



DVD-SNO® Takviye Edici Gıda Ürününün Sıçanlarda Akut Sub-akut Toksisitesinin Araştırılması

Investigation of Acute Sub-acute Toxicity of DVD-SNO® Supplement Food Product in Rats

Mustafa Yaşar¹, Güliz Saraç², Ali Gök³, Kağan Ağan⁴, Pınar Ağyar Yoldaş⁴, Neslihan Şirin⁴

¹ RTM Clinic, İstanbul, Türkiye

² Naturin Nutraceuticals, İzmir, Türkiye

³ Düzce Üniversitesi, Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Düzce, Türkiye

⁴ Düzce Üniversitesi, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi, Düzce, Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Pınar Ağyar Yoldaş

Necmettin Erbakan Üniversitesi, GETAT Merkezi, Konya, Türkiye

T: +90 532 741 91 00 E-mail: pinaragvaryolda@duzce.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 19.05.2020 Kabul Tarihi / Accepted : 13.12.2020

Geleneksel ve Tamamlayıcı Anadolu Tıbbi Dergisi 2020,2(3):51-58

Mustafa Yaşar <https://orcid.org/0000-0002-3746-5042>

Güliz Saraç <https://orcid.org/0000-0002-5832-7597>

Ali Gök <https://orcid.org/0000-0003-4103-9537>

Kağan Ağan <https://orcid.org/0000-0003-1472-570X>

Pınar Ağyar Yoldaş <https://orcid.org/0000-0002-9277-0648>

Neslihan Şirin <https://orcid.org/0000-0002-3470-0043>

Öz

Geleneksel olarak sıklıkla kullanılan tıbbi bitkilerin bilinçsiz kullanımı bazı komplikasyonlara neden olabilmektedir. Bitkilerin toksisite testlerinin detaylı olarak araştırılması bitkisel ürünlerin olası etkilerinin belirlenmesi, takviye edici gıdaların üretiminde uygun doz ayarlanması açısından önem arz etmektedir. DVD-SNO®, devedikenî tohumu (*Silybum marianum*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), zerdeçal (*Curcuma longa*), şahtere (*Fumaria officinalis*), hindiba (*Cichorium intybus*) ve sinirli ot (*Plantago majör*) bitkilerinin kombinasyonu ile hazırlanmış bitkisel bir gıda takviyesidir. DVD-SNO® içeriğindeki bu bitkilerin geleneksel olarak kombine halde ya da ayrı ayrı kullanımları yaygındır ve sağlık için faydalı oldukları düşünülmektedir.

Bu çalışmada Remember Regeneration Therapy Method (RTM) kullanılan DVD-SNO® ürününün akut ve sub-akut toksisitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Deneysel gruplarında 250-300 g ağırlığında sekiz aylık Wistar albino dişi sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma ISO 10993-11, ISO 10993-2 ve ISO 10993-12 uluslararası test standartlarından yararlanılarak tasarlanmıştır. Kontrol grubuna salin, deney gruplarına 13,3 mg/mL DVD-SNO® takviye edici gıda ürünü gavaj yoluyla verilmiştir.

Uygulama süreleri sonunda (akut toksisite için bir gün ve sub-akut toksisite için yedi gün, sub-akut sonrası toksisite için 14 gün) hayvanlardan kan ve doku örnekleri alındı. Kan örnekleri biyokimyasal ve hematolojik parametreler için analiz edildi. Kalp, karaciğer, akciğer, böbrek ve dalak dokularının histopatolojisi incelendi. İncelenen tüm parametreler, akut ve sub-akut toksisite açısından kontrol ve uygulama grupları arasında önemli bir farklılık taşımadığı görüldü. Sonuç olarak, DVD-SNO® ürününün günlük kullanım dozu akut ve sub-akut toksisite göstermemiştir.

Anahtar Kelimeler

Akut Toksisite, Sub-akut toksisite, Gıda Takviyesi, *Silybum marianum*, *Rosmarinus officinalis*, *Curcuma longa*, *Fumaria officinalis*, *Cichorium intybus*, *Plantago majör*.

Abstract

Amaç Unconscious use of traditionally used medicinal plants can cause some complications. A detailed investigation of the toxicity tests of plants is important in terms of determining the possible effects of herbal products, and adjusting the appropriate dose in the production of supplements. DVD-SNO® is a herbal food supplement prepared with the combination of thistle seeds (*Silybum marianum*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), turmeric (*Curcuma longa*), fumitory (*Fumaria officinalis*), chicory (*Cichorium intybus*) and plantain (*Plantago major*) plants. These herbs, which are contained in DVD-SNO®, are commonly used in combination or separately and are considered to be beneficial for health.

