

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

SIÇANLARDA ASETİK ASİT İLE OLUŞTURULAN
KOLİT MODELİNDE SPİRULİNA EKSTRAKTI
KULLANIMININ TOTAL OKSİDAN, ANTİOKSİDAN VE
PARAOKSONAZ DÜZEYLERİNE ETKİSİ

SEVDE EVCİM
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Dide KILIÇALP KILINÇ

AYDIN-2020

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
1.1.Problemin Tanımı ve Önemi	1
1.2. Araştırmanın Amacı	2
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları	3
2.1.1. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları Etiyolojisi	3
2.1.2. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları Epidemiyolojisi.....	3
2.1.3. Belirti ve Bulgular.....	4
2.1.4 Ülseratif Kolit ve Chron Hastalığı Etki Şekilleri.....	4
2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	5
2.2.1. Serbest Radikaller Etki Sistemi	6
2.2.2. Total Oksidan Kapasite	7
2.3. Total Antioksidan Kapasite.....	8
2.3.1. Antioksidan Savunma Sistemleri	8
2.3.2. Antioksidan Savunma Mekanizması	10
2.4. Paraoksonaz.....	10
2.4.1. Paraoksonaz Seviyesine Etki Eden Etmenler	12
2.5. <i>Spirulina</i>	12
2.5.1. <i>Spirulina</i> Hasadı	12
2.5.2. <i>Spirulina</i> Bileşimi	13

2.5.3. <i>Spirulina</i> Tüketiminin Yararları	14
2.5.4. <i>Spirulina Plantensis</i> 'in Canlılarda Kullanımının Zararları	15
2.5.5. <i>Spirulina Platensis</i> Üzerine Yapılan Çalışmalar	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Gereç	18
3.1.1. Cihazlar	18
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	18
3.1.3. Hayvan Materyeli	18
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Kan Parametrelerinin Analizi	21
3.2.1.1. TAS Analizi	21
3.2.1.2. TOS Analizi	21
3.2.1.3. Paraoksonaz Analizi	22
3.2.1.4. OSI (ENDEKS)	23
3.2.1.5. Test sonuçlarının değerlendirilmesi	23
3.2.2. İstatistiksel Değerlendirme	25
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	35
KAYNAKLAR	36
Ek 1 (ADÜ-HADYЕК Kararı)	48
ÖZGEÇMİŞ	49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ARE	: Arilesteraz
CAT	: Katalaz
CH	: Chron Hastalığı
GSH	: Glutasyon
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
IL-2	: İnterlökin 2
IL-6	: İnterlökin 6
İBH	: İnflamatuvar Barsak Hastalığı
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LP	: Lipit Peroksidasyonu
PON	: Paraoksonaz Enzimi
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAS	: Total Antioksidan Kapasite
TOS	: Total Oksidan Kapasite
ÜK	: Ülseratif Kolit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Paraoksonaz enzim yapısı	11
Şekil 2.	Testin reaksiyon kinetiği	24



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	ÜK ve CH tutulum yerleri	4
Resim 2.	Oksidatif denge.....	7
Resim 3.	Araştırma kapsamında kullanılan ratlar ve deneysel gruplar	19



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Total antioksidan referans değerleri	23
Tablo 2.	Total oksidan referans değerleri	23
Tablo 3.	Paraoksonaz analizlerinin hassas değerleri	24
Tablo 4.	Güven aralığı (üst sınır-alt sınır)	26
Tablo 5.	Kontrol, kolit ve spirulina + kolit grup ortalamaları (Ortalama±Standart Sapma)	27



ÖZET

SIÇANLARDA ASETİK ASİT İLE OLUŞTURULAN KOLİT MODELİNDE SPİRULİNA EKSTRAKTI KULLANIMININ TOTAL OKSİDAN, ANTİOKSİDAN VE PARAOKSONAZ DÜZEYLERİNE ETKİSİ

EVCİM S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2020.

Dokularda iltihaplanma veya enfeksiyon sonucu aşırı reaktif oksijen türevi (ROS) üretilmektedir. Spirulina platensis içerdiği yüksek miktarda protein, B12, pigmentler ve GLA (gamma linolenik asit) bakımından son derece önemli bir siyanobakteri türüdür. Antioksidan ve anti-enflamatuvar aktivitelere sahip spirulina (mavi-yeşil yosun), sıçanlarda oluşabilecek oksidatif stresi hafifletmek ve intrakardiyak total oksidan, antioksidan ve paraoksonaz düzeylerine etkisini değerlendirmek için kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, spirulinanın serbest radikallere ve reaktif oksijen türlerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada asetik asit ile oluşturulan kolit modelinde spirulina ekstraktı kullanımının total oksidan, total antioksidan ve paraoksonaz düzeylerine etkisi araştırıldı. Bu amaçla çalışmanın süresi 10 gün olarak belirlendi. Ratlar kontrol grubu, kolit grubu ve spirulina+kolit grubu olarak ayrıldı ve 2g/kg dozunda hazırlanan spirulina, spirulina+kolit grubuna oral gavaj yoluyla verildi. Ratların 10. gün sakrifiye edilmesinden sonra intrakardiyak olarak alınan kan örneklerine ELİSA testi uygulandı. ELİSA testi sonucu serum total antioksidan, total oksidan ve paraoksonaz düzeyleri hesaplandı. Çalışma sonucunda total antioksidan ve Total oksidan kapasite (TOS) düzeylerinin, Total antioksidan kapasite (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilen OSI (endeks) değerlerinde anlamlı istatistiksel fark bulundu. Kolit ile spirulina+kolit grupları karşılaştırıldığında Spirulina+kolit grubundaki ortalama total antioksidan değeri'nin, kolit grubu ortalama değerine göre daha fazla olduğu saptandı. ($P<0,05$). Endeks (OSI) değeri incelendiğinde kolit grubu ortalaması diğer grup ortalamalarından istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulundu ($P<0,001$). Bu çalışma sonucunda; asetik asite bağlı kolitte spirulina'nın antioksidan kapasiteyi artırarak koruyucu etkisi olabileceği görüldü.

Anahtar kelimeler: Spirulina, total oksidan, total antioksidan, paraoksonaz, rat.

ABSTRACT

THE EFFECT OF SPIRULINA EXTRACT USE ON TOTAL OXIDAN, ANTIOXIDANT AND PARAOXONASE LEVELS IN THE COLITIS MODEL WITH ACETIC ACID IN RATS.

EVCİM S. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Nutrition and Dietetics Program, Master Thesis, Aydın, 2020.

Tissue regeneration is a complex process. Most importantly, an overreactive oxygen derivative (ROS) is produced as a result of inflammation or infection. *Spirulina platensis* is a cyanobacterium species that is very important in terms of high amount of protein, B12, pigments and GLA (gamma linolenic acid). *Spirulina* (blue-green algae) with antioxidant and anti-inflammatory activities has been used to relieve ROS stress and its effect on total oxidant, antioxidant and paraoxonase levels. Studies have reported that spirulina is effective against free radicals and reactive oxygen species. In this study, the effect of spirulina extract use on total oxidant, total antioxidant and paraoxonase levels was investigated in the colitis model created with acetic acid. For this purpose, the duration of the study was determined as 10 days. Rats were divided into control group, colitis group and spirulina + colitis group. Spirulina prepared at 2g/kg concentrations was given to the spirulina + colitis group by applying oral gavage. After the rats were sacrificed on the 10th day, serum total antioxidant, total oxidant and paraoxonase levels were calculated as a result of intracardiac serum samples ELISA test. There was a significant difference in total antioxidant and OSI (index) values. When the colitis and spirulina + colitis groups are compared, Spirulina + colitis total antioxidant values were found to be higher than the colitis group values ($P<0.05$). When the index (OSI) value was examined, the average of colitis group was found to be statistically significantly higher than the other group averages ($P<0.001$). As a result of this study; In acetic acid-induced colitis, spirulina shows that it may have a protective effect by increasing antioxidant capacity.

Keywords: Spirulina, total antioxidant, total oxidant, paraoxonase, rat

1. GİRİŞ

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH) yaygın olarak gastrointestinal sistemin herhangi bir segmenti kolonun (kalın bağırsak) veya rektumun iç tabakasında oluşan, nüks etme oranı yüksek Ülseratif kolit (ÜK) ve/veya Crohn hastalığı (CH) ile karakterize bir hastalıktır. İBH için mevcut tedavi; anti-TNF α (tümör nekroz faktörü alfa) antikoruna ile temsil edilen sülfasalazin, kortikosteroidler, azatriopin gibi immünosupresif ajanlar ve biyolojik tedavi kullanımına dayanmaktadır. Bu ilaçlar ile uzun süren tedavilerde ciddi yan etkilerin meydana gelmesi ve hastaların tedavi masraflarının yüksek olması, yeni ve alternatif farmakolojik yaklaşımların araştırılmasını gerektirmiştir. Yapılan çalışmalarda İBH için etiyolojik faktörler olan reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) üzerinde odaklanılmıştır (Mason, 2001).

Gastrointestinal sistem; üretimi esas olarak, gıda bileşenleri ve bağışıklık hücreleri arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan pro-oksidanların (reaktif oksijen türleri) üreterek veya antioksidan sistemleri inhibe ederek oksidatif stresi indükleyen kimyasallardır) üretimi için önemli bir bölgedir. Ayrıca, İBH'li hastaların antioksidan kapasitesi, hastalığın asemptomatik fazında bile azalmaktadır. Reaktif oksijen ve azot türlerini (RONS) sindirmek için bağırsak hücreleri, süperoksit dismutaz (SOD), indirgenmiş glutatyon (GSH) ve katalaz (CAT) dâhil olmak üzere birçok enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlara sahiptir. Ancak aşırı RONS oluşumu lipid peroksidasyonunu (LP) artırır ve antioksidan savunmasını azaltabilir. İBH için geleneksel olmayan tedaviler hakkında birçok rapor yayınlanmıştır. Bununla birlikte, bu yayınlar antioksidan/anti-inflamatuvar aktiviteye ve bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesindeki öneme özellikle vurgu yapmaktadır (Moura ve ark, 2015). Binlerce yıldır denizden ve tatlı sudan bitki ve mikroorganizmalar insanlar için besin ve tıbbi etkili maddeler sağlamıştır. Prokaryot olan Spirulina da önemli su bazlı mikroorganizmalardandır ve detoksifiye edici, sağlığı destekleyici bunun yanı sıra hastalıkları önleyici rolleri ile bilinmektedir. Diğer tüm canlı hücrelerden farklı olarak, prokaryotlar çekirdekten yoksundur ve karmaşık hücresel organizmaların özelliği olan farklılaşmış hücre yapılarına sahip değildirler. Bu sayede dünyada hiçbir canlı türünün yaşayamayacağı koşullarda bile varlıklarını sürdürürler (Mason, 2001).

Spirulina platensis sahip olduğu yüksek protein, gamma-linolenik asit, B12 içeriği ve düşük yağ oranından dolayı ticari önemi olan bir mikroalgdir. *Spirulina*’nın antiviral, antikanser, antidiyabetik, antibiyotik, antioksidan, prebiyotik, probiyotik, bağışıklık sistemi güçlendirici, kardivasküler sistem koruyucu, hipokolesterolomik ve antialerjik etkileri bulunmuştur. Bu pozitif etkileri’nin nedeni olarak da içerdikleri biyoaktif maddelerin yüksekliği gösterilmiştir (Kargin ve ark, 2011). Tüm bunlarla birlikte *spirulina* ağır metallerin uzaklaştırılmasında görev almaktadır. Düşük maliyetli ve yüksek besin değeri nedeniyle, et üretimini ve kalitesini iyileştirmek için protein açısından zengin hayvan yemi olarak da kullanılmıştır (Finamore ve ark 2017). *Spirulina*’nın intestinal kanaldaki laktobasiller gibi probiyotik türlerin büyümesini teşvik ederek doğru mikrobiyal dengeyi yeniden sağladığı da yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Kargin ve ark, 2011). Yüksek antioksidan ve fenolik birleşik içeriğine sahiptir. *Spirulina*’nın antioksidan etkileri de ratlarda yapılan çalışmalardaki inflamasyon modellerinde bildirilmiştir (Finamore ve ark, 2017).

Spirulina takviyesinin izometrik kas kuvvetini ve dayanıklılığını arttırmadaki etkinliğini belirlemek amaçlı sporcular üzerinde yapılan bir çalışmada, diyetlerine ek olarak 8 hafta boyunca 2g/kg *Spirulina* alan gruplarda *Spirulina*’nın 8 hafta sonucunda izometrik kas kuvvetini ve izometrik kas dayanıklılığını arttırmakta etkili olduğu görölmüştür (Sandhu ve ark, 2010). Kronik Obstrüktif Akciğer hastalarında diyetle 2g/kg *Spirulina* eklenmesinin oksidatif stres, antioksidan durumu ve lipit profilinin karşılaştırıldığı bir çalışmada *Spirulina* alımının, GSH, Vit C seviyesini ve aktivitesini arttırdığı MDA, lipit hidroperoksit ve kolesterol serum içeriğini önemli ölçüde azalttığı ve *Spirulina*’nın HDL hariç tüm hedeflenen kan parametreleri üzerinde olumlu etkiye sahip olduğu görölmüştür (Md ve ark, 2015).

