştir. Ancak sadece 7. Gün alınan verilerden farklı olarak. 7 günlük ayrı ayrı idrar çıkarımlarının ortalaması alındığında her iki grubun sıvı alımları yaklaşık aynı miktarlarda olduğu halde çıkarılan idrar miktarları karşılaştırıldığında meyan şerbeti alan grupta kontrole göre istatiksel olarak anlamsız olsa da bir miktar artış olduğu görülmüştür. Bu sonuç tıbbi bitkilerin etkileri konusunda yayınlanan makale ve derlemelerin bahsettiği meyan şerbetinin diüretik etkisi olabileceği görüşü ile uyumludur. Ancak farkın istatiksel olarak anlamsız olması bu konuda herhangi bir yorum yapmamızı engellemektedir.[22,23]

İdrar kitleri ile yapılan analizlerde 7. gün değerleri karşılaştırıldığında idrarın protein, glukoz, pH ve özgül ağırlık değerlerinde meyan şerbetinin kontrole göre anlamlı bir değişiklik yapmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar geleneksel şekilde meyan şerbeti alımının böbrek fonksiyonu üzerinde anlamlı bir değişiklik yapmadığını

göstermektedir. Kan kreatin değerlerinde kontrole göre anlamlı bir artış olmasına rağmen herhangi bir patolojik değerde olmaması bu görüşümüzü desteklemektedir.

Çalışmamızda 7 günlük protokolün sonunda izole doku çalışmalarına alınan sıçanların karaciğerlerde yapılan histopatolojik incelemelerde çok önemli bulgulara rastlanmıştır.

Meyan şerbeti verilen sıçanların karaciğerlerinin patolojik incelemelerinde "tek hücre nekrozu", "yaygın inflamatuvar infiltrasyon odakları", "hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu" görülmüştür. Bu bulgular karaciğer hücrelerinde metabolik veya kimyasal toksik nedenlere infeksiyöz veya iskemik değişikliklere bağlı meydana gelen hücresel hasarlanmanın göstergeleri olarak karşımıza çıkabilen patolojik değişikliklerdir. Halbuki meyan kökünün halk arasında karaciğere iyi geldiği söylentileri inancı vardır. Meyan kökünün karaciğer üzerinde koruyucu etkisinin olduğunu ileri süren bilimsel yayınlarda bulunmaktadır. Bu çalışmalarda meyan kökü içeriğinin güçlü antioksidan etkisiyle karaciğerde koruyucu ve iyileştirici etkisi olabileceği ileri sürülmüştür.[24] Ayrıca bir tez çalışmasında meyan kökünün karaciğerde birkaç koagulasyon nekrozu dışında herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadığı ileri sürülmüştür. Bu tez çalışmasında hepatositlerde yağlanma, hidropik dejenerasyon görülmüştür. Bizim çalışmamızda yağlanma görülmediği halde diğer patolojik bulgular bu tez çalışması bulguları ile uyumludur. Ayrıca çalışmamızda sıçanlardan alınan kan örneklerinde Eliza ile elde ettiğimiz ALT ve AST parametrelerinin kontrole göre yüksek çıkması meyan grubunda kısmi bir karaciğer patolojik hasar bulgularını teyid etmektedir. Yukarıda söz edilen tez çalışmasında da bu parametrelerin yüksek bulunması çalışmamızda elde edilen verilerin doğruluğunu teyit etmektedir.[25]

Bu tez çalışmasında meyan kökünün invitro izole mesane ve ileum dokularının aktivitesi üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Meyan şerbeti verilen meyan grubunda izole mesane dokuları üzerinde uygulanan ESS ile oluşturulan norojenik kasılmaların kontrol grubuna göre belirgin artış göstermesi tezimizin en önemli bulgusudur. Bu artışın nedenleri hakkında yorum yapmak güçtür ve ileri in vitro çalışmalarına gerek vardır. Ancak daha önceki izole ve invivo mesane aktiviteleri çalışmalarımızdan elde ettiğimiz bilgi tecrübesine dayanarak bu kasılmaların potansiyelize olmasının nedenlerinden biri dokuda ATP salınımın artmış olabileceğidir.[26] Yani dokuda purinerjik aktivite artmış

olabilir. Bu nedenle daha ileri izole organ çalışması yaparak ortamda purinerjik reseptör antagonistleri varlığında veya yokluğunda deneyleri meyan kökü ekstresi veya meyan kokü içerği olan Glizirik Asid ile tekrar etmek gerekecektir.