In this study, it was aimed to determine the acute and sub-acute toxicity of DVD-SNO® product used in Remember Regeneration Therapy Method (RTM). Eight months old Wistar female rats weighing 250-300 g were used in the experimental groups. The study was designed using international test standards ISO 10993-11, ISO 10993-2 and ISO 10993-12. Saline was given to the control group and 13.3 mg / mL DVD-SNO® supplement food product via gavage.

At the end of the treatment period (1 day for acute toxicity and 7 days for sub-acute toxicity, 14 days for post sub-acute toxicity) blood and tissue samples were collected from the animals. Blood samples were analyzed for biochemical and hematological parameters. Histopathology of the heart, liver, lung, kidney and spleen tissues has been investigated. It was observed that there was no significant difference between the control and administration groups in terms of all parameters examined, acute and sub-acute toxicity. As a result, in this study on rats, the daily use dose of DVD-SNO® product did not show acute and sub-acute toxicity.

Anahtar kelimeler

Acute Toxicity, Sub-acute Toxicity, Food Supplement, *Silybum marianum*, *Rosmarinus officinalis*, *Zingiber officinale*, *Fumaria officinalis*, *Cichorium intybus*, *Plantago majör*.

GİRİŞ

Tıbbi ve aromatik bitkiler, tüm dünyada fonksiyonel beslenmede ve çeşitli sağlık sorunlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu kullanım “alternatif tıp” veya “tamamlayıcı tıp” olarak ifade edilmektedir. Sağlık açısından iyileştirici veya koruyucu olarak yıllardır kullanılan bitkiler, günümüzde bitkisel tıbbi ürün olarak ticareti yapmakta ve pazar payı her geçen gün artmaktadır.

Son yıllarda tıbbi bitkilerin geleneksel olarak doğrudan kullanımını yerine kombine şekilde tıbbi bitkiler içeren gıda takviyelerinin kullanımları yaygınlaşmıştır. Tıbbi bitkilerin sağlığı olumlu etkileyici özelliklerinin yanı sıra bu bitkilerin kombine kullanılmaları toksisite riskini artırmaktadır. Dolayısıyla kombine gıda takviye ürünlerinin toksisite çalışmalarını literatür de oldukça önem arz etmektedir.

Öte yandan birçok ülkede geleneksel tıp metotları arasında oldukça yaygın olarak Remember Regeneration Therapy Method (RTM) kullanılmaktadır.¹ RTM yönteminde kullanılan DVD-SNO® ürünü; Devedikeni tohumu (*Silybum marianum*), Biberiye (*Rosmarinus officinalis*), Zerdeçal (*Curcuma longa*), Şahtere (*Fumaria officinalis*), Hindiba (*Cichorium intybus*) ve Sinirli ot (*Plantago majör*) bitkilerinin kombinasyonu ile hazırlanmış bitkisel bir gıda takviyesidir. DVD-SNO® içeriğindeki bu bitkilerin geleneksel olarak kombine halde ya da ayrı ayrı kullanımları yaygındır ve sağlık için faydalı oldukları düşünülmektedir.

Silybum marianum (Devedikeni); Hepatit, siroz ve sarılık dahil karaciğer ve safra kesesi bozukluklarını tedavi etmek ve yılan ısırıkları, böcek sokmaları, mantar zehirlenmeleri ve alkol de dahil olmak üzere kimyasal ve çevresel toksinlerden zehirlenmeye karşı karaciğeri korumak için 2000 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır.² Silimarin, Devedikeni bitkisi tohumlarında bulunan silibin, izosilibin, silikristin, silidianin, taksifolin ve dehidrosilibinin gibi farmakolojik olarak aktif olan flavonolignanlardan meydana gelen bir karışımdır. Silimarinin biyolojik aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülen temel bileşeni si-

libindir. Silibin, adenokarsinomayı içeren çeşitli prostat, böbrek, akciğer hastalıklarının tedavisinde, şekerin denetlenmesinde ve pankreas hastalıklarının tedavisinde de umut verici olarak görülmektedir.³