Bu çalışmada; *Spirulina platensis*in fonksiyonel ve teröpatik etkilerinin inflamatuvar bağırsak hastalıklarında uygulanacak tedavinin kalitesini arttırmak hedeflenmiş olup, uygun doz olarak belirlenen 2g/kg *Spirulina platensis*in; asetik asit ile deneysel kolit oluşturulmuş ratlarda, intrakardiyak kan örneklerinde ki total antioksidan, total oksidan ve paraoksonaz düzeylerine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) sindirim sisteminin bir kısmının veya tümünün kronik iltihaplanması ile bilinen klinik seyirleri olan ve aynı tedavi yöntemlerine verdikleri reaksiyonlar açısından benzerlik gösteren, ancak komplikasyonları, lokalizasyonları ve histopatolojileri farklı olan iki ana hastalıktan oluşmaktadır:

Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalıklarının (CH) patogenezi tam olarak açıklanamamakla birlikte yapılan çalışmalarda bu hastalıkların genetik, çevresel ve bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimle bağlantısı olduğu düşünülmektedir (Green ve ark, 2019). Her iki tip genellikle ciddi ishal, ağrı, yorgunluk ve kilo kaybı gibi semptomlarla seyretmektedir. Her iki hastalık da hastalığın derecesine göre (hafif, orta veya şiddetli) ve kolon'daki lokalize olduğu tutulum yerlerine göre isimlendirilir (McDowell ve Bhimji, 2018).

2.1.1. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları Etiyolojisi

İBH' nin etiyolojisi, bağırsak disbiyozuna, genetik duyarlılığa, diyet, yaşam tarzına, tütün kullanımına, maruz kalınan strese, enfeksiyonlara ve çeşitli ilaçların kullanımı gibi çevresel tetikleyicilerle birlikte bağışıklık faktörü gibi pek çok kaynağa dayandırılmaktadır (Chandrasekaran ve ark, 2019). İBH ciddi durumlar doğurabilir ve hayatı tehdit eden komplikasyonlara yol açarak yaşam kalitesini düşürmektedir.

2.1.2. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları Epidemiyolojisi

İBH kentsel kesimde kırsal kesimden daha fazla, Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da, etnik köken olarak Yahudilerde, ırk olarak beyaz ırkta daha fazla görülmektedir (Stepaniuk ve ark, 2015).

Son otuz yılda, Asya ülkelerinde inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) ve buna bağlı Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı prevalansı önemli ölçüde artmıştır. Son otuz yılda prevalansın artmasıyla İBH tedavisi için immün baskılayıcılar, anti-tümör nekrozis faktörleri, lökosit aferezi, anti-integrin antikoru gibi birçok yeni tıbbi tedavi yöntemi uygulanmış ve bu durum, remisyonu artırmaya ve komplikasyonları azaltmaya katkıda bulunmuştur (Masaki ve ark, 2018).

2.1.3. Belirti ve Bulgular

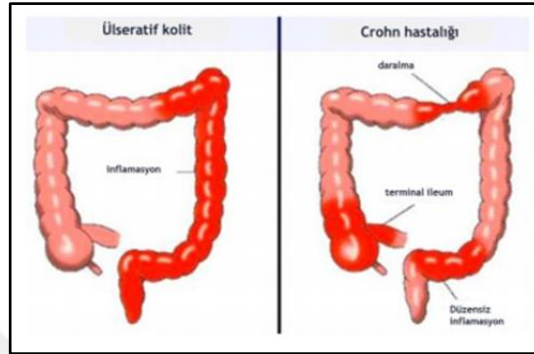
Büyüme geriliği, açıklanamayan ateş, yorgunluk ve bitkinlik sıklıkla hastalarda ortaya çıkan ilk belirtilerdir. İBH ile birlikte artralji (eklem ağrısı), eklem iltihabı, kas ağrıları, cilt değişiklikleri, oral lezyonlar, böbrek hastalığı, oküler değişiklikler ve karaciğer ve safra kanalı bozuklukları gibi ekstraintestinal semptomlar da görülebilmektedir (Derkacz ve ark, 2018). Aynı zamanda İBH hayatı tehdit eden kanama, sepsis ve bağırsak tıkanıklığına neden olabilir (Eguchi ve ark, 2018). Doğru tanı, hastalığın erken evrelerinde spesifik semptomların olmaması ile gecikebilmektedir (Derkacz ve ark, 2018).

2.1.4. Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) Etki Şekilleri

ÜK'de hastalar genellikle kanlı ishal ve anemi şikayetleri ile başvururken, CH'da kanlı ishal yanında karın ağrısı ve kilo kaybı sık görülmektedir. Ayrıca ÜK çoğunlukla kalın bağırsak bölümlerinden kolon ve rektuma affinite gösterip bağırsağın bu bölümlerinde lokalize olurken, CH hem kolon hemde ince bağırsaklarda lokalize olarak görülmektedir (Oktay, 2001; Bandzar ve ark, 2013).

Crohn hastalığı gastrointestinal sistemin herhangi bir kısmını içerebilir, ancak en çok terminal ileum ve perianal bölgeleri etkiler. Sonuçta Crohn, ağızdan anüse kadar olan tüm gastro intestinal kanal bölümlerine tutunabilmektedir (Y. Liu ve ark, 2017).

Crohn hastalığı uzun süre cerrahi tedavi denendikten sonra bile yüksek nüks oranlarına sahip zorlu bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Anastomoz nüksmesi, bağırsak perforasyonu veya apse oluşumu gibi bir çok komplikasyon ilk operasyondan 5 veya 10 yıl sonra çoğu zaman önlenemez (Masaki ve ark, 2018). Bu hastalıktada çoğu hastalıkta olduğu gibi tedavinin amacı farmakolojik, beslenme ve cerrahi tedavilerin tamamlayıcı kullanımı yoluyla histolojik ve klinik remisyona ulaşmaktır (McDowell ve Bhimji, 2018).



Resim 1. ÜK ve CH tutulum yerleri (Abdel-Daim ve ark, 2015).

2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller dış yörüngedeki elektronun ortak bağ yapmasını sağlamak için diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde kısa ömürlü, molekül ağırlığı düşük, reaktif ve kararsız yapıda olan organik veya inorganik moleküllerdir. Bu moleküllere serbest radikaller, oksidan moleküller veya reaktif oksijen partikülleri de denmektedir (McCord, 1993). Serbest radikallerin elektron yapısı onları yüksek derecede kararsız ve kimyasal olarak fazla reaktif hale getirir. Bu radikaller buldukları herhangi bir molekül ile etkileşime girerek, molekülden ya bir elektron alır ya da ona bir elektron vererek yapısını bozarlar. Serbest radikaller; organizmanın yapı elemanları olan lipidler, proteinler, karbonhidrat ve nükleik asitler gibi temel hücresel bileşenlerde hasara yol açabilme ve enzimlerin yapısını bozabilme özelliğine sahiptir ve tüm hücreler tarafından ekzojen ve endojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak aerobik metabolizma tarafından normal veya patolojik süreçler sonucu sürekli olarak üretilmektedirler (Cheeseman ve Slater, 1993).

2.2.1. Serbest Radikallerin Etki Sistemi

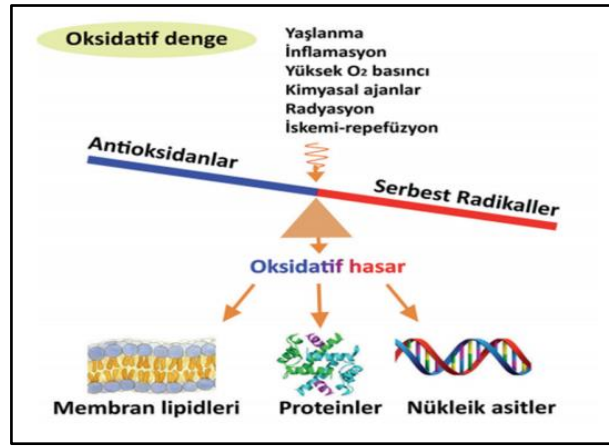
Serbest radikaller vücuttaki hücelere saldırır ve tahribata uğrattır. İlk saldırıda önce yeni bir serbest radikal oluşturur daha sonra kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlar. Biyolojik hasara yol açan radikal reaksiyonlar içinden en baskın olanı lipid peroksidasyonudur. Serbest radikaller, hücre zarındaki yağlardan birine saldırdığında yağ molekülü değişime uğratır. Bu değişim sonrası; hücre zarının yapısı ile fonksiyonları zarara uğrar, hücre zarı gıdaların, oksijenin ve suyun uzun süreli olarak transferini yapamaz ve kullanılan ürünlerin atılmasını düzenleyemez. Serbest radikal saldırısının devamında ise; hücre zarı yapısında bulunan yağlar parçalanır, hücre zarı yırtılır ve bu hücre bileşenlerinin dağılması ile sonuçlanır. Sonuç olarak; hücre içi bileşenlerin hücre dışına çıkması ve yayılması da etraftaki dokulara zarar verir. Serbest radikal saldırısı ve hücre zarının bozulması yağların oksidasyonu veya oksidatif hasar olarak adlandırılmaktadır (Tümay, 2010).

Özetle serbest oksijen radikalleri'nin üretimi ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin, serbest oksijen radikalleri üretiminin artması yönünde bozulması sonucu oksidatif stres meydana gelir.

Biyolojik sistemlerde, normalin üzerinde bir oksidatif stres oluşumunda, organizma bu duruma uyum sağlayacak şekilde yanıt oluşturmaktadır (Yesilkaya ve ark, 2000). Organizmadaki oksidan-antioksidan denge birçok faktöre bağlıdır fakat bunlar endojen ve ekzojen faktörler olmak üzere iki bölümde incelenebilir.

Endojen faktörler; doku hasarı, sedanter yaşam, kronik hastalıklar ve yaşlılık gibi durumlardan oluşurken, ekzojen faktörler; çevresel (sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon, diğer kirlenmeler), diyetel (doymamış yağ asitleriyle beslenme, fazla kalorili beslenme, alkol alımı gibi), ve ilaçlardan (antikanser ilaçlar, asetaminofen gibi glutatyon tüketen ilaçlar gibi) oluşmaktadır. Bu faktörler organizmada genellikle birlikte etkilidir (Orhan, 2011).

Radikal moleküller vücutta az veya belirli bir seviyede ve antioksidan savunma gücünde dinamik bir denge içinde kaldığı sürece bu durum organizma için yararlıdır. Örneğin; lökositlerle mikroorganizmaların öldürülmesinin ana mekanizması serbest radikal oluşumdur. Serbest radikaller, apoptozisin tetikleyicisi, habercisi ve etkin faktörü olarak görev yaparlar. Bu şekilde; aşırı hücre artışını önleyerek homeostaziste rol oynarlar (Rajendran ve ark, 2014).



Resim 2. Oksidatif denge.

Antioksidan savunmanın çökmesi sonucunda apoptozis tetiklenmektedir. Yapılan çalışmalarda yüzden fazla hastalığın patogenezinde, hastalığın serbest oksijen radikalleri ile ilişkili olduğu görülmüştür. Yeni doğan bebeklerde, doğumun ilk günlerinde oksijen radikallerine karşı anti-oksidatif kapasitenin yeterli olmaması sonucunda doğumdan hemen sonra meydana gelen oksijen tedarikindeki ani artışın, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine ve antioksidanların aşağı regülasyonuna yol açtığı da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Perrone ve ark, 2010).

2.2.2 Total Oksidan Kapasite

Birbirinden farklı oksidan çeşitlerinin serumdaki miktarları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir. Fakat pek çok oksidan molekülü olduğu için bunların tek başlarına ölçümü; emek, zaman, yoğun çalışma ve komplike teknikler gerektirir ve pahalıdır. Ve bu moleküllerin oksidan etkileri birbiri üzerine eklenebilir. Bütün bu etkiler göz önüne alındığında tek tek oksidan ölçümünün pratik olmadığı görülmektedir. Total oksidan durumu bize oksidanların toplam etkisi hakkında yol gösterici olabilmektedir. Serumdaki temel oksidanlar ise hidrojen peroksit ve lipit hidroperoksittir (Erel, 2005).

2.3. Total Antioksidan Kapasite

Total Antioksidan Kapasite; endojen ve gıdadan türetilmiş farklı antioksidanların, çeşitli yollar kullanarak, reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı mücadele eden toplam gücünün, serum / plazma seviyesi ve hücre / doku durumu şeklinde ifade edilmesidir (Tela, 2017).

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmayı koruyan enzimatik veya enzimatik olmayan pek çok antioksidan molekül vardır. Bunlar da oksidanlar gibi tek tek ölçülebilir. Fakat antioksidanların ayrı ayrı ölçümü yukarda oksidan ölçümünde bahsedildiği gibi birçok olumsuzluğu da beraberinde getirmektedir. Total antioksidan durum ölçümü bize serumdaki enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların toplam etkisi hakkında önemli bilgiler verir. Serumdaki antioksidan etkilerin % 48,9' unu total SH grupları, % 5' ini C vitamini, % 3,8' ini ürik asit, %1,9' unu E vitamini, % 1,7' sini bilirubin ve % 38,7' sini ise diğer antioksidanlar oluşturmaktadır (Erel, 2004). Son yıllarda yapılan çalışmalar tek tek antioksidanlardan çok, antioksidan savunmayı bir bütün olarak gösteren total antioksidan aktivitesi ölçümü üzerinde yoğunlaşmıştır (Öner, 2008).