Bu çalışmada meyan kökünün ileum spontan kasılma aktivitesi üzerindeki etkisine de bakılmıştır. Ancak meyan kökü şerbeti ileumun spontan kasılma aktivitesi üzerinde kontrol grubuna göre herhangi bir anlamlı değişikliğe neden olmamıştır. Bu nedenle meyan şerbetinin herhangi bir laksatif etkisinin olup olmayacağı konusunda yorum yapılamamıştır. Ancak daha ileri çalışmalarda ileum yerine kolon kasılma aktivitesi üzerinde çalışmanın in vitro ortamda meyan kokü içerği olan Glizirik Asid ile tekrarlanması daha net sonuç verebilir.[9]

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Bu tez çalışmasında metabolik kafesler içinde 7 günlük bir periyotta tutulan sıçanlar üzerinde geleneksel yöntemlerle hazırlanan meyan kökü şerbeti deney hayvanlarında kontrole göre anlamlı bir idrar çıkarımı artışına; yani herhangi bir diüretik etkiye neden olmamıştır.

2. Bunun yanı sıra idrar analizlerinde idrar glukozu, proteini pH ve özgül ağırlığı gibi parametreleri de kontrole göre anlamlı olarak etkilememiştir.

3. Ancak çalışmamızın önemli bir bulgusu karaciğer üzerinde koruyucu etkisi olduğu ileri sürülen meyan kökü şerbetinin çalışmamızda yedi günlük periyodda karaciğer üzerinde önemli patolojik değişikliklere neden olduğu hatta kanda yapılan eliza çalışmalarında ALT VE AST değerlerini kontrole göre anlamlı yükselttiği görülmüştür. Bu çalışmada yaptığımız in vitro izole doku çalışmalarında da çok ilginç bulgular elde edilmiştir.

4. Meyan kökü şerbeti verilen grupta izole mesane nörojenik kasılmalarının kontrole göre belirgin artış göstermesi çalışmamızın ikinci önemli bulgusu olabilir. Bu artışın nedenlerinden biri dokuda, ATP düzeyinin artışı yani purinerjik aktivitenin artması olabilir. Bu nedenle in vitro izole mesane dokusu üzerinde nörojenik mesane kasılmaları üzerinde ya meyan kökü ekstraktlarının ya da meyan kökü içeriği olan Glizirik Asidin purinerjik reseptör antagonistleri varlığında veya yokluğunda etkilerine bakılması önerilebilir.

5. Diğer bir izole doku çalışmamız olan izole ileum dokularının spontan kasılma aktivitesi üzerinde meyan kökü şerbetinin kontrole göre anlamlı değişiklikler oluşturmaması nedeniyle meyan kökü şerbetinin herhangi bir laksatif etkisinin olup olmadığı konusunda yorum yapılamamıştır.

6. Ancak daha ileri çalışmalarda ileum yerine izole sıçan kolon dokusu üzerinde izole mesane dokusu üzerine önerdiğimiz gibi ya meyan kökü ekstraktlarının ya da meyan kökü içeriği olan Glizirik Asidin etkisine bakılması önerilebilir.

7. **Sonuç olarak** bu tez çalışmasında 7 günlük Avrupa farmakopediasına göre hazırlanan dozlarda meyan şerbeti uygulaması sıçanlarda herhangi bir diüretik etkiye neden olmamıştır ve böbrek fonksiyonlarını etkilememiştir. Ancak karaciğer dokusunda kontrole göre belirgin patolojik değişikliklere neden olmuştur ve bu patolojik değişikliklere karaciğer enzimlerinde (ALT ve AST) anlamlı yükselişler eşlik etmiştir. Meyan şerbeti izole ileum aktivitesini anlamlı olarak etkilemediği halde izole mesane dokusunda nörojenik kasılmaları belirgin arttırmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Karataş F.** Glycyrrhiza glabra L. (meyan) bitkisinin farmakope analizi ve fitoterapideki kullanılışı. Yüksek Lisans tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara**, 2013.**

2. **Başer K H C.** Meyan (Glycyrrhiza glabra L.). *BağBahçe,* **2006, Ağustos;** 20-21.

3. **Oğuz G.** Türkiye'nin Glycyrrhiza L. türleri ile ilgili morfolojik ve taksonomik; bir araştırma. *Ege Üniv. Fen Fak. İlm.Rap.Ser.*, İzmir, **1972.**

4. Oğuz, G. "Meyan Kökü ve Önemi" Fırat Üniv. Basın Bülteni 2: (37): 3. 1987.

5. Sezik, E., "Meyan Kökü Eski Bir İlaca Yeni Etkiler", Bilim ve Teknik, 1990:23(267):20-22.

6. **Anonim.** Erişim: (https://karakalpak-karakalpakstan.blogspot.com/2014/04/licorice-glycyrrhiza-glabra-production.html). Erişim tarihi: **31.01.2022.**

7. **Tanker N, Koyuncu M, Çoşkun M.** Farmasötik Botanik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları. Ankara; **1998:** 260-270.