Lamiaceae familyasının bir üyesi olan *Rosmarinus officinalis* (Biberiye) güçlü aromatik özelliğe ve keskin bir kokuya sahiptir. Geleneksel tedavide ve baharat olarak kullanımı mevcuttur. Biberiye geleneksel tedavide boğaz ağrısı, karın ağrısı, menstural problemler, gastrointestinal rahatsızlıklar, kilo kaybı, hafıza güçlendirme, astım, bronşit, öksürük gibi rahatsızlıklarda kullanılan bir bitkidir.^{4,5} Bunların yanında antioksidan, antimikrobiyal, analjezik, antikanser, diüretik, antidiyabetik, antiinflamatuvar etkileri araştırılmış ve bunun üzerine in vitro ve in vivo çalışmalar gerçekleştirilmiştir.⁶⁻¹⁰

Zingiberaceae familyasına ait *Curcuma longa* (zerdeçal) baharat ve geleneksel tedavi edici olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. İçerisinde bulunan polifenolik bileşiklerden kurkumin, yaygın geleneksel kullanımı ve düşük yan etkileri nedeniyle çeşitli antimikrobiyal araştırmalara tabi tutulmuştur. Birçok farklı bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitlere karşı *Curcuma longa*'nın curcumin ve rizom özü için antimikrobiyal aktiviteler bildirilmiştir.¹¹ Ayrıca *Curcuma longa*'nın aktif bileşeni curcumin anti-inflamatuvar, antioksidan, antikanser ve antiandrojenik etkileri nedeniyle son on yıl boyunca geniş çapta incelenmiştir. Kurkumin, hem in vitro hem de in vivo prostat, meme, kolorektal, pankreas ve baş boyun kanseri dahil olmak üzere birçok farklı kanser türüne karşı önemli antikanser etkileri gösterilmiştir.¹² Ayrıca zerdeçal ve kurkumin'in güvenliği ni araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar hücre kültürü, hayvanlar üzerinde yapılmış ve bir kısmı sağlıklı kişiler ve hastalar üzerinde yapılmıştır. Bu çalışmalara göre, standartlaştırılmış toz ve zerdeçal ve kurkumin özü, yüksek dozlarda bile insan kullanımı için güvenli olduğunu bildirmiştir.¹³

Ülkemizde yaygın olarak bulunan *Fumaria officinalis*,

halk arasında “Şahtere, sedefotu” gibi isimlerle bilinmektedir. Bitkinin toprak üstü kısımları kurutulduktan sonra, çay gibi kaynatılarak, egzama ve sedef hastalığına karşı kullanılmaktadır. Geleneksel olarak sindirim düzenleyici ve idrar sökücü olarak da kullanılmaktadır.¹⁴ Karaciğer, gastrointestinal hastalıklar, hipertansiyon ve kalp rahatsızlıklarına kadar birçok alanda kanıtlanmış faydalı etkileri bildirilmiştir.¹⁵

Cichorium intybus (Hindiba) bitkisi geleneksel olarak ishal tedavisi için, prostat tedavisinde, akciğer hastalığında, safra yollarının saflaştırılmasında, karaciğer şikayetleri, sindirim bozuklukları ve geçici iştah kaybı durumlarında semptomların giderilmesinde kullanılmaktadır.¹⁶ Ayrıca boğaz ağrısı, hemoroid, tüberküloz ve karın krampları durumlarında da kullanımı bulunmaktadır.¹⁷ Cichorium intybus tıbbi olarak hepatoprotektif, gastroprotektif, kardiyovasküler, antioksidan, hipolipidemik, antikanser, antidiyabetik, antienflamatuar, analjezik, yatıştırıcı, antimikrobiyal, antihelmintik, anti-protozoal, yara iyileşmesi ve diğer birçok farmakolojik etkiye sahiptir.¹⁸

Plantago majör (Sinirli ot) yaprakları uzun yıllar yara iyileştirici ilaç olarak kullanılmıştır. Yara iyileştirici etkisinin yanı sıra Plantago major'un, antik çağlardan beri ateş düşürücü, antitussif, anti-enfektif, anti-hemorajik, antienflamatuar, diüretik, müshil ve hemostatik özellikleri olduğu, iltihap ve kanamayı azaltma amacıyla kullanıldığı bilinmektedir.^{19,20}

Bu kapsamda çalışmada kullanılan DVD-SNO® ürünü yukarıda bahsi geçen bitkisel karışımları ihtiva etmektedir. Bu bitkilerin her biri geleneksel olarak kullanılmaktadır. Ancak bu bitkilerin veya bu bitkilerden elde edilen doğal bitkisel ürünlerin sınırsız kullanımı gibi bir durum söz konusu değildir. Bilindiği üzere doğada var olan her şey zehirdir ama zehiri yapanda dozdur. Ayrıca yukarıda bahsi geçen bitkilerin tek başlarına kullanıldığında toksik etki gösterdiğine dair çalışmalar bulunmamaktadır. Ancak kombine halde toksisite gösterip göstermedikleri de

bilinmemektedir. Bu çalışmada DVD-SNO® için belirtilen günlük kullanım dozunun toksik etkilerinin in vivo olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL METOD