2.3.1 Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücutta oluşan serbest oksijen radikallerin oluşumunu engelleyen, bu radikallerin temizlenmesini ve metabolize olmasını arttıran, vücutta oluşabilecek hasarları onaran veya önleyen, vücudun savunma mekanizmasında rol oynayan bu maddelere antioksidan madde denir. Antioksidan maddeler endojen, ekzojen ve gıda kaynaklı antioksidanlar olarak 3 grupta toplanırlar (Hung, 2007, İpar, 2011).

Endojen antioksidanlar; enzimatik (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon transferaz, mitokondriyal oksidaz sistemi) veya non-enzimatik (bilirubin, albumin, ürik asit, İ-tokoferol, seruloplazmin, transferin, ferritin, glutatyon) maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadır (Hung, 2007, İpar, 2011).

Ekzojen antioksidanlar; C vitamini, E vitamini, folik asit, N-asetilsistein, mannitol, adenozin, demir şelatörleri, kalsiyum kanal blokerleri ve non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar olarak sayılabilir (Hung, 2007, İpar, 2011).

Gıda kaynaklı antioksidanlar; gıdaların yapısında doğal olarak bulunur. Gıdalardaki kimyasal reaksiyonlar (Maillard reaksiyonu) sonucu veya doğal kaynaklardan ekstrakte edilerek gıdalara katılabilirler. Gıdalarda bulunan başlıca antioksidanlar ise fenolik bileşiklerdir (Öğüt, 2014). Üzüm çekirdeği, biberiye, peyniraltı suyu tozu, söğüt otu, pancar kökü ve kuersetin örnek olarak verilebilir (Ekici ve ark, 2014).

Vücudun antioksidan savunma sistemini etkileyen birçok faktör vardır. Başlıcaları çevre kirliliği, stres, düşük kaliteli gıdalar, dengesiz beslenmedir ve bu faktörler serbest radikal oluşumunu artırır. Bu gibi durumlarda fizyolojik olarak üretilen antioksidanlar serbest radikalleri nötralize etmek için yeterli değildir. Nötralizasyonu sağlamak için diyetin antioksidan içeren gıdalarla zenginleştirilerek hücresel tepkinin artması sağlanır ve dolayısıyla oksidatif stresin azaltılması sağlanmış olur. Örneğin, C vitamini gibi esansiyel vitaminlerin birçok farklı reaktif oksijen türü üzerinde baskılayıcı ve azaltıcı etkisi vardır ve bunlar insan vücudu tarafından sentezlenmez. Epidemiyolojik çalışmalarda, antioksidan bakımından zengin sebze meyve tüketenlerin daha iyi sağlık durumlarının olduğu saptamıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) epidemiyolojik çalışmalar sonucunda günlük en az 400g meyve ve sebze tüketimi önermektedir. Vücudu oluşturan hücrenin her bir kısmı farklı bir antioksidan tarafından korunur. Bu nedenle besin çeşitliliği serbest radikallerle savunmada oldukça önemlidir (İpar, 2011).

Örneğin, bazı gıda maddeleri hücre duvarının dışında bulunan aynı zamanda hücre zarını çevreleyen kanın içindeki serbest radikallere karşı koruma sağlayarak kanın, hücre içi sıvıya karışmasını engeller. Sonuç olarak hem ekzojen hem de endojen antioksidanlar oldukça önem taşır (İpar, 2011).

Bazı antioksidantlar ve koruyucu etkileri şunlardır; C vitamini, E vitaminini korur ve hücre dışı sıvıyı yeniler. E vitamini hücre duvarını korur. Tiyoller hücrenin içini korur (lipoik asit ve glutatyon gibi kükürt içeren bileşikler). Koenzim Q10, mitokondriyi korur ve yaşlanmayı yavaşlatır. Flavonoidler DNA, elastin ve kollajen dokusunu korur, böylece yaşlanma sürecini yavaşlatır. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz enzimleri, hücrelerdeki serbest radikalleri nötralize ederler. Dışarıdan alınamazlar, vücut tarafından üretilen endojen antioksidanlardır. Bununla birlikte vücudun, diyet selenyum, bakır, çinko ve manganez gibi eser minerallere de ihtiyaçları vardır (Diagnostics, 2012).

2.3.2. Antioksidan Savunma Mekanizması

Antioksidanlar, oksidan maddelerin etkilerini dört mekanizma ile ortadan kaldırırlar; (Narin, 2012)

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme etkisi antioksidan enzimler tarafından yapılır.

2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme işlemidir. Bu işlem vitaminler ve flavonoidler tarafından gerçekleştirilir.

3. Onarma etkisi: Nükleik asitler gibi, reaktif oksijen azotları ile yıkılmış olan biyomolekülleri onarırlar. Bu grupta DNA onarım enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz enzimleri yer alır.

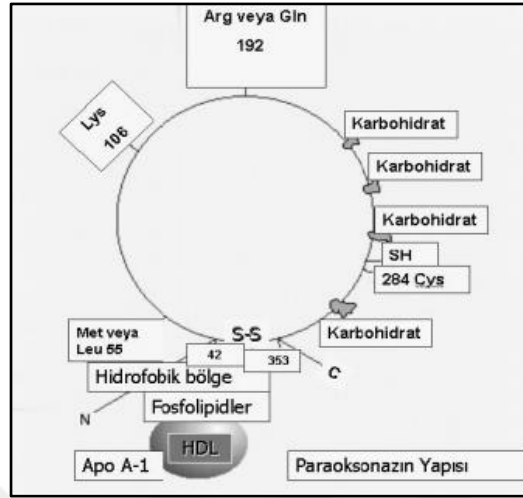
4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen bu etki mekanizması serum plazma, hemogloblin ve E vitamini tarafından yapılır (Orhan, 2011).

2.4. Paraoksonaz

İnsan serum paraoksonaz enzimi HDL ile ilişkili ve antioksidan fonksiyona sahip olduğu düşünülen bir enzimdir ve kan dolaşımında antioksidatif özellikler gösterir (Précourt ve ark, 2011, Ekmekçi ve ark, 2004). Paraoksonaz (PON) (arildialkil fosfataz, [EC 3.1.8.1]) karaciğerde sentezlenen, organik fosforlu bir insektisit (böcek öldürücü) olan parationun aktif metaboliti paraoksonu hidroliz etme yeteneğine sahip bir serum esteraz ve kalsiyum bağımlı aromatik bir hidrolazdır (Juretić ve ark, 2001). Paraoksonaz için insan geni HUMPONA'dır. PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi vardır. İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunur. PON1 geni ilk bulunan ve üstünde en çok çalışma yapılan gendir.(Deakin ve James, 2004). PON'un doğal substratı kesin olarak belli değildir. İnsan serum paraoksonazı (PON1) minimum 43000 dalton ağırlığında, 354 amino asitten oluşan bir glikoprotein yapıdır ve fiziksel olarak HDL ile bağlantılıdır (Memişoğulları ve Orhan, 2010).

PON1'in 106. kodonunda (Protein sentezi için gerekli bilgiyi taşıyan mRNA da bir amino asidi temsil eden üç nükleotitten oluşan gruptur.) lizin bulunurken, PON2 ve PON3'te lizin bulunmamaktadır. PON1 ve PON3 karaciğer ve plazmada bulunurken, PON2'nin karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında özellikle de bu organların endotel tabakasında bulunduğu ve aortik düz kas hücrelerinde de yer aldığı bilinmektedir (Öztürk, 2008).

Paraoksonaz enzimi, karaciğer, böbrek, ince bağırsak olmak üzere birçok dokuda ve serumda da bulunmaktadır (Mackness ve ark, 1998). Her üç PON da oksidatif dengeyi sağlamada ve aterosklerozun önlenmesinde önemli rollere sahiptir (Précourt ve ark, 2011).



Şekil 1. Paraoksonaz enzim yapısı.

PON1'in başlıca iki fonksiyonu bulunmaktadır: PON1 hücre membranının yüzeyinde bulunur, lipoproteinler sayesinde HDL'ye geçer bu sayede LDL ve HDL'nin oksidasyondan korunmasında katkı sağlar, ayrıca hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna karşı antioksidan etkiye ve antiinflamatuvar süreçte önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Bunlara ek olarak bir pestisid olan paraokson gibi organofosfatlı bileşiklerin detoksifikasyonuna katılır (Mackness ve ark, 1998).

PON1'in HDL'ye eklenmesi ile HDL'de lipid peroksit ve aldehit birikiminin %95'e kadar azaldığı gösterilmiştir. Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil ayrıca hücrenin yapısındaki lipidler de lipid peroksidasyonuna uğramaktadır. Paraoksonaz; lipid peroksitlerinin hızla etki eden olumsuz etkilerini nötralize eder ve hücre membranları için koruyucu etki gösterir. Paraoksonaz enzim aktivitesinin; miyokard enfarktüsü, ailesel hiperkolesterolemi, diyabet, kronik renal bozukluklar, inflamatuvar bağırsak hastalıklarında ve daha pek çok hastalık durumunda azaldığı belirtilmiştir (Ekmekçi Balcı ve ark, 2004).

2.4.1. Paraoksonaz Seviyesine Etki Eden Etmenler

Genetik olmayan faktörler; diyet, akut faz reaktanları, gebelik, hormonlar, sigara kullanımı serum PON1 düzeylerini etkiler (Biasioli ve ark, 2003; Miller, 2009) Yine yapılan bir çalışmada PON1 enzim aktivitesi ve yaş arasındaki ilişki incelenmiş ve PON1 enzim aktivitesinin yaştan artışına bağlı olarak azaldığı ortaya konmuştur (Seres ve ark, 2004). Paraoksonaz aktivitesi, prematüre bebeklerde ve yeni doğanlarda, yetişkin düzeyinin yaklaşık yarısı kadardır. Doğumdan bir yıl sonra erişkindeki düzeyine ulaşır (Mackness ve ark, 1998). Ayrıca inflamasyon ve oksidatif stresin arttığı durumlarda da PON1 aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (Précourt ve ark, 2011). Sonuç olarak yapılan çalışmalarda Paraoksonaz düzeyi ile oksidatif stres arasında ters orantılı bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (Baskol ve ark, 2006)

2.5. Spirulina

Spirulina, protein, vitamin ve mineral bakımından zengin olan Oscillatoriaceae yosun ailesi içinde farklı suşları bulunan çok hücreli gram-negatif siyanobakteridir (El-Sheekh ve ark, 2014). Besin ögesi olarak kullanılan ve hikayesi Azteklere kadar uzanan eskiden beri varlığı bilinen dolayısıyla aslında yeni olmayan bir mavi-yeşil algdır (Selmi ve ark, 2011). Bir gıda çeşidi olarak kullanılan spirulina istenmeyen kilo kaybını gidermek, dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu, alerjik rinit (allerji kaynaklı burun iltihabı), hipertansiyon, diyabet, stres, yorgunluk, anksiyete ve depresyon gibi çeşitli tıbbi koşulları iyileştirmek için tıbbi destek olarak da kullanılır (Bethesda, 2012).

2.5.1 Spirulina Hasadı

Spirulina tipik olarak, yüksek alkaliliğe sahip ılık açık göllerde yetişir ve toksin üreten diğer mavi-yeşil alglerle kirlenebilir (Bethesda, 2012). Spirulina'nın insanlar tarafından en çok tüketildiği bölgeler arasında Afrika'daki Çad Gölü ve Meksika'daki Texcoco Gölü bulunmaktadır. Spirulina ince ağlar kullanılarak toplanır ve yenilebilir mavi-yeşil bir kek haline getirilir. Hasadı özellikle Çad Gölü kıyılarında yaşayan Kanembu nüfusu ile popülerdir. Yosunlar kil kaplarda toplanır ve bezle süzülür.

Daha sonra daha uzun süre depolanması için güneş ışığı altında kurutulur ve yerel pazarlarda satılır (Sánchez ve ark, 2019). Günümüzde, besin yetersizliği bulunan Afrika bölgelerinde önemli bir protein kaynağı olmaya devam etmektedir. Bölgedeki spirulina tüketen halkların diğer bölgelerde yaşayan yerlilere göre daha uzun boylu ve sağlıklı oldukları bildirmiştir (Kargin ve ark, 2011).

2.5.2. Spirulina Bileşimi

Spirulina'nın genel bileşimi (kuru ağırlık yüzdesi) şu şekilde özetlenebilir: %50 -%70 protein, %15 -%25 karbonhidrat, %6 -%13 lipit, %4.2 -%6 nükleik asitler ve %2.2 -%4.8 minerallerden oluşur (Reboleira ve ark, 2019). Kuru ağırlığının büyük çoğunluğu proteinden oluşan Spirulina; et, yumurta, süt (kurutulmuş), tahıl ve soya fasulyesi gibi birçok makrobesinden daha zengin olan mikrobiyal kaynaklı zengin protein içeriğine sahiptir (%65 ila %70) (Lupatini ve ark, 2017).