8. **Anonim.** Erişim: (https://www.kraeuter-und-duftpflanzen.de/pflanzen-saatgut/salbei-suessholz/suessholz/roemisches-suessholz-saatgut) Erişim tarihi: **31.01.2022**.

9. **Xiaoying W, Han Z, Yu W.** Glycyrrhiza glabra (Licorice): Ethnobotany and Health Benefits. *Sustained Energy for Enhanced Human Functions and Activity*, **2017;** 231–250.

10. **S. Akbar,** in *Handbook of 200 Medicinal Plants* (Springer International Publishing, 2020), pp. 963–980.

11. **Tanker N, Özkal N.** Glycyrrhiza glabra L. bitkisinin Türkiye'de yetişmekte olan varyetelerinin farmakognozik karşılaştırılması. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi,* Ankara, **1977;** 7 (2), 196-213.

12. **Kuang, Y.; Li, B.; Fan, J.; Qiao, X.; Ye, M.** Antitussive and expectorant activities of licorice and its major compounds. Bio. Org. Med. Chem. **2018,** 26, 278–284.

13. **Cinatl, J.; Morgenstern, B.; Bauer, G.; Chandra, P.; Rabenau, H.; Doerr, H.W.** Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. Lancet. **2003,** 361, 2045–2046.

14. **Mendes-Silva, W.; Assafim, M.; Ruta, B.; Monteiro, R.Q.; Guimaraes, J.A.; Zingali, R.B.** Antithrombotic effect of glycyrrhizin, a plant-derived thrombin inhibitor. Thromb. Res. **2003,** 112, 93–98.

15. **Batiha, Gaber El Saber et al.** "Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, and Pharmacological and Toxicological Activities of Glycyrrhiza Glabra L. (Fabaceae)." *Biomolecules* **2020.**

16. **E. Hall J., Guyton A.** Guyton Tıbbi Fizyoloji. Yeğen B, Çavuşoğlu H. (Çev) 11. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri; **2007.**

17. **Berne R., Levy M.** Fizyoloji 5. Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri; **2008.**

18. **Anonim.** American Society of Clinical Oncology endorses EAU Guideline on Muscle-Invasive and Metastatic Bladder Cancer. Erişim: (https://uroweb.org/american-society-of-clinical-oncology-endorses-eau-guideline-on-muscle-invasive-and-metastatic-bladder-cancer) Erişim tarihi: 05.02.2022

19. **Sivrioğlu K.** Türk Fiz Tıp Rehab. Derg. (Özel Ek A) **2005;** 51: A16-A18.

20. **Oguz F, Altintas R, Ediz C.** Physiology and Pharmacology of Bladder and Urethra. Campbell Walsh Urology. 10. Edition. Volume 3. Chapter 14. Part 60. Güneş Tıp Kitabevleri; 2014; 1786-1834.

21. European Medicines Agency (EMA) (2013) Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC): Assessment report on *Glycyrrhiza glabra* L. and/or *Glycyrrhiza inflata* Bat. and/or *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, radix, final. Doc. Ref.: EMEA/HMPC/571122/2010 *Corr.*[1], 12 March 2013, http://www.ema.europa.eu/ema/ (1995-2017)

22. **Tekol Y.** Diüretik Olarak Kullanılan Bazı Halk İlaçlarının Deneysel Yöntemler ile İncelenmesi. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, **1983;**5(3):331-334.

23. **Arya S., Rathi N., Arya I.D.** Micropropagation Protocol for Glycyrrhiza glabra L. Phytomorphology, **2009**; 59(1): 71.

24. **Asl MN, Hosseinzadeh H.** Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. Phytother Res. **2008** Jun;22(6):709-24.

25. **Özdere B.** Ratlarda Yüksek Yağlı Diyet ile Obezite Oluşumu Üzerine Meyan Kökü (Glycrrhiza Glabra) Ekstraktı Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması. Yüksek Lisans, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, **2019.**

26. **Göçmen C, Giesselman B, de Groat WC.** Effect of neocuproine, a copper(i) chelator, on rat bladder function. J Pharmacol Exp Ther. **2005**;312(3):1138-1143.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Keçiören/Ankara'da doğdu. İlköğretimi İskenderun Namık Kemal İlköğretim Okulu'nda okuduktan sonra lise öğrenimine İskenderun İstiklal Makzume Anadolu Lisesi'nde devam etti. Daha sonra 2011 yılında başladığı Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden 2016 yılında mezun oldu. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında eğitim almaya başladı. Aynı yıl Adana Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesine eczacı olarak atandı. Halen aynı hastanede görev yapmaktadır.