Hayvan

Çalışmada kullanılan hayvanlar Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Anatmik ve fizyolojik açıdan araştırma konusuna en uygun tür olduğundan dolayı 250-300 g ağırlıkta Wistar Albino 8 haftalık dişi sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar laboratuvarında 20-25 oC oda sıcaklığında, 55±5% nem ve 12:12 aydınlık-karanlık döngüsünde optimal değerlerde tutulmuş olup besin ve su alımları serbest bırakılmıştır. Çalışmanın etik kurul izni Düzce Üniversitesi Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (Karar Numarası: 2020.3.2) alınmıştır.

Çalışmada kullanılan gıda takviyesi ürünü DVD-SNO® Naturin Doğal Ürünler İlaç ve İlaç Hammaddeleri San. Tic. Ltd. Şti. firmasından temin edilmiştir. Çalışma kontrol grubu, akut toksisite grubu, sub-akut toksisite grubu ve sub-akut toksisite sonrası grubu olmak üzere toplam 4 grup olarak oluşturulmuştur. Her bir deney grubuna rastgele seçilerek sekiz dişi sıçan konulmuştur.

Deney prosedürü

Akut ve sub-akut toksisite testlerinin planlanmasında ISO 10993-11, ISO 10993-2 ve ISO 10993-12 standartlarından yararlanılmıştır.²¹⁻²³ Akut, sub-akut ve sub-akut toksisite sonrası gruplarındaki hayvanlara, DVD-SNO gıda takviyesi ürününün tavsiye edilen günlük kullanım miktarı sıçanlara uyarlanarak, günlük 13,3 mg/mL olacak şekilde tek seferde gavaj yoluyla uygulanmıştır. Kontrol grubuna günlük 1 mg/mL saline verilmiştir. Uygulama öncesinde ve sonrasında olmak üzere sıçanların ağırlıkları kaydedilmiştir.

Akut toksisite deney grubuna ürün verildikten sonra 24 saatlik klinik gözlemin sonunda hayvanlar ketamin/ksila-

zin anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Biyokimya ve hemogram parametreleri için kalpten kan alınmıştır. Ayrıca kalp, karaciğer, akciğer, böbrek ve dalak organları fikse edilerek histopatolojik olarak incelenmiştir.

Sub-akut toksisite deney grubundaki hayvanlara bir hafta (7 gün) boyunca ürün gavajla uygulamaya devam edilmiştir. Deney süresi esnasında yine klinik gözlemler yapılmıştır. 8. günde biyokimyasal parametrelerini ölçmek için kalpten kanları alınmış, sakrifiye edilmiş ve dokuları histopatolojik inceleme için formaldehitte fikse edilmiştir. Biyokimyasal, hematolojik ve histopatolojik ölçümler için gerekli testler yapılmıştır.

Sub-akut toksisite sonrası grubundaki hayvanlara aynı şekilde bir hafta (7 gün) boyunca ürün gavajla uygulamaya devam edilmiştir. Daha sonra bir hafta (7gün) daha hiçbir ürün vermeden etkilerin devam edip etmediğini görebilmek için hayvanlar gözlem altında tutulmuştur. Deney süresi esnasında yine klinik gözlemler yapılmıştır. 14. günde biyokimyasal ve hematolojik parametreler için kalpten kanları alınmış, sakrifiye edilmiş ve dokuları histopatolojik inceleme için formaldehitte fikse edilmiştir. Biyokimyasal, hematolojik ve histopatolojik ölçümler için gerekli testler yapılmıştır.

Klinik gözlem

Akut toksisite grubu için 0. dk, 30. dk, 60. dk, 2. saat, 4. saat, 8. saat ve 24. saatlerde, sub-akut toksisite grubu için 7 gün, sub-akut toksisite sonrası grubu için 14 günlük çalışma boyunca gözlemler yapılmıştır. Akut, sub-akut ve sub-akut sonrası toksisiteye bağlı klinik davranışsal semptomlarda; dispne, apne, öpne, taşipne, belirsiz pozisyonlar ve artan/azalan tremor, klonik, tonik, tonik-klonik, lakrimasyon, miosis, midriyazis, bradikardi, taşikardi, aritmi, aşırı salivasyon, kaba tüylerin piloereksiyonu, analjezinin azalması, hipotonia, hipertonia, diüresis, ödem ve kızarıklık olayları gözlemleyerek solunum, motor aktivite, konvülsiyon, refleksler, salivasyon, oküler işaretler, kardiyovasküler işaretler ve gastrointestinal işaretler açısından

değerlendirilmiştir.