Bunun yanı sıra vitaminler, fukosiyanin, beta-karoten çoklu doymamış yağ asitleri, linolenik asit, kalsiyum ve demir bakımından da oldukça zengindir. Bünyesinde barındırdığı mavi-yeşil pigment (phycocyanin), spirulina kuru ağırlığının %20'sini oluşturur ve bahsi geçen mavi yeşil pigmentin tıbbi durumlarda olumlu etkisi olan aktif bileşen içeriğine sahip olduğu öne sürülür. Hayvan deneylerinde, spirulina antioksidan, anti-inflamatuar ve analjezik etkiler göstermiştir ve yüksek dozlarda bile toksisite etkisi göstermeden iyi tolere edilmiştir. İnsanlarda ki etkilerine yönelik sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır, ancak herhangi bir tıbbi durumun tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmamıştır (Bethesda, 2012). Yapılan çalışmalarda Spirulinanın sulu ekstraktının oksidatif hasar indirgeme sürecinde kritik bir rol oynadığı rapor edilmiştir. Yara iyileşmesi dinamik ve karmaşık bir süreçtir. Dermal fibroblastların proliferasyonu ve göçü, yara iyileşmesi için çok önemlidir. Son çalışmalar, *Spirulina platensis*'in özlerinin yara iyileşmesi için olumlu bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Liu ve ark, 2019).

2.5.3. Spirulina Tüketiminin Yararları

S.platensis ve *S.maxima* içinde bulunan besin maddeleri bilim camiasında büyük ilgi görmektedir. Hücre duvarında selüloz içermediğinden dolayı bağırsaklardan emilimi hızlıdır buna bağlı olarak bağırsak fonksiyonlarını ve sindirim hızını da arttırdığı bildirilmiştir. İnsan gastrointestinal sistemindeki *Lactobacillus* popülasyonu Spirulina tüketimi ile artar. Bunun anlamı: Bağışıklık sistemini uyararak yiyeceklerin sindirimi ve emiliminde iyileşme, bakteriyel enfeksiyonlara karşı bağırsak korumasını sağlar.

Araştırmalar, 4 hafta boyunca Spirulina tüketiminin, insanlarda serum kolesterol seviyesini yaklaşık olarak %4,5 oranında azalttığını göstermiştir ve dört hafta sonra vücut ağırlığında da yaklaşık olarak 1.4 ± 0.4 kg azalma olduğu görülmüştür.

B-karoten, kansere neden olan hücreleri değiştiren serbest radikallere karşı koyan en etkili maddelerden biridir. Harvard Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde hamsterler üzerinde oral kanser tümörleri üzerinde yapılan çalışmalarda, Spirulina'dan elde edilen β -karoten ekstreleri tüketildiğinde ağız kanserinde azalma olduğu görülmüştür. Bu da Spirulina özünün, makrofajlarda tümör nekroz faktörünü indüklediğini ve olası bir tümöre karşı tümör imha mekanizmasının olduğunu gösterir.

Spirulina'nın, uyuşturucu kullanımı veya ağır metallere maruz kalma sonrasında ortaya çıkan ve çernobil çocuklarında Sezyum-137 ve Strontium-90 radyasyonu nedeniyle oluşan karaciğer hasarlarını azalttığı görülmüştür (Sánchez ve ark, 2019). Yüksek A vitamini içeren Spirulina, göz hastalıklarını önlemede oldukça etkilidir. Yüksek B12 ve demir içeriği anemi tedavisinde oldukça etkilidir. İçerdiği linolenik asit; adet öncesi sendromu azaltmakta, çocuklarda egzama tedavisinde oldukça etkindir. Ayrıca kalp hastalığı, Parkinson hastalığı, yetersiz beslenme, skleroz ve yaraların tedavisi üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Meksika'da, Spirulina şekerleri zenginleştirmek için kullanılır. Avustralya ve Yeni Zelanda'da bu maddenin içecekleri pazarlanmaktadır. Japonya, Hindistan ve Singapur'da Spirulina ile zenginleştirilmiş mezeler hamile kadınlara, çocuklara ve yaşlılara özel olarak satılmaktadır. Spirulina sadece yiyecek değil aynı zamanda Japon sakızlarında da doğal bir renklendiricidir. İsveç'te Spirulina ile zenginleştirilmiş düşük kalorili ekmek satılmaktadır (Sánchez ve ark, 2019).

2.5.4. *Spirulina Platensis*'in Canlılarda Kullanımının Zararları

Yapılan beslenme ve detaylı güvenlik çalışmalarında *Spirulina*'nın insanlarda, farelerde, balıklarda, istiridyelerde, kanatlılarda istenmeyen veya toksik hiçbir etkiye sebep olmadığı bildirilmiştir. Akut/kronik toksisite veya üreme ile ilgili hiçbir negatif etkisi de yapılan çalışmalarda bulunamamıştır (Kargin ve ark, 2011). Fakat yapılan çalışmalarda *Spirulina*'nın besin ilaç etkileşimine sebep olduğu bildirilmiştir. Bu etkilerden birkaçı; uykusuzluk, nedeni belirsiz gastrik problemler, kas hasarı (rabdomiyaliz), anafilaksi, astım, dermatitdir. *Spirulina*, özellikle immün baskılayıcı, antihipertansif ve lipid düşürücü ilaçlar gibi sitokrom P450 enzimlerinin substratlarıyla tedavi edilen hastalarda dikkatle tüketilmelidir (Finamore ve ark, 2017).

2.5.5. *Spirulina Platensis* Üzerine Yapılan Çalışmalar

Yapılan bir çalışmada; ilerleyen yaşa bağlı anemi ve yaşa bağlı olarak gelişen bağışıklık sisteminin kademeli olarak bozulmasını önlemeye yönelik, anemi (HGB düzeyleri, kadınlar için <12 g / dl ve erkekler için <13 g / dl) tanısı almış olan 50 yaş üstü 40 bireyin (20 Kadın-20 Erkek) 12 haftalık bir süre için günde 6 tablet 500 mg *Spirulina* almaları sağlanmış ve kan örnekleri 0, 6 ve 12. haftalarda toplanmıştır. 12 haftalık çalışma süresi boyunca, hem erkek hem de kadın deneklerde ortalama MCH değerlerinde sürekli bir artış olduğu görülmüştür. Ek olarak, MCV ve MCHC erkek deneklerde de sürekli artmıştır. Bu çalışma sonucunda daha ileri yaştaki kadınların erkeklerden *Spirulina* takviyelerinden daha hızlı bir şekilde faydalandığı görülmüştür. Araştırmacılar *spirulina* tüketen bireylerde ortalama korpusküler hemoglobin sayısı, hacmi ve konsantrasyonunda bununla birlikte beyaz kan hücre sayısında sabit bir artış olduğu doğrulanmıştır. En önemli sonuç ise, *spirulina* ile beslenelerde normal diyetle beslenen bireylere göre çalışma döneminde, toplam enerji, toplam protein, toplam yağ, toplam karbonhidrat, demir, glutatyon, folat, E vitamini, çinko, A vitamini, B1 vitamini ve diğer vitaminler bakımından önemli bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Çalışma sonunda *Spirulina* tüketiminin yaşlı kişilerde anemiyi iyileştirme potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Selmi ve ark, 2011).

Spirulina'nın gıda zenginleştirici değerini ve pişirmenin *spirulina* üzerindeki etkisini anlamak amacıyla Bolanho ve ark. % 2–5% *Spirulina platensis* kuru tozu ile takviye edilmiş kurabiye formülasyonu hazırlamışlardır.

Hazırlanan formülasyon'un sahip olduğu bileşenlerin değerlendirildiği, ayrıca formülasyonun antioksidan potansiyeli ve etkinliğinin değerlendirdiği bu çalışmada; spirulina eklenmesi ile protein içeriğinde %20'ye kadar artış olduğu görülmüştür. Bununla birlikte spirulinanın eklenmesi diyetteki toplam minerallerde ve lif içeriğinde de artışa neden olmuştur. *Spirulina platensis* kuru toz ilavesiyle fenolik içerik ve antioksidan kapasitenin de sırasıyla %64 ve %37 artış gösterdiği belirtilmiştir (Vázquez-Velasco ve ark, 2014). Yapılan bir diğer çalışmada Spirulina takviyesinin 52 dislipidemik hastanın lipid profili üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. 12 hafta boyunca her gün piyasada satılan 1 g/kg spirulina içeren tablet kullanılması sonucunda bireyin kan serumundaki trigliseritlerin, LDL konsantrasyonlarının, toplam kolesterol oranının ortalama düzeylerinde önemli bir azalma olduğu bildirilmiştir (Mazokopakis ve ark, 2014).

Korede 70 kadın (yaşları 60 ve üzeri) üzerinde yapılan bir çalışmada ise 16 hafta boyunca rastgele 2 ayrı gruptan birine 8g/gün spirulina takviyesi uygulanmış olup diğer gruba ise spirulina takviyesi uygulanıyormuş gibi yapılarak grup üzerinde placebo etkisi oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda spirulinanın önemli derece kolesterol düşürme yeteneğinin olduğu doğrulanmıştır. Bu da artan plazma IL-2 ve azalmış IL-6 konsantrasyonları ile sonuçlanmıştır. Ayrıca kadın denekler artan süperoksit dismutaz aktivitesi göstermiştir (Park ve ark, 2008).

Diğer kronik hastalıklarda olduğu gibi, son yıllarda nutrasötiklerin ve fonksiyonel gıdaların aterosklerozun önlenmesinde rol oynayabileceği oldukça tartışılmaktadır. Doğal ürünler genellikle uzun süreli tedavilerin yan etki insidansını azaltır.

Son yapılan çalışmalar sonucu Spirulina bu gibi bir terapötik yaklaşım için birincil aday haline gelmiştir, ancak etkileri hakkında somut araştırmalar hala yeterli değildir (Wan ve ark, 2016).

Spirulina'nın hepatik sağlık üzerindeki etkisinin araştırıldığı yeni yapılan çalışmalar da mevcuttur. 2005 yılında yapılan bir çalışmada ilk kez *Spirulina platensis*'ten ve bir diğer mavi-yeşil alg olan *Dunaliella salina*'dan ekstrakte edilen karotenoidlerin hepatoprotektif yeteneklerinin olduğu ortaya konmuştur. Spirulinadan ve *Dunaliella salina*'dan izole edilen karotenoidler zeytinyağı ile karıştırılarak Wistar sıçanlarına günde vücut ağırlığının kilogramı başına 100 µg/kg karotenoid dozajında uygulandıktan sonra karotenoidlerin hepatoproteksiyon derecesini tahmin etmek için serum transaminazları, serum alkalik fosfataz, toplam albümin ve toplam protein ölçülmüştür. Sonucunda ise spirulina özünden elde edilen karotenin, kontrol olarak kullanılan sentetik β-karotenden daha fazla hepatik koruma sağladığı sonucuna varılmıştır.

Fakat Dunaliella salina'dan elde edilen ksantofiller ile birlikte karışık karotenoidlerin, Spirulina'dan elde edilen doğal-karoten ve elde edilen diğer sentetik-karoten ile karşılaştırıldığında daha fazla aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. (Murthy ve ark, 2005). Yapılan bu ve buna benzer çalışmalar, spirulina ve içerdği bileşiklerin hepatik sağlık üzerine etkilerinin incelendiği daha fazla araştırmanın yapılmasını tetiklemiştir. Bu konuda yapılan deneysel çalışmalarda; klorür, sislantin, karbon tetraklorür ve cıva gibi toksik bileşiklere maruz bırakılan deneklerde spirulina'nın hepatik iyileşme / koruma kapasitesi değerlendirilmiştir. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada cıva klorür uygulanan ratlarda hepatik toksisite parametrelerindeki artış incelenmiştir. Ratlara spirulina'nın uygulanmasından sonra plazma hepatik enzimleri, kolesterol, trigliseritler, LDL, hidroperoksit ve histopatolojik değişikliklerdeki artış Spirulina tarafından önemli ölçüde azaltılmıştır (Bashandy ve ark, 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar

Çalışmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda bulunan spektrofotometre Thermo Scientific Multiskan GO User Manual Rev. 1. 2, Cat. No. N10588, buzdolabı /derin dondurucu (Samsung RL62ZBSW), terazi (Shimadzu EB-2200 HU) ve hassas terazi (ADAM Equipment NBL 214 NBL 423) kullanıldı.

Çalışmada araç ve gereç olarak mikropipetler (Eppendorf 10 µl, 10-100 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl, 1000-5000 µl ve pudralı cerrahi eldiveninden (Beybi) yararlanıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışma kapsamında %4' lük asetik asit (MERCK 100063.2511), NaCl (sodyum klorür) (Merck, 6400), Ketamin (Alfasan %10 international B.V. Holland), Ksilazin (Alfazyne %2 Alfasan Holland) kullanıldı. Sıçanlara verilecek olan besin desteği Ege Üniversitesinden (EBİLTEM) temin edildi.

3.1.3. Hayvan Materyali

Çalışmada kullanılan sıçanlar, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarından temin edildi. Çalışmada ağırlıkları 300-400 gram arasında değişen 28-32 haftalık 32 adet *Wistar-Albino* dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar şeffaf kafeslerde tutuldu ve çalışma süresince standart rat yemi ve çeşme suyu *ad libitum* verildi. Sıçanlar rastgele 3 gruba ayrıldı .



Resim 3. Araştırma kapsamında kullanılan sıçanlar ve deneysel gruplar (n=32).

3.2. Yöntem

Çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu' nun 29.08.2018 tarih; 64583101/2018/093 numaralı onayı ile Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde, gerçekleştirilmiştir.

Deneysel model grupları randomize olarak 1. 2. gruplar 10, 3. grup 12 rattan (olası kayıpları göz önünde bulundurularak) oluşmak üzere toplam 3 gruba ayrıldı:

1. Grup (kontrol grubu n=10) ; Sıçanlara çalışma boyunca (10 gün) oral gavaj ile her gün aynı saatte 1 ml saline serum fizyolojik (%0.9'luk NaCl) uygulandı. Çalışma süresince ratlar standart yem + su ile beslendi.
2. Grup (spirulina grubu + kolit grubu n=10) ; İlk 5 gün boyunca sıçanlara oral gavaj ile her gün aynı saatte 2 g/kg spirulina ekstraktı verildi. 5.gün (çalışma günü) sıçanlara barsak boşaltma işlemi, defekasyon refleksini uyarmak üzere hayvanı kuyruğundan tutup arka ayakları üzerinde zıplatılarak yaklaşık 20 dk uygulandı. Kolit yapılacak ratlar uygulama yapılmadan yaklaşık 12 saat önce aç bırakıldı. Bu işlem bittikten sonra sıçanlar, 50 mg/kg ketamin (Alfasan %10 international B.V. Holland) ve 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne %2 Alfasan Holland) anestezi altına alındı ve rektal yoldan 1ml %0.9 NaCl içerisinde %4'lük asetik asit (MERCK 100063.2511) çözeltisi hazırlanarak rektum yukarıda tutulacak şekilde intrakolonik olarak bir kez 8 cm içeri uygulandı. Solüsyonun rektumdan anüs yönünde geri kaçmasını önlemek amacı ile 1 dakika kadar rektum yukarıda kalacak şekilde beklendi. Uygulama bittikten sonra sıçanlar ayrı ayrı numaralanmış ve gruplara ayrılmış olarak kafeslerine bırakıldı.

Devam eden 5 gün boyunca sıçanlara 2 g/kg spirulina ekstraktı verilmeye devam edildi. Çalışma süresi boyunca bütün sıçanlar standart yem + su ile beslendi.

3. Grup (kolit grubu n=12) ; İlk 5 gün boyunca sıçanlara oral gavaj ile her gün aynı saatte 1ml saline serum fizyolojik (%0.9'luk NaCl) verildi. 5.gün (çalışma günü) sıçanlara barsak boşaltma işlemi, defekasyon refleksini uyarmak üzere hayvanı kuyruğundan tutup arka ayakları üzerinde zıplatılarak yaklaşık 20 dk uygulandı. Kolit yapılacak sıçanlar uygulama yapılmadan yaklaşık 12 saat önce aç bırakıldı. Bu işlem bittikten sonra sıçanlar, 50 mg/kg ketamin (Alfasan international B.V. Holland) ve 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne % 2 Alfasan Holland) anestezisi altına alındı ve rektal yoldan 1ml %0.9 NaCl içerisinde %4'lük asetik asit (MERCK 100063.2511) çözeltisi hazırlanarak rektum yukarıda tutulacak şekilde intrakolonik olarak bir kez 8 cm içeri uygulandı. daha sonra solüsyonun rektumdan geri kaçmasını önlemek amacı ile 1 dakika kadar rektum yukarıda kalacak şekilde beklendi. Uygulama bittikten sonra sıçanlar ayrı ayrı numaralanmış ve gruplara ayrılmış olarak kafeslerine bırakıldı.

Devam eden 5 gün boyunca sıçanlara 1ml saline serum fizyolojik oral gavaj ile verildi (%0.9'luk NaCl). Çalışma süresi boyunca bütün sıçanlar standart yem + su ile beslendi. Onuncu günde tüm gruplarda bulunan sıçanlar 50 mg/kg ketamin (Alfasan international B.V. Holland) ve 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne % 2 Alfasan Holland) anestezisi altına alınarak sakrifiye edildi. Enjektörle 5ml intrakardiyak kan örneği alınarak toplam oksidan, toplam antioksidan ve paraoksonaz seviyelerinin belirlenmesi için 5 ml vakumlu jelli tüp (Sarı Kapak) içerisine alındı ve -20°C' de muhafaza edildi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilimdalı Laboratuvarında Hettich Universal 320R modeli cihazda santrifüj edildi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalının Laboratuvarındaki Thermo Scientific Multiskan GO User Manual Rev. 1.2, Cat. No. N10588 model spektrofotometre cihazı kullanılarak toplam oksidan, toplam antioksidan ve paraoksonaz seviyeleri ölçülmek üzere ELISA testi uygulandı.

3.2.1. Kan Parametrelerinin Analizi

3.2.1.1. Total Antioksidan Kapasite (TAS) analizi

Total antioksidan durum ölçümünde, total antioksidan kapasite (TAS) kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Total antioksidan kapasite (TAS) ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, spektrofotometre (Thermo Scientific Multiskan GO User Manual Rev. 1.2, Cat. No. N10588) 37°C'ye ayarlanarak, 500 mL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 mL serum karıştırılıp 660 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 75 mL reaktif 2 (renkli ABTS solüsyonu) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 660 nm'de absorbans ölçüldü. Standartlar, serum yerine 0 (standart 1) ve 1 (standart 2) milimolar Trolox ekivalan/ litre (mmol Trolox Eq/L) konsantrasyonlarındaki kitin standart çözeltileri kullanılarak çalışıldı. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi (ΔAbs) hesaplandı.

Serumlardaki total antioksidan kapasite (TAS) düzeyleri (mmol Trolox Eq/L) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{Total antioksidan kapasite (TAS)} = [(\Delta\text{Abs standart 1}) - (\Delta\text{Abs numune})] / [(\Delta\text{Abs standart 1}) - (\Delta\text{Abs standart 2})]$$

Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılmıştır. Sonuçlar mmol Trolox equiv./L olarak ifade edilmiştir. Yöntemin prensibi, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanmaktadır (Erel, 2005).

3.2.1.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) analizi

Total oksidan kapasite (TOS) kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Total oksidan kapasite (TOS) ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, (Thermo Scientific Multiskan GO User Manual Rev. 1.2, Cat. No. N10588) 37°C'ye ayarlanarak, 500 mL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 mL serum karıştırılıp 530 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 25 mL reaktif 2 (pro-kromojen solüsyon) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 530 nm'de absorbans ölçüldü.

İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbands değişimi (ΔAbs) hesaplandı. Serumlardaki Total oksidan kapasite (TOS) düzeyleri (mmol $\text{H}_2\text{O}_2\text{Eq/L}$) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{Total oksidan kapasite (TOS)} = [(\Delta\text{Abs serum}) / (\Delta\text{Abs standart})] \times 20$$

Kalibratör olarak hidrojen peroksid kullanılmıştır. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{equiv./L}$ olarak ifade edilmiştir. Yöntemin prensipi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanmaktadır (Erel, 2005).

3.2.1.3. Paraoksonaz analizi

Paraoksonaz kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Paraoksonaz ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, (Thermo Scientific Multiskan GO User Manual Rev. 1.2, Cat. No. N10588) 37°C 'ye ayarlanarak, 300 μL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 15 μL serum karıştırılıp 412 nm'de absorbands ölçüldü. Karışıma 15 μL reaktif 2 eklenerek Kinetik hızlanma noktasındaki değerler 5 dk inkübasyondan sonra tekrar 412 nm'de absorbands ölçüldü. PON1 aktivite ölçüm yöntemi iki farklı sıralı reaktiften oluşur: birinci reaktif, PON1 enziminin kofaktörü olan kalsiyum iyonu içeren Tris tamponudur. İkincisi, paraoksonu hidrolize eden ve 412 nm'de absorbandsı arttıran paraokson etildir. 412 nm p-nitrofenolde absorbandsın doğrusal artışı, paraoksondan üretilen toplam hidroliz oranından çıkarıldı (Eckerson, Wyte, & La Du, 1983).

Sonuncu ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbands değişimi (ΔAbs) hesaplandı. Serumlardaki Paraoksonaz düzeyleri (U/L) aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{Paraoksonaz} = [(\Delta\text{Abs serum}) / \text{toplam ölçüm süresi}] \times \text{Faktör (3445)}$$

3.2.1.4 OSI (ENDEKS)

Total oksidan kapasite (TOS) düzeylerinin, Total antioksidan kapasite (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilen OSİ (Endeks) hesaplanırken, TAS testinin birimindeki mmol değeri total oksidan kapasite (TOS) testindeki gibi µmol birimine çevrilmiştir (Erel, 2005). Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$OSİ = \frac{TOS \text{ } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equiv./L}}{TAS, \text{ } \mu\text{mol Trolox equiv./L}} \times 10$$

3.2.1.5 Test Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Referans Veriler

Tablo 1. Total antioksidan referans değerleri.

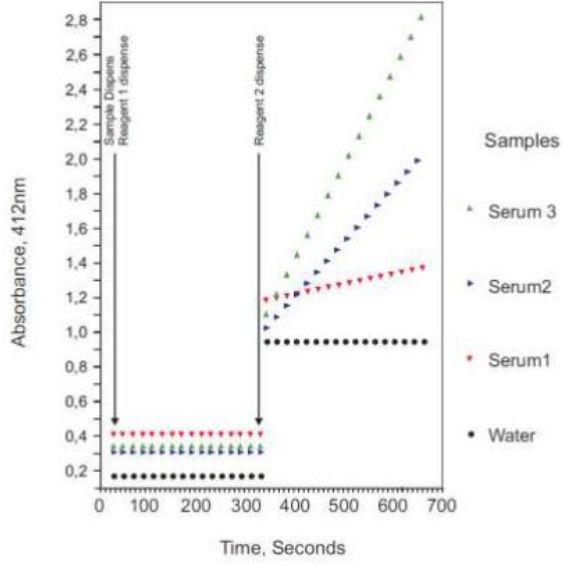
Tas referans değerleri (mmol Trolox equiv. / L)		
>2,0		Very good
1,45	2,00	Normal
1,20	1,45	Tolerable
1,00	1,20	Low Antioxidant Level
<1,20		Very Low Antioxidant Level

Tablo 2. Total oksidan referans değerleri.

Tos referans değerleri (µmol H ₂ O ₂ Equiv./L)		
<5,00		Very Good
8,00	5,00	Normal
12,00	8,00	High Oxidant Level
>12,00		Very High Oxidant Level

Rel Assay TAS ve TOS test sonuçları tablolara göre bağımsız olarak değerlendirilebilir (Diagnostics, 2012).

PARAOKSONAZ



Şekil 2. Testin reaksiyon kinetiği.

Tablo 3. Paraoksonaz analizlerinin hassas değerleri (Diagnostics, 2012).

	Paraoksonaz Analiz Varyasyon Katsayısı, % CV	Tuzla Uyarılmış Paraoksonaz Test Varyasyon Katsayısı,
Yüksek aktiviteli sera havuzu.	4.1	4.9
Orta aktiviteli sera havuzu.	1.7	1.1
Düşük aktiviteli sera havuzu.	1.5	1.5

3.2.2. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistik analizler SPSS 20.0 yazılım programı aracılığıyla yapılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi kullanılarak incelenmiştir. Tanımlayıcı analizler ortalama $\pm$ standart sapma kullanılarak verildi. Parametrik test varsayımlarını yerine getiren değişkenler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi uygulandı. Varyansların homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. Varyans analizi sonucu aralarında istatistiksel anlamda fark bulunan gruplar için farkın hangi grup ya da gruplardan olduğunu belirlemek amacıyla Scheffe testi uygulandı. Normal dağılım göstermeyen total oksidant ve paraoksonaz değişkenleri için non-parametrik Kruskal-Wallis Varyans Analizi yapılmıştır. P değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuç şeklinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında 32 dişi rat üzerinde gerçekleştirildi. Alınan numunelerde toplam oksidan, toplam antioksidan OSI ve paraoksonaz seviyeleri ölçüldü. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu test edildikten sonra toplam oksidan'ın kontrol grubu ile paraoksonaz'ın kolit grubunun normal dağılım göstermediği görülmüştür.

Tablo 4. Kontrol ve deneme gruplarına ait güven aralığı (üst sınır-alt sınır) değerleri.

%95 Güven Aralığı (üst sınır-alt sınır)						
	n	Canlı ağırlık (g)	Total Antioksidan (mmol Trolox Equiv. /L)	OSİ (Endeks) (TOS/(TAS*10) (µmol /L)	Total Oksidan (µmol H2O2 Equiv./L)	Paraoksonaz (U/L)
Kontrol	10	356,07-304,32	1,240-0,83	2,41-1,10	25,66-10,49	92,0-53,75
Kolit	12	344,20-290,80	1,002-0,54	6,66-2,80	38,29-23,04	67,60-36,61
Spirulina+Kolit	10	328,01-275,78	1,506-0,91	1,75-0,90	17,54-11,33	72,68-47,93
Toplam	32	330,66-302,52	1,134-0,85	3,63-1,85	25,95-17,37	69,87-52,47

Toplam, Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait canlı ağırlık güven aralıkları (üst sınır-alt sınır) sırasıyla; 330,66-302,52 g, 356,07-304,32 g, 328,01-275,78 g olarak bulunmuştur.

Toplam, Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait total antioksidan güven aralıkları (üst sınır-alt sınır) sırasıyla; 1,134-0,8 mmol Trolox Equiv./L, 1,240-0,838 mmol Trolox Equiv./L, 1,002-0,54 mmol Trolox Equiv./L, 1,506-0,91 mmol Trolox Equiv./L olarak bulunmuştur (Tablo 4).

Toplam, Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait endeks güven aralıkları (üst sınır-alt sınır) sırasıyla; 3,63-1,85 µmol/L, 2,41-1,10 µmol/L, 6,66-2,80 µmol/L, 1,75-0,90 µmol/L olarak bulunmuştur (Tablo 4).