Biyokimyasal parametreler

Kontrol ve uygulama gruplarına ait hayvanlardan alınan kan numuneleri biyokimyasal parametreler için değerlendirilmiştir. Alınan kan örnekleri toplanıp +4°C'de bekletildikten sonra aynı gün Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan MINDRAY BS-120 VET Biyokimya cihazıyla çalışılmıştır. İnorganik fosfor (P) (g/mL), Kalsiyum (Ca) (mg/mL), Albümin (Alb) (g/mL), Trigliserit (TG) (mg/mL), Total Protein (TP) (mg/mL), Total Kolesterol (mg/dL), Kreatinin (Cre) (mg/dL), Bilirubin (Bil) (mg/dL), Gama Glutamil Transpeptidaz (GGT) (U/L), Alkalın Fosfataz (ALP) (U/L), Aspartat Aminotransferaz (AST) (U/L), Ürea (mg/dL), Alanin Aminotransferaz (ALT) (U/L) biyokimya parametrelerine bakılmıştır.

Hematolojik parametreler

Kontrol ve uygulama gruplarına ait hayvanlardan alınan kan numuneleri hematolojik parametreler için değerlendirilmiştir. Alınan kan örnekleri toplanıp +4°C'de bekletildikten sonra aynı gün Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan MINDRAY BC-5000 VET Biyokimya cihazıyla çalışılmıştır. Hematokrit (Hct), Hemogloblin (Hgb), Platelet (Plt), Kırmızı kan hücresi (RBC) ve Beyaz kan hücresi (WBC) değerlerine bakılarak değerlendirilmiştir.

Histopatolojik değerlendirme

Histopatolojik inceleme için, her bir deney grubundaki her hayvandan uygun yöntemlerle kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve dalak alınarak %10'luk formalin solüsyonuna konulmuştur. Solüsyon içindeki organlar T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Konya Veteriner Kontrol Enstitüsü Patoloji Laboratuvarına analiz için gönderilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

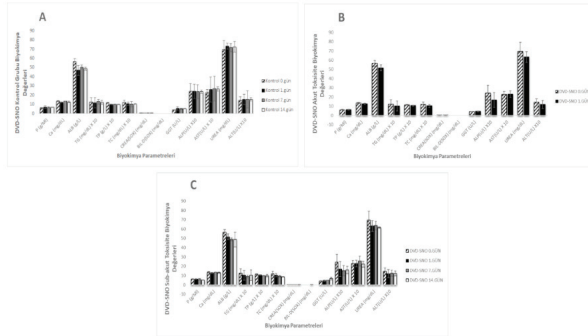
Klinik Gözlemsel Bulgular

Her bir deney grubundaki hayvanlar deney süresi bo-

yunca rutin olarak solunum, motor aktiviteleri, konvülsiyon, refleksler, oküler işaretler, salivasyon, piloereksiyon, analjezi, kas tonusu, gastrointestinal ve deride gözlemler yapılarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda DVD-SNO® gıda takviyesi verilen ürün grubundaki hayvanlar kontrol grubuyla kıyaslandığında benzer bulunmuştur. Gruplar arasında gözlemler yapılarak klinik gözlem açısından herhangi bir farklılık görülmemiştir.