Toplam, Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait total oksidan güven aralıkları (üst sınır-alt sınır) sırasıyla; 25,95-17,37 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L, 25,66-10,49 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L, 38,29-23,04 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L, 17,54-11,33 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak bulunmuştur (Tablo 4).

Toplam, Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait paraoksonaz güven aralıkları (üst sınır-alt sınır) sırasıyla; 69,87-52,47 U/L, 92,0-53,75 U/L, 67,60-36,61 U/L, 72,68-47,93 U/L olarak bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 5. Kontrol, Kolit ve Spirulina + kolit grup ortalamaları (Ortalama $\pm$ Standart Sapma).

Grup	N	Canlı ağırlık (g)	Total Antioksidant (mmol Trolox Equiv. /L)	OSİ (Endeks) (TOS/(TAS*10)	Total Oksidant ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	Paraoksonaz (U/L)
Kontrol	10	330,20 $\pm$ 36,16	1,04 $\pm$ 0,27 ^{ab}	1,75 $\pm$ 0,91 ^b	18,08 $\pm$ 10,60	72,91 $\pm$ 26,77
Kolit	12	317,50 $\pm$ 42,02	0,77 $\pm$ 0,36 ^b	4,73 $\pm$ 3,03 ^a	30,60 $\pm$ 11,99	52,10 $\pm$ 24,38
Spirulina+Kolit	10	301,90 $\pm$ 36,51	1,21 $\pm$ 0,41 ^a	1,33 $\pm$ 0,59 ^b	14,44 $\pm$ 4,34	60,31 $\pm$ 17,29
P		0,275	0,025	0,000	0,004	0,071

a,b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası fark istatistiksel olarak anlamlı (P<0,05)

Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait canlı ağırlık ortalamaları sırasıyla; 330,20 $\pm$ 36,16 g, 317,50 $\pm$ 42,02 g, 301,90 $\pm$ 36,51 g olarak bulunmuş olup; gruplar arası canlı ağırlık farkları anlamlı değildir (Tablo 5).

Total antioksidan değeri bakımından kolit ile, spirulina+kolit grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık (P<0,05) gözlenirken; aynı değer için kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir. Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait total antioksidan ortalamaları sırasıyla; 1,04 $\pm$ 0,27 mmol Trolox Equiv./L, 0,77 $\pm$ 0,36 mmol Trolox Equiv./L, 1,21 $\pm$ 0,41 mmol Trolox Equiv./L olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Endeks (OSI) değeri incelendiğinde kolit grubu ortalaması diğer grup ortalamalarından istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($P<0,001$). Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait endeks ortalamaları sırasıyla; $1,75\pm0,91 \mu\text{mol/L}$, $4,73\pm3,03 \mu\text{mol/L}$, $1,33\pm0,59 \mu\text{mol/L}$ olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait total oksidan ortalamaları sırasıyla; $18,08\pm10,60 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$, $30,60\pm11,99 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$, $14,44\pm4,34 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$ olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Kontrol, kolit ve spirulina+kolit gruplarına ait paraoksonaz ortalamaları sırasıyla; $72,91\pm26,77 \text{ U/L}$, $52,10\pm24,38 \text{ U/L}$, $60,31\pm17,29 \text{ U/L}$, olarak bulunmuştur. Paraoksonaz ve total oksidan seviyerleri değerlendirdiğinde bu iki parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Tablo 5).

5. TARTIŞMA

İBH etiyolojisi açıkça bilinmemektedir fakat yapılan çalışmalarda anti-immün düzenleyici faktörlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. İmmüno-düzenleyici faktörler arasında oksidatif stres, hastalığın sürekliliğine dahil olduğu açıklanmış olan en önemli faktörlerden biridir (Jena ve ark, 2012). İBH'deki oksidatif stresin güçlü etkileri göz önüne alındığında, antioksidan tedavi birçok olumlu etkisi açısından önerilmektedir (Rezaie ve ark, 2007). Özellikle antioksidan özelliklere sahip diyet takviyesinin rat sağlığını ve oluşan strese karşı direnme biçimlerini olumlu yönde etkileyebileceği ileri sürülmüştür (Castex ve ark, 2010).

Asetik asit, deneysel kolit için önemli bir ajandır ve laboratuvar hayvanlarında kolonun iltihaplanmasına neden olur. Asetik asitle indüklenen kolitin çok fazla ROS ürettiği ve antioksidanların bu oksijen radikallerinin seviyelerini azalttığı bilinmektedir (Zerin ve ark, 2010). Asetik asidin (%3-5) intrarektal yoldan uygulanması ile deneysel akut inflamatuvar barsak hastalığı oluşturulabilmektedir (Özgün ve ark, 2013). Yapılan çalışmalarda *Spirulina platensis*'in asetik asite bağlı kolite karşı anti-inflamatuvar ve antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir (Abdel-Daim ve ark, 2015). Diğer bir çalışmada kolit oluşturulmuş ratlarda diyetle 2g/kg *Spirulina* eklenmesi halinde, kan ve doku örneklerinde kolit grubuna kıyasla *Spirulina*'nın birçok yararlı etkileri olduğu görülmüştür (Coskun ve ark, 2011). Asetik asitin; ucuz olması, kolay erişilebilir olması gibi nedenlerle ratlarda deneysel kolit için tercih edilen bir kimyasal olduğu bildirilmektedir. Bunun yanı sıra rat kayıplarının önüne geçmek ve bunu en az düzeyde tutmak için bu çalışmada deneysel kolit modeli oluşturmak için asetik asit tercih edilmiştir. Asetik asitle oluşturulan kolit akut olarak geliştiği ve hızlı iyileşme gösterdiği için çalışma süresi 10 gün olarak belirlenmiştir (Yıldız ve ark, 2008). Yapılan bu çalışma da 2g/kg *Spirulina Platensis*'in; asetik asit ile deneysel kolit oluşturulmuş ratlarda, intrakardiyak kan örneklerinde ki total antioksidan, total oksidan ve paraoksonaz düzeylerine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları'nın incelendiği deneysel çalışmalarda kullanılan hayvan modellerinin hiçbirinin, insandaki inflamatuvar bağırsak hastalıklarını tümüyle taklit etmediği bildirilmektedir. Bu amaçla; ratların insana olan benzerliği nedeniyle en çok tercih edilen deney hayvan türleri olduğu ifade edilmiştir (Rezaie ve ark, 2007).

Ratlar biyolojik ve tıbbi araştırmaların hemen hemen her alanında boyutları, deneysel grupların kolay oluşturulabilir olması, yaşam sũresi ve gebelik sũresi gibi faktũler nedeniyle en çok tercih edilen tũrlerdir (Yarsan ve Durgut, 2003). Ratların ũnceki çalışmalarda da bahsedilen ũzellikleri nedeniyle bu çalışmada Wistar-albino ratlar kullanılmıştır.

Canlılarda yaşamsal ve biyokimyasal fonksiyonların devamlılığı için, oksidanlar ve antioksidanlar arasında sũrekli bir denge vardır. Bu dengenin oksidanlar lehine bozulması, oksidatif hasara yol açmaktadır (ũzgũn ve ark, 2013). Antioksidanlar arasında ũnemli bir yere sahip olan spirulina oldukça yũksek sayıda fenolik bileşikler içerir. Spirulina içerisinde bulunan C ve E vitaminleri en çok bilinen enzimatik olmayan antioksidanlardandır. Spirulinada bulunan sistein ve metiyonin gibi amino asitler glutatyon sentezinde rol oynar. Spirulinanın içerdiği karatenoidler, reaktif oksijen tũrlerini temizleyebilir. Spirulinanın diğer antioksidan bileşenleri olan mineraller, yağ asidi olan gamma-linolenik asitler ve selenyum radikal sũpũrũcũ ũzellikleri ile bilinirler (Mahmoud ve Abd El-Ghffar, 2019).

Plazma veya serum total antioksidan kapasitesi, diyet antioksidanlarının faydalı etkilerini değerlendirmek için etkili bir araçtır. Daha yũksek antioksidan seviyeleri bağırsaktaki ROS azaltabilir (Rahmani ve ark, 2019). İBH sonucu oluşan oksidatif strese tepki olarak dokular genellikle oksidan ũretimine yanıt olarak daha fazla antioksidan ũretmeye başlarlar (Balmus ve ark, 2016). Çalışmamızda, total antioksidan kapasite dũzeyinin, oksidan stresin arttığı durumlarda gelişecek hasar miktarını belirleyen bir faktũr olabileceği dũřũnũlerek, total antioksidan kapasitenin diyet *Spirulina platensis* eklenmesiyle kontrol ve kolit gruplarına gũre spirulina+kolit grubunda ũnemli derecede artış gũsterdięi gũrũlmũřtũr (Tablo 5). Bu çalışmanın sonuçlarında spirulina+kolit grubunda gũzlenen yũksek total antioksidan kapasitesinin *S. platensis*'in antioksidan ũzelliklerinden kaynaklanabileceği ve bu durumun Spirulina'nın alevlenme veya aktivasyon oranının dũřũrũlmesi yũnũnde koruyucu etki sağlayabileceğini dũřũndũrmektedir.

İBH'li hastalarda anti-oksidan seviyelerinin dũřũk olması pek çok faktũrle ilişkili olabilir, fakat en bũyũk etken diyetdir (Rahmani ve ark, 2019). Yapılan bir çalışmada İBH bulunan bireylerin kontrol grubuna gũre daha az sebze ve meyve tũkettikleri ve bu durumun da İBH'li bireylerdeki dũřũk total antioksidan kapasitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Koutroubakis ve ark, 2004). Yapılan bir başka çalışmada ise, Spirulina'nın oral yoldan verilmesinin trinitrobenzensũlfonik asite bağlı olarak meydana gelen kolite karşı koruyucu etkisinin olduğu gũrũlmũřtũr. Spirulinanın koruyucu etkileri antioksidan mekanizma ile ilişkilendirilmiştir (Coskun ve ark, 2011).

Spirulina platensis ve *Dunaliella salina*'nın (farklı bir su yosunu) asetik asite bağılı ülseratif kolit üzerindeki iyileştirici etkilerinin değerlendirildiği diğer bir çalışmada; ratlara eşit dozlarda *Spirulina* ve *Dunaliella* (500 mg/kg vücut ağırlığı) diyetle eklenmiştir. Çalışmada oksidatif stres markerleri olan; inflamatuvar belirteçler, tümör nekroz faktörü alfa ve interlökinlerin (IL'ler) izlenmiş ve bunun sonucunda antioksidan enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir. Antioksidan seviyesindeki bu artışın, lipid peroksidasyonunun ve inflamasyon belirteçlerinin inhibisyonuna neden olduğu saptanmış; spirulinanın test edilen 2 gıda arasında büyük teröpatik potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir. Proinflamatuvar (iltihap) etkiyi engelleyici özelliği olan ve yüksek antioksidan etkileri kanıtlanmış olan *Spirulina*, yumurtalık, prostat, serviks, meme, pankreas, akciğerler, mide, rektum ve kolon dahil olmak üzere çeşitli organların kanseri gibi bir dizi hastalığın patogenezinin önlenmesinde oldukça önemlidir bununla birlikte sağlıklı bir diyetin önemli bir parçası olma potansiyelini de göstermiştir (Abdel-Daim ve ark, 2015).

Benzer olarak, Gökkuşluğu alabalığının *S. Platensis* ile kültürlenmesinde karaciğerde total antioksidan kapasitenin arttığı bildirilmiştir (Teimouri ve ark, 2019). Yine ratlar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada *S.platensis*'in karaciğer total antioksidan kapasitesini arttırdığı bildirilmiştir (Gad ve ark, 2011).

Literatürlere bakıldığında asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde serum TAS düzeyleri ile ilgili birbiri ile örtüşmeyen bilgiler bulunmaktadır. Asetik asitle kolit yapılan ve L-Karniti'nin serum TAS düzeyleri üzerine etkisi değerlendirilen bir çalışmada TAS düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla her hangi bir değişim göstermediği görülmüştür (Ozyılmaz ve ark, 2011). Aynı kolit modeli kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada selenyum ve E vitamininin serum TAS düzeylerine etkisine bakıldığında TAS düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı bildirilmiştir (Bitiren ve ark, 2010). C vitamininin TAS düzeyleri üzerindeki etkisi, asetik asit ile kolit oluşturulmuş ratlarda değerlendirilmiş ve TAS değerlerinin asetik asit tedavisine yanıt olarak önemli ölçüde azaldığı, diyetle C vitamini eklenmesinin ise TAS düzeylerinde önemli derecede artmaya neden olduğu ifade edilmiştir (Zerin ve ark, 2010).

Asetik asit tarafından indüklenen kolitte, aşırı ROS üretimi meydana gelir, bu durum antioksidan dengeyi bozar ve ROS üretiminin artmasına neden olur (Bitiren ve ark, 2010). Toksik oksidanların üretim oranı, endojen antioksidan enzimlerin kapasitesini aşarsa (örn., süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz) inflamasyonun alevlenmesi kaçınılmazdır. Bunun sonucunda yükseltgenmiş oksidatif stres ve bozulmuş antioksidan savunma oluşur (Özdemir ve ark, 2014). Yapılan çalışmalarda ROS'ların asetik asidin kolon toksisitesinden sorumlu olduğu ve kolonun bazı hücrel bileşenlerinde oksidatif hasara neden olduğu bildirilmiştir (Bitiren ve ark, 2010).

Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada kolit oluşturulan grubun, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek TOS düzeyine sahip olduğu saptanmıştır (Özgün ve ark, 2013).

Yüksek yağlı bir diyet ile beslenen ratların diyetlerine silikonla zenginleştirilmiş spirulina eklenmesiyle, ateroskleroz belirteçlerine bakan bir çalışmada pek çok çalışmada olduğu gibi, hem ham spirulina hem de silikonla zenginleştirilmiş spirulinanın, O₂ üretimini azaltarak karaciğer ve kalpte oksidatif durumu iyileştirdiği görülmüştür (Vidé ve ark, 2015).

Asetik asit ile kolit oluşturulmuş ratlarda C vitaminin TOS düzeyleri üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada asetik asit uygulamasından sonra TOS düzeylerinde anlamlı derecede azalma görülürken; diyetle C vitamini eklenmesinin TOS düzeylerine hiçbir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Zerin ve ark, 2010). Bu tez çalışmasının sonuçlarında ise asetik asit kolit grubu genel olarak, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek TOS değerine sahipken; aradaki fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır (Tablo 5). Bunun sebebi önceki çalışmalarda ifade edildiği gibi oksidan ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin antioksidan radikaller lehine bozulmuş olmasından kaynaklanabilir. Spirulina+kolit grubu ve sağlıklı kontrol grubu kıyaslandığında, bu iki grup'daki TOS değerleri farkının istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Bunun nedeni diyetle eklenen spirulinanın yüksek antioksidan etkisi ile ve akut olarak gelişen kolitte dokuların kolite ani tepki vererek antioksidan üretmesi ile açıklanabilir (Balmus ve ark, 2016).

OSI, oksidatif stresin genel bir göstergesi olarak da kullanılır (Yuksel ve ark, 2017). OSI oksidan/antioksidan dengenin toplam oksidanların, toplam anti-oksidanlara bölünmesiyle bulunan bir parametre olup oksidan yada antioksidan dengede bozulma olup olmadığı hakkında bilgi vermektedir (Erel, 2005). OSI antioksidanların azalması yada oksidanların artması sonucu telafisi olamayan ve lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve nükleer hasara neden olan serbest radikallerin artışı gösteren bir indikatördür (Erel, 2004; Erel, 2005).

İBH' li bireylerde iltihaplı doku mukozasında oksidatif stres seviyesinin ve hastalık aktivite indeksi OSI oranının sağlıklı dokuya göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Yuksel ve ark, 2017).

Çalışmamızda Endeks (OSI) değeri incelendiğinde bu değerin kolit grubunda diğer gruplardaki değerlerden istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 5). Bunun, oluşturulan kolit ile artmış oksidatif strese bağlı antioksidan savunmaya dahil olan molekül eksikliği ve TOS/TAS dengesinin bozulması nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Yuksel ve ark, 2017). Asetik asitle yapılan kolitin oksidatif hasara neden olduğu bilindiğinden, TOS gibi oksidatif stres belirteçlerinin ve hesaplanan OSI değerinin yüksek çıkması istenilen ve beklenen bir durumdur. Bu çalışmada, Spirulina+kolit grubunda ki ortalama OSI değerleri ve sağlıklı kontrol grubuna'daki OSI değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonucun, diyetle eklenen spirulina miktarına bağlı olarak artan antioksidan kapasitesi nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

Her ne kadar PON1 antioksidan etkiye sahip olarak bilinse de henüz İBH'li hastalarda serum PON1 aktivitesindeki azalmanın mekanizması tam olarak bilinmemektedir. İBH'de mukozadaki azalmış antioksidan seviyeleri sonucunda, artan serbest oksijen radikalleri ile oluşan oksidatif stres doku hasarına neden olur (Aviram ve ark, 1999, Aviram ve Rosenblat, 2004, Mackness ve ark, 2003). Yüksek seviyelerde ROS' un, lipit peroksitlerin gelişmesine, enzimatik alterasyona ve DNA zincir kopmasına neden olabilecek tepkimeleri başlatarak; lipitler, proteinler ve nükleik asitlerin işlevlerini bozmak yoluyla patafizyolojide rol oynadığı düşünülmektedir (Siracusa ve ark, 2020). Serum PON1 ekspresyonunun oksidatif stresle azaldığı oksidatif stres durumlarında PON1'in inaktive olduğu gösterilmiştir (Mackness ve ark, 2003; Aviram ve Rosenblat, 2004). Serum PON1; HDL' ye bağlanarak lipidle çözünebilen radikallerin (lipit peroksidasyonuna karşı) zararlı etkilerini ortadan kaldırmaya katkıda bulunan ve düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL) oksidasyondan koruyan bir enzimdir. Serum PON1; LDL oksidasyonunu azaltarak ateroskleroza önleyen hücre dışı bir enzimdir. Bu özelliği sayesinde PON1 antioksidan etkiye sahip bir enzim olarak kabul edilmektedir (Costa ve ark, 2005; Fuhrman ve ark, 2005).

PON1 enzim aktivitesinin, antioksidan savunma mekanizmasındaki azalmaya bağlı olarak İBH durumunda azaldığı görülmektedir (Gökbulut ve ark, 2018). ÜK hastalarında serumda PON1 seviyesi kontrol grubu hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ve bu durum ÜK etiopatogenezinde azalmış PON1 seviyelerine bağlı olarak gelişen oksidatif hasarın etkili olabileceği fikrini desteklemektedir (Gökbulut ve ark, 2018).

Türkiye’de inflamasyon ve oksidatif stres ile karakterize ülseratif kolit hastalarında gerçekleştirilen bir araştırma sonucunda serum PON1 aktivitesinin benzer şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Fakat altında yatan mekanizma hala açıklanamamaktadır (Baskol ve ark, 2006). Yukarıda bahsedilen çalışma sonuçlarının doğruluğunu destekleyen, serum PON1’in düzeylerinin bakıldığı ikinci bir çalışmada da yine Ülseratif kolit ve Crohn hastalarında, PON1 aktivitesinin azalmış olduğu belirtmiştir (Boehm ve ark, 2009). 2018 de yapılan bir çalışmada ise yine Ülseratif kolit ve Crohn’lu hastalarda PON1 aktivitesinin azalmış olduğu belirtilmiştir (Rodríguez-Carrio ve ark, 2018).

Paraoksonaz 1 (PON1) kalsiyuma bağlı bir esterazdır, lipit peroksidleri hidrolize ettiği ve enzimatik antioksidan sistemin önemli bir bileşenini oluşturmak için başka bir esteraz olan Arilesteraz (ARE) ile birlikte hareket ettiği bilinmektedir. Düşük PON ve ARE seviyelerinin artmış inflamasyonla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Bu bağlamda huzursuz bağırsak sendromu olan kişilerde serum Paraoksonaz / Arilesteraz (PON / ARE) aktivitelerini araştıran bir çalışmada ortalama serum PON1 aktivitesi, huzursuz bağırsak sendromu olan hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük iken, huzursuz bağırsak sendromu ve kontrol grupları arasında ARE aktivitesinde anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. PON aktivitesindeki düşüş, oksidatif stresin varlığını, proksidan - antioksidan dengesinde bozulmayı ve huzursuz bağırsak sendromlu hastalarda artmış iltihabı göstermektedir (Oran ve ark, 2014). Çölyaklı bireylerde hastalık şiddetinin artması, azalan PON-1 seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca PON-1 seviyesinin antioksidatif süreçlerle ilişkili olabileceğini de ifade edilmiştir (Ferretti ve ark, 2012). Ülseratif kolitli hastalarda serum paraoksonaz-1 düzeyleri araştırılmış ve antioksidatif enzim olan PON-1’in ülseratif kolitli hastalardaki etkinliğinin belirsiz olduğu bildirilmiştir (Sahin ve ark, 2019). Çalışmamızda kontrol, kolit ve spirulina+kolit grupları karşılaştırıldığında paraoksonaz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Yapılan çalışmalarda, hastalık şiddeti ve oksidatif stres durumlarının artması ile serum paraoksonaz düzeylerinin azaldığı ve inaktive olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda serum paraoksonaz düzeyinin, oluşturulan kolit şiddeti ve oksidatif stresle ilişkisi incelendiğinde, oksidatif stres belirleyicilerinin istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmüştür. Bu durum serum paraoksonaz düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmaması ile açıklanabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada spirulina'nın kan parametreleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Konuyla ilgili olarak spirulina ile kandaki total oksidan düzeyi ve özellikle de spirulina ile paraoksonaz düzeyleri arasındaki ilişkiyi ortaya koyan yeterli sayıda çalışmanın yapılmamış olması sebebiyle, çalışmamızın bu ilişkiyi ortaya koyması bakımından araştırmacılar için önemli olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre spirulina takviyesinin plazmadaki bazı biyokimyasal belirteçlerde düzelmeye yol açtığı görülmüştür. Spirulina takviyesinin total antioksidan kapasiteyi arttırdığı bununla birlikte total oksidan kapasite ve paraoksonaz düzeylerine etki etmediği görülmüştür. Sonuç olarak Spirulinanın bağırsak florasındaki homeostazın iyileştirilmesi, sağlıklı bir gastrointestinal mikrobiyotanın oluşturulabilmesi ve korunması için faydalı bir besin desteği olabileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

Abdel-Daim M, Farouk S M, Madkour F, Azab S. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Spirulina platensis* in comparison to *Dunaliella salina* in acetic acid-induced rat experimental colitis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 2015, 37(2), 126–139.

Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *In Free Radical Biology and Medicine* 2004, 37, 1304–1316.

Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier C L, La Du B. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *In Free Radical Biology and Medicine* 1999, 26, 892–904.

Balmus I, Ciobica A, Trifan A, Stanciu C. The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in Inflammatory Bowel Disease: Clinical aspects and animal models, *Saudi Journal of Gastroenterology* 2016, 22(1), 3–17.

Bandzar S, Gupta S, Platt MO. Crohn's disease: A review of treatment options and current research. *Cellular Immunology* 2013, 286, 45–52.

Bashandy S A, Alhazza I M, El-Desoky G E, Al-Othman Z A. Hepatoprotective and hypolipidemic effects of *Spirulina platensis* in rats administered mercuric chloride. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2011, 5(2), 175–182.

Baskol G, Baskol M, Yurci A, Ozbakir O, Yucesoy M. Serum paraoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with ulcerative colitis. *Cell Biochemistry and Function* 2006, 24(3), 283–286.

Bethesda, M. Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury, *Spirulina*. In: *LiverTox* 2012.

Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, De Fanti E, Cavalcanti G, Battaglia P, Fasolin A. Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *ASAIO Journal (American Society for Artificial Internal Organs)* 2003, 49(3), 295–299.

Bitiren M, Karakilcik A. Z, Zerin M, Ozardalı I, Selek S, Nazlıgül Y, Uzunkoy A. Protective effects of selenium and vitamin e combination on experimental colitis in blood plasma and colon of rats. *Biological Trace Element Research* 2010, 136(1), 87–95.

Boehm D, Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Matusiewicz M, Berdowska I, Zielinski B, Gamian A. Paraoxonase-1 status in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases* 2009, 15(1), 93–99.

Castex M, Lemaire P, Wabete N, Chim L. Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge. *Fish and Shellfish Immunology* 2010, 28(4), 622–631.

Chandrasekaran A, Groven S, Lewis J. D, Levy S S, Diamant C, Singh E, Konijeti G G. An Autoimmune Protocol Diet Improves Patient-Reported Quality of Life in Inflammatory Bowel Disease. *Crohn's & Colitis* 360 , 2019, 1, 1-7

Cheeseman K H, Slater T F. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 1993, 49(3), 481–493.

Coskun Z K, Kerem M, Gurbuz N, Omeroglu S, Pasaoglu H, Demirtas C, Turgut H B. (2011). The study of biochemical and histopathological effects of spirulina in rats with TNBS-induced colitis, *Bratislava Medical Journal* 2011, 112(5), 235–243.

Costa L G, Cole T B, Furlong C E. Paraoxonase (PON1): from toxicology to cardiovascular medicine. *Acta Bio-Medica : Atenei Parmensis* 2005, 76(2), 50–57.

Deakin S P, James R W. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I. *Clinical Science* 2004, 107, 435–447.

Derkacz A, Olczyk P, Komosinska-Vassev K. Diagnostic Markers for Nonspecific Inflammatory Bowel Diseases. *Disease Markers* 2018, 16.

Diagnostics R. *Oxidative Stress Measurement and Evaluation Guide* 2012

Eckerson H W, Wyte C M, La Du B N. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *American Journal of Human Genetics* 1983, 35(6), 1126–1138.

Eguchi R, Karim M B, Hu P, Sato T, Ono N, Kanaya S, Altaf-Ul-Amin M. An integrative network-based approach to identify novel disease genes and pathways: a case study in the context of inflammatory bowel disease. *BMC Bioinformatics* 2018, 19(1), 264.

Ekici L, Öztürk İ, Sağdıç O, Yetim H. Et ve et ürünlerinde baharatların doğal antioksidan ve antimikrobiyel olarak kullanımı. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2014 30 (1), 66-72.

Ekmekçi Balcı Ö, Donma O, Ekmekçi H. PARAOKSONAZ. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2004 35 (2), 78-82.

El-Sheekh M M, Daboo S, Swelim M A, Mohamed S. Production and characterization of antimicrobial active substance from *Spirulina platensis*. *Iranian Journal of Microbiology* 2014, 6(2), 112–119.

Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 2004, 37(4), 277-285.

Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 2005, 38(12), 1103–1111.

Ferretti G, Bacchetti T, Saturni L, Manzella N, Candelaresi C, Benedetti A, Sario A Di. Lipid Peroxidation and Paraoxonase-1 Activity in Celiac Disease. *Journal of Lipids* 2012, 1–7.

Finamore A, Palmery M, Bensehaila S, Peluso I. Antioxidant, Immunomodulating, and Microbial-Modulating Activities of the Sustainable and Ecofriendly Spirulina. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017, 14.

Fuhrman B, Volkova N, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) is present in postprandial chylomicrons. *Atherosclerosis* 2005, 180(1), 55–61.

Gad A S, Khadrawy Y A, El-Nekeety A A, Mohamed S R, Hassan N S, Abdel-Wahhab M A. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats. *Nutrition* 2011, 27(5), 582–589.

Gökbulut V, Dursun H, Kaplan M, Öztaş E. Ülseratif kolitli hastalarda paraoksonaz 1 ve arilesteraz seviyeleri ve bu parametrelerin hastalık aktivitesi ile ilişkileri. *The Turkish Journal of Academic Gastroenterology* 2018, 18(1), 33–37.

Green N, Miller T, Suskind D, Lee D. A review of dietary therapy for IBD and a vision for the future. *Nutrients* 2019, 11(5).

Hung J H. Oxidative stress and antioxidants in preeclampsia. *Journal of the Chinese Medical Association* 2007, 70, 430–432.

İpar, N. (2011). Ekzojen Obezitesi Olan Hastalarda Total Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri; Probiyotiklerin Bu Düzeylere Etkisi, Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Eskişehir 2012, 70.

Jena G, Trivedi P P, Sandala B. (2012, November 5). Oxidative stress in ulcerative colitis: An old concept but a new concern. *Free Radical Research* 2012, 46, 1339–1345.

Juretić D, Tadijanović M, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Reiner E, Baricić M. Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croatian Medical Journal* 2001, 42(2), 146–150.

Kargin H, Mahitap Y, Duru D. Syanobakteri *Spirulina platensis*'in Besin Kimyası ve Mikrobiyolojisi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2011, 4(1), 31–43.

Koutroubakis I E, Malliaraki N, Dimoulis P D, Karmiris K, Castanas E, Kouroumalis E A. Decreased total and corrected antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences* 2004, 49(9), 1433–1437.

Liu P, Choi J W, Lee M K, Choi Y H, Nam T J. Wound Healing Potential of *Spirulina* Protein on CCD-986sk Cells. *Marine Drugs* 2019, 17(2), 130.

Liu Y, Wang X, Hu C A. Therapeutic Potential of Amino Acids in Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients* 2017, 9(9).

Lupatini A L, Colla L M, Canan C, Colla E. (2017, February 1). Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2017, 97, 724–732.

Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, Mackness M. (2003). Low Paraoxonase Activity Predicts Coronary Events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 2003, 107(22), 2775–2779.

Mackness B, Durrington P N, Mackness M I. Human Serum Paraonase. *General Pharmacology* 1998, 31, 329–336.

Mackness B, Mackness M I, Arrol S, Turkie N W, Durrington P N. Effect of the human serum paraonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Letter* 1998, 423(1), 57–60.

Mahmoud Y I, Abd El-Ghffar E A. Spirulina ameliorates aspirin-induced gastric ulcer in albino mice by alleviating oxidative stress and inflammation. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2019, 109, 314–321.

Masaki T, Kishiki T, Kojima K, Asou N, Beniya A, Matsuoka H. Recent trends (2016-2017) in the treatment of inflammatory bowel disease. *Annals of Gastroenterological Surgery* 2018, 2(4), 282–288.

Mason R. Chlorella and Spirulina: Green Supplements for Balancing the Body. *Alternative and Complementary Therapies* 2001 7(3), 161–165.

Mazokopakis E E, Starakis I K, Papadomanolaki M G, Mavroeidi N G, Ganotakis E S. The hypolipidaemic effects of Spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation in a Cretan population: A prospective study. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2014, 94(3), 432–437.

McCord J M. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry* 1993, 26(5), 351–357.

McDowell C, Bhimji S S. Bowel, Inflammatory Disease (IBD). In *StatPearls* 2018.

Md I, Md F. H, Arifur Rahman T, Hossain Uddin S. Effect of Spirulina Intervention on Oxidative Stress, Antioxidant Status, and Lipid Profile in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International* 2015, 7.

Memişoğulları R, Orhan N. Paraoksonaz ve Kanser, *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya* 2010, 2, 22-26.

Miller M. Dyslipidemia and cardiovascular risk: The importance of early prevention. *QJM* 2009, 102(9), 657–667.

Moura F A, De Andrade K Q, Dos Santos J C F, Araújo O R P, Goulart M O F. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? *Redox Biology* 2015, 6, 617–639.

Murthy K N C, Rajesha J, Swamy M M, Ravishankar G. A. Comparative Evaluation of Hepatoprotective Activity of Carotenoids of Microalgae. *Journal of Medicinal Food* 2005, 8(4), 523–528.

Narin F. Lityum ve Valproat Alan Bipolar Hastalarda Oksidatif Stres ve Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinasyon Birimi, Kayseri 2012, 61.

Oktay E. İnflamatuar Barsak Hastalıkları: Etyopatogenez, Semptomatoloji, Tanı ve Komplikasyonlar. Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu, 199–206, 11-12 Ocak 2001, İstanbul.

Oran M, Tulubaş F, Mete R, Aydın, M, Sarıkaya H G, GUREL A. Evaluation of Paraoxonase and Arylesterase activities in patients with irritable bowel syndrome. *J Pak Med Assoc* 2014, 64, 820-822.

Orhan N. Prostat Kanserli Hastalarda Oksidan - Antioksidan Durum ve Paraoksonazın Bu Duruma Etkisinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Düzce, 2011.

Öğüt S. Doğal antioksidanların önemi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2014, 11 (1), 25 – 30.

Öner N. Akut Romatizmal Ateş ve Romatizmal Kalp Hastalığı Tanısında ‘ High Sensitive C reaktif protein’in, Total Antioksidan Kapasitesi, Homosistein, Haptoglobin ve Kan Lipid Profilinin Önemi, Uzmanlık Tezi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Ankara 2008, 89.

Özdemir N Z, Tazegul G, Kuru P, Bilgin S, Mentese S T, Erzık C, Yeğen C B. Nicotine alleviates colitis-induced damage in rats via its anti-oxidative activity. *Marmara Medical Journal* 2014, 27, 13–20.

Özgün E, Özgün Sayılan G, Eskiocak S, Yalçın Ö, Süer Gökmen S. Deneysel kolitte L-karnitinin serum paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktivitelerine ve oksidatif duruma etkisi. *Turk J Biochem* 2013, 38(2), 145–153.

Öztürk H. Diabetes Mellitus’da Paraoksonaz Aktivitesi ve AOPP Düzeyleri, Uzmanlık Tezi, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, İstanbul. 2008, 59.

Özyılmaz E, Yildirim B, Aydogdu M, Dincel A S, Elmas C, Oguz Ulgen I, Tuncer C. Is there any link between oxidative stress and lung involvement due to inflammatory bowel disease: An experimental study. *Hepato-Gastroenterology* 2011, 58(112), 1898–1903.

Park H J, Lee Y J, Ryu H K, Kim M H, Chung H W, Ki W Y. A randomized double-blind, placebo-controlled study to establish the effects of spirulina in elderly Koreans. *Annals of Nutrition and Metabolism* 2008, 52(4), 322–328.

Perrone S, Tataranno M L, Negro S, Longini M, Marzocchi B, Proietti F, Buonocore Giuseppe G. Early identification of the risk for free radical-related diseases in preterm newborns. *Early Human Development* 2010, 86(4), 241–244.

Précourt L P, Amre D, Denis M C, Lavoie J C, Delvin E, Seidman E, Levy E. The three-gene paraoxonase family: Physiologic roles, actions and regulation. *Atherosclerosis* 2011, 214, 20–36.

Rahmani J, Kord-Varkaneh H, Ryan P M, Rashvand S, Clark C, Day A S, Hekmatdoost A. Dietary total antioxidant capacity and risk of ulcerative colitis: A case-control study. *Journal of Digestive Diseases* 2019, 20(12), 636–641.

Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas E N, Lakshminarasaiah U, Nishigaki I. Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta* 2014, 436, 332–347.

Reboleira J, Freitas R, Pinteus S, Silva J, Alves C, Pedrosa R, Bernardino S. Spirulina. In : *Chapter 3.39 Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements* 2019, s 409-413

Rezaie A, Parker R D, Abdollahi M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: An epiphenomenon or the cause? *Digestive Diseases and Sciences* 2007, 52, 2015–2021.

Rodríguez-Carrio J, Mozo L, López P, Nikiphorou E, Suárez A. Anti-high-density lipoprotein antibodies and antioxidant dysfunction in immune-driven diseases. *Frontiers in Medicine* 2018, 5, 114.

Sahin M, Bobusoglu O, Yetim A, Ates F. Paraoxonase-1 and arylesterase levels in patients with ulcerative colitis. *Arab Journal of Gastroenterology* 2019, 20(1), 14–18.

Sánchez M, Bernal-Castillo J, Rozo C, Rodríguez I. Spirulina (Arthrospira): an edible microorganisma. Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, 2019, 1-15.

Sandhu J, Dheera B, Shweta S. Efficacy of spirulina supplementation on isometric strength and isometric endurance of quadriceps in trained and untrained individuals – a comparative study. *Ibnosina Journal of Medicine and Biomedical Sciences* 2010, 2(2), 79.

Selmi C, Leung P S C, Fischer L, German B, Yang C Y, Kenny T P, Gershwin M E. The effects of Spirulina on anemia and immune function in senior citizens. *Cellular and Molecular Immunology* 2011, 8(3), 248–254.

Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Experimental Gerontology* 2004, 39(1), 59–66.

Siracusa R, Fusco R, Filippo Peritor A, Cordaro M, D'amico R. Genovese T, Impellizzeri D. The Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Anacardium occidentale L. Cashew Nuts in a Mouse Model of Colitis. *Nutrients* 2020, 12(834), 2–20.

Stepaniuk P, Bernstein C N, Targownik L E, Singh H. Characterization of inflammatory bowel disease in elderly patients: A review of epidemiology, current practices and outcomes of current management strategies. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2015, 29, 327–333.

Teimouri M, Yeganeh S, Mianji G R, Najafi M, Mahjoub S. The effect of Spirulina platensis meal on antioxidant gene expression, total antioxidant capacity, and lipid peroxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 2019, 45(3), 977–986.

Tela A. H. Determination of Total Antioxidant Capacity, Amount of Vitamins and Amino Acids With Some Peptides in Different Type of Eggs, Master Thesis, Fırat University Institute of Natural and Applied Sciences, Elazığ, 2017, 55.

Tümay M. Retinitis Pigmentosa’da Serbest Radikallerin Rolü. T.C. Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Fiziyoloji Anabilimdalı, Mersin, 2010, 112.

Vázquez-Velasco M, González-Torres L, López-Gasco P, Bastida S, Benedí J, Sánchez-Reus M I, Sánchez-Muniz F J. Liver oxidation and inflammation in Fa/Fa rats fed glucomannan/spirulina-surimi. *Food Chemistry* 2014, 159, 215–221.

Vidé J, Virsolvy A, Romain C, Ramos J, Jouy N, Richard S, Rouanet J M. Dietary silicon-enriched spirulina improves early atherosclerosis markers in hamsters on a high-fat diet. *Nutrition* 2015, 31(9), 1148–1154.

Vidé J, Virsolvy A, Romain C, Ramos J, Jouy N, Richard S, Rouanet J M. Dietary silicon-enriched spirulina improves early atherosclerosis markers in hamsters on a high-fat diet. *Nutrition* 2015, 31(9), 1148–1154.

Wan D, Wu Q, Kuča K. (2016). Spirulina. In :Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity. Elsevier 2016, 569–583.

Yarsan E, Durgut R. Farmakoloji ve Toksikolojide Rat Modelleri. In :*Journal of Clinical and Analytical Medicine* 2003, 97-105.

Yesilkaya A, Altınayak R, Korgun D K. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *General Pharmacology: The Vascular System* 2000 35(1), 17–20.

Yıldız C, Oruç N, Kuralay F, Erkuş M, Zihnioğlu F, Özütemiz Ö. Sıçanlarda geliştirilen akut ve kronik kolitte pentoksifilin'in etkisi Effects of pentoxyphylline in acute and chronic colitis models in rats. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* 2008; 7 (3): 129- 136.

Yuksel M, Ates I, Kaplan M, Fettah Arikan M, Ozin Y O, Mesut Z, Kayacetin E. Is oxidative stress associated with activation and pathogenesis of inflammatory bowel disease? *J Med Biochem* 2017, 36(4), 341–348.

Zerin M, Karakilçik A Z, Bitiren M, Musa D, Özgönül A, Selek Ş, Uzunköy A. Vitamin C modulates oxidative stress-induced colitis in rats. *Turk J Med Sci* 2010, 40(6), 871–879.