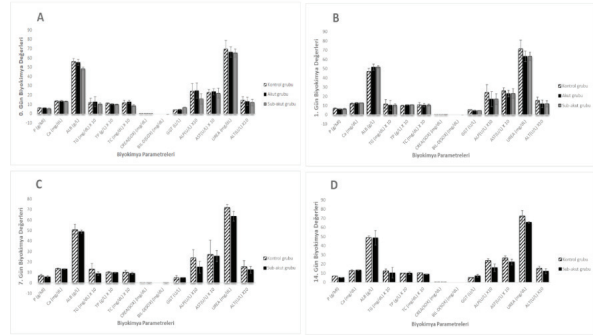
Biyokimyasal Parametreler

DVD-SNO® ürününe ait kontrol grubu, akut toksisite grubu ve sub-akut toksisite grubuna ait 0, 1, 7 ve 14. günlerine ait biyokimyasal verileri Şekil 1'de verilmiştir. Bu verilere göre 13 farklı biyokimyasal parametreye bakılmış olup kontrol grubu, akut toksisite grubu ve sub-akut toksisite grubunun 0, 1, 7 ve 14. günlerine ait veriler arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 1: DVD-SNO® ürününe ait biyokimya parametre grafikleri A) Kontrol grubuna ait günler arası biyokimya grafiği B) Akut toksisite grubuna ait günler arası biyokimya grafiği C) Sub-akut toksisite grubuna ait günler arası biyokimya grafiği (Grafikte TG, TP, TC, ALP, AST, ALT değerleri $\times 10$ olarak ifade edilmiştir) (Grafikteki değerler ortalama \pm SD olarak verilmiştir.)

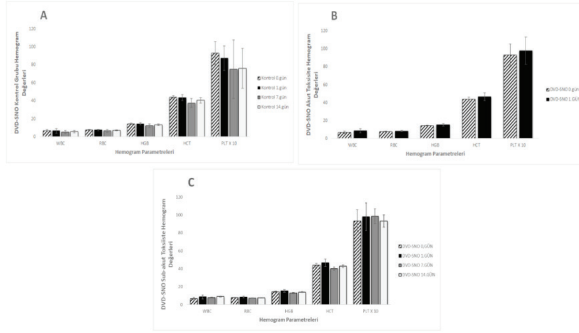
DVD-SNO® ürününe ait tüm grupların 0, 1, 7 ve 14. günlerine ait gruplar arası biyokimyasal verileri Şekil 2'de verilmiştir. Bu verilere göre 0, 1, 7 ve 14. günlerin kendi içinde gruplar arası herhangi bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 2: DVD-SNO® ürününe ait farklı günlerde gruplar arası biyokimya grafikleri A) Tüm grupların 0. gün biyokimya grafiği B) Tüm grupların 1. gün biyokimya grafiği C) Tüm grupların 7.gün biyokimya grafiği D) Tüm grupların 14.gün biyokimya grafiği (Grafikte TG, TP, TC, ALP, AST, ALT değerleri $\times 10$ olarak ifade edilmiştir) (Grafikteki değerler ortalama \pm SD olarak verilmiştir.)

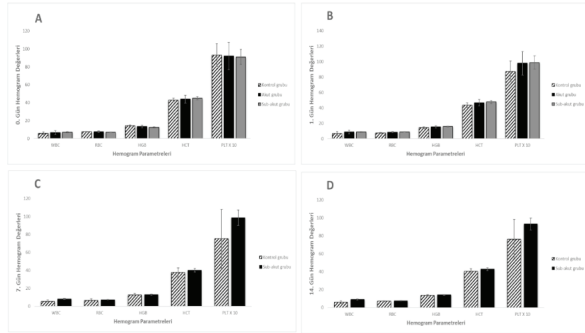
Hematolojik Parametreler

DVD-SNO® ürününe ait kontrol grubu, akut toksisite grubu ve sub-akut toksisite grubuna ait 0, 1, 7 ve 14. günlerine ait hematolojik verileri Şekil 3'de verilmiştir. Bu verilere göre 5 farklı hematolojik parametreye bakılmış olup kontrol grubu, akut toksisite grubu ve sub-akut toksisite grubunun 0, 1, 7 ve 14. günlerine ait veriler arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 3: DVD-SNO® ürününe ait hemogram parametre grafikleri A) Kontrol grubuna ait günler arası hemogram grafiği B) Akut toksisite grubuna ait günler arası hemogram grafiği C) Sub-akut toksisite grubuna ait günler arası hemogram grafiği (Grafikte PLT değerleri x10 olarak ifade edilmiştir) (Grafikteki değerler ortalama \pm SD olarak verilmiştir.)

DVD-SNO® ürününe ait tüm grupların 0, 1, 7 ve 14. günlere ait gruplar arası hematolojik verileri Şekil 4'de verilmiştir. Bu verilere göre 0, 1, 7 ve 14. günlerin kendi içinde gruplar arası herhangi bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 4: DVD-SNO® ürününe ait farklı günlerde gruplar arası hemogram grafikleri a) Tüm grupların 0. gün hemogram grafiği b) Tüm grupların 1. gün hemogram grafiği c) Tüm grupların 7.gün hemogram grafiği d) Tüm grupların 14.gün hemogram grafiği (Grafikte PLT değerleri x10 olarak ifade edilmiştir) (Grafikteki değerler ortalama \pm SD olarak verilmiştir.)

Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme için, her bir deney grubundaki her hayvandan uygun yöntemlerle alınan organların his-

topatolojisi genel olarak değerlendirilmiştir. DVD-SNO® gıda takviyesi verilen ürün grubundaki hayvanlar ile kontrol grubundaki hayvanların histopatoloji sonuçları akciğerde; interstiyel ve bronkointerstiyel pnömoni, kalpte; dejenerasyon, hiperemi ve nekroz, karaciğerde; hiperemi, kanama ve nekroz böbrekte; pigmentasyon, dejenerasyon, hiperemi, kanama ve nekroz, dalakta; pigmentasyon, dejenerasyon, hiperemi kanama ve nekroz açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir. Histopatolojik olarak DVD-SNO® gıda takviyesi verilen ürün grubundaki hayvanlar ile kontrol grubundaki hayvanların karşılaştırıldığında herhangi bir farklılık görülmemiştir.

Toksisite testleri, geçmişten günümüze dek geleneksel olarak kullanılan bitkilerin bilinçsiz tüketiminin önüne geçerek daha güvenilir doz aralıklarını ortaya koymaktadır. Ayrıca bu testler, doğal oldukları göz önünde bulundurulurken zararsız olduğu düşünülen bitkisel ürünlerin olası etkilerini belirlemede literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır.

DVD-SNO® gıda takviyesi ürünün içindeki bitkilerden bir tanesi olan Silybum marianum, aktif maddesi olarak bilinen asdamarinin 250-1000 mg/kg akut ve sub-akut toksisitesinin araştırıldığı çalışmada biyokimyasal ve histopatolojik toksisite bulunmamıştır. Silimarin ekstraktlarının güvenilir olduğu ve iyi tolere edildiği bilinmektedir. Klinik çalışmalarda minimum toksik etkiler veya yan etkiler görülmektedir. Önerilen doz aralığında alındığında bildirilen olumsuzluklar hafif bir müshil etkisi gastrointestinal rahatsızlık ve nadir alerjik reaksiyonlardır.²⁴ Yine DVD-SNO® gıda takviyesi içerisinde bulunan bitkilerden olan Rosmarinus officinalis sıçanlarda tekrarlanan oral doz toksisite çalışmalarında, biberiye ekstrelerinin mutlak ve nispi karaciğer ağırlık artışları gözlenmiştir. Bu değişikliklerin geri dönüşümlü olduğu gösterilmiş ve başka hiçbir toksisite belirtisi gözlenmemiştir.²⁵ Curcuma longa'nın esansiyel yağının ağırlıkça 0.1, 0.25 ve 0.5 g/kg olmak üzere üç farklı doz sıçanlara uygulanarak akut, su-

bkronik ve genotoksisitesini araştıran bir çalışmada hiçbir toksisiteye rastlanmamıştır.²⁶ *Fumaria officinalis* ile ilgili yapılan çalışmalar sınırlı sayıda olmakla birlikte herhangi bir toksisitesi olmadığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda *Cichorium intybus* türüne ait herhangi bir toksisite kaydedilmemiştir²⁷. *Plantago majör*'ün belirlenen etkin dozlarda kullanımı durumunda herhangi bir toksisitesi söz konusu değildir.²⁸

Bu bağlamda DVD-SNO® ürünün içinde bulunan bitkilerin literatürde toksisite çalışmalarına baktığımızda ayrı ayrı bazı veriler olsa da birlikte kullanımları ile ilgili bir toksisite çalışması bulunmamaktadır. Bu çalışmada, DVD-SNO® gıda takviyesi ürününün toksisitesi deney hayvanlarında araştırılmıştır. Yapılan akut ve sub-akut toksisite testine göre klinik gözlem, biyokimyasal, hematolojik ve histopatolojik parametre verileri bir bütün olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak DVD-SNO® gıda takviyesi ürünün günlük kullanım miktarlarının sıçanlara uyarlanan dozunda akut ve sub-akut toksisitesinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışma kombine tıbbi bitki içeren bitkisel karışımların bilimsel kanıta dayalı olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca daha ileriki çalışmalar içinde öncül olacaktır.

Kaynaklar

1. Yasar M, The remember regeneration therapy method: An overview of new therapy protocol to approach diseases. *J Complement Med. Res.* 2019;10(1):68-80.
2. Kren V, Walterová D. Silybin and silymarin-new effects and applications. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2005;149(1):29-41.
3. Chladek J, Martinkova J, Sisera L. An in vitro study on methotrexate hydroxylation in rat and human liver. *Physiol Res.* 1997;46:371-380.
4. Lev E. Ethno-diversity within current ethno-pharmacology as part of Israeli traditional medicine-A review. *J Ethnobiol Ethnomed.* 2006;2(1):4.
5. Perry EK., Pickering AT, Wang WW, Houghton PJ, Perry NS. Medicinal plants and Alzheimer's disease: from ethnobotany to phytotherapy. *J Pharm Pharmacol.* 1999;51(5):527-534.
6. Freires, IA, Denny C, Benso B, Alencar SM, Rosalen PL. Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. *Molecules.* 2015;20(4):7329-7358.
7. Nieto G, Ros G, Castillo J. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines.* 2018;5(3):98.
8. Sakr SA, Lamfon, HA. Protective effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves extract on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in albino rats. *Life Sci J.* 2012;9(1):779-785.
9. Afonso MS, Silva AM, Carvalho EB, et al. Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Nutr Metab.* 2013;10(1):19.
10. Aggarwal BB, Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem pharmacol.* 2006;71(10):1397-1421.
11. Zorofchian Moghadamtousi S, Abdul Kadir H, Hassandarvish P, Tajik H, Abubakar S, Zandi K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *Biomed Res Int.* 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/186864>.
12. Tomeh MA, Hadianamrei R, Zhao X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *Int J Mol Sci.* 2019;20(5):1033.
13. Soleimani V, Sahebkar A, Hosseinzadeh H. Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: Review. *Phytother Res.* 2018;32(6):985-995.
14. Torck M, Pinkas M, Bézanger-Beauquesne L. The flavone heterosides of the fumitory. *Fumaria officinalis* L., *Fumariaceae*. *Ann Pharm Fr.* 1971;29(12):591-596.
15. Al-snafi AE. Constituents and pharmacology of *Fumaria officinalis*- A review. *IOSR Journal of Pharmacy.* 2020;10(1):17-25.
16. Street RA, Sidana J, Prinsloo G. *Cichorium intybus*: Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:579319. doi: 10.1155/2013/579319.
17. Fleming, T., *PDR for herbal medicines: From Medical Economics Company.* New Jersey: USA, 2000. 253.
18. Al-Snafi AE. Medical importance of *Cichorium intybus*-A review. *IOSR Journal of Pharmacy.* 2016;6(3):41-56.
19. Zubair M, Ekholm A, Nybom H, Renvert S, Widen C, Rumpunen K. Effects of *Plantago major* L. leaf extracts on oral epithelial cells in a scratch assay. *J Ethnopharmacol.* 2012;141(3):825-830.
20. Velasco-Lezama, R., et al., Effect of *Plantago major* on cell proliferation in vitro. *Journal of ethnopharmacology,* 2006;103(1):36-42.
21. Anonymous. ISO 10993-11:2017 (en), Biological evaluation of medical devices - Part 11: Tests for systemic toxicity. International Organization for Standardization. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:10993:-11:ed-3:v1:en>. Published 2017.
22. Anonymous. ISO 10993-12:2012 (en), Biological evaluation of medical devices - Part 12: Sample preparation and reference materials. International Organization for Standardization. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:10993:-12:ed-4:v1:en>. Published 2012.
23. Anonymous. ISO 10993-2:2006 (en), Biological evaluation of medical devices - Part 2: Animal welfare requirements. International Organization for Standardization. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:10993:-2:ed-2:v1:en>. Published 2015.
24. Tamayo C, Diamond S. Review of clinical trials evaluating safety and efficacy of milk thistle (*Silybum marianum* [L.] Gaertn.). *Integr Cancer Ther.* 2007;6(2):146-157.
25. Fiume MM, Bergfeld WF, Belsito DV, Et al. Safety Assessment of *Rosmarinus Officinalis* (Rosemary)-Derived Ingredients as Used in Cosmetics. *Inter J Toxicol.* 2018;37:12-50.
26. Liju VB, Jeena K, Kuttan R. Acute and subchronic toxicity as well as mutagenic evaluation of essential oil from turmeric (*Curcuma longa* L). *Food Chem Toxicol.* 2013;53:52-61.
27. Schmidt BM, Illic N, Poulev A, Raskin I. Toxicological evaluation of a chicory root extract. *Food Chem. Toxicol.* 2007;45(7):1131-1139.
28. Najafian Y, Hamed S, Farschchi MK, Feyzabadi Z. *Plantago major* in Traditional Persian Medicine and modern phytotherapy: a narrative review. *Electron Physician.* 2018;10(2):6390-6399.