T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

SARI KANTARONUN (*Hypericum perforatum*) OKSİDATİF STRES KOŞULLARINDA MÜLLER HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

BURCU DİKEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ ASLI UĞURLU BAYARSLAN

NİSAN - 2022

KASTAMONU

TEZ ONAYI

Burcu Dikel tarafından hazırlanan "**Sarı Kantaronun (*Hypericum perforatum*) Oksidatif Stres Koşullarında Müller Hücreleri Üzerine Etkisi**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **12.04.2022** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Aslı UĞURLU BAYARSLAN Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ergin Murat ALTUNER Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Elif EREN Bahçeşehir Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü	Prof. Dr. İzzet ŞENER	.....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Burcu DİKEL

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SARI KANTARONUN (*Hypericum perforatum*) OKSİDATİF STRES KOŞULLARINDA MÜLLER HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

BURCU DİKEL

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN:DR. ÖĞR. ÜYESİ ASLI UĞURLU BAYARSLAN

Müller hücreleri retina sağlığı ve fonksiyonunun korunmasında önemli rol oynayan ana glia hücreleridir. Müller hücreleri tüm retina boyunca yayılarak nöronlar ve kan damarları ile etkileşim halindedir. Müller hücreleri, nöronların hayatta kalması ve işlevlerini yerine getirebilmeleri için gerekli faktörleri salgılar. Hastalık durumunda Müller hücrelerinin hasara uğraması nöron fonksiyon bozukluğu ve hücre ölümüyle birlikte diyabetik retinopati gibi retinal patolojilere yol açmaktadır. Sarı kantaron olarak bilinen *Hypericum perforatum* L., Hypericaceae familyasının çok yıllık otsu bir bitkisidir. Farmakolojik ve klinik çalışmalar, sarı kantaronun antibakteriyel, antiviral, anti-enflamatuar, antioksidan, antidepresan, antikanser ve nöroprotektif aktiviteleri olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, sarı kantaron özütleri (su, etil asetat, metanol), sarı kantaron yağı ve sarı kantaron bileşenlerinden hiperisin ve hiperforinin H_2O_2 ile MIO-M1 hücrelerinde indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu etkinliği irdelenmiştir. Hücre canlılığı analizi sonuçlarına göre 1000 µg/ml su özütü muamelesi ile koruyucu etkinlik tespit edilmiştir. Sarı kantaron su özütünün detaylı içerik analizi, MIO-M1 hücreleri üzerinde oksidatif strese karşı koruyucu aktiviteye sahip olan bileşenlerin belirlenmesine olanak sağlayacaktır.

ANAHTAR KELİMELER: Retina, Müller hücreleri, sarı kantaron, hiperisin, hiperforin

Nisan 2022, 45 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

THE EFFECT OF ST. JOHN'S WORT (*Hypericum perforatum*) ON MÜLLER CELLS UNDER OXIDATİVE STRESS CONDITIONS

BURCU DİKEL

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

SUPERVISOR:ASSIST. PROF. DR. ASLI UĞURLU BAYARSLAN

Müller cells are the main glial cells that play an important role in maintaining retinal health and function. Müller cells spread throughout the entire retina and interact with neurons and blood vessels. Müller cells secrete factors necessary for neurons to survive and function. In diseased state, damage to Müller cells leads to neuronal dysfunction and cell death, as well as retinal pathologies such as diabetic retinopathy. *Hypericum perforatum* L., known as St John's Wort, is a perennial herbaceous plant in the Hypericaceae family. Pharmacological and clinical studies have shown that St. John's Wort extracts have antibacterial, antiviral, anti-inflammatory, anti- oxidant, antidepressant, anticancer and neuroprotective activities. In this study, the protective effects of St. John's Wort extracts (water, ethyl acetate, methanol), St. John's Wort oil, hypericin and hyperforin against H_2O_2-induced oxidative stress in MIO-M1 cells were investigated. According to the results of cell viability analysis, protective activity was observed with 1000 µg/ml water extract treatment. Chemical composition analysis of water extract would allow the determination of the components that possess the protective activity on MIO-M1 cells against oxidative stress.

KEYWORDS: Retina, Müller cells, St. John's Wort, hypericin, hyperforin

April 2022, 45 Page

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgisini ve desteğini esirgemeyen, tecrübelerini aktararak rehberlik eden ve yönlendiren değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Aslı UĞURLU BAYARSLAN'a teşekkürü borç bilirim.

Jüri üyelerim Prof. Dr. Ergin Murat ALTUNER ve Dr. Öğr. Üyesi Elif EREN'e, zamanlarını ayırarak bu tezi değerlendirdikleri için teşekkürlerimi sunarım. Çalışmada kullanmış olduğum bitki materyallerinin temini ve özütlerin elde edilmesinde katkısı olan Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU, Doç. Dr. Gökhan ZENGİN ve Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY'e teşekkürlerimi sunarım. Birlikte çalıştığım laboratuvar arkadaşım Hilal METİN'e yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Yardımlarından dolayı Öğr. Gör. Hasan MAKARA'ya teşekkür ederim.

Öğrenimim boyunca beni destekleyen ve yüreklendiren annem Selma DİKEL, babam Ergün DİKEL ve nişanlım Hüseyin ÇİÇEK'e teşekkür ederim.

BURCU DİKEL
Kastamonu, 2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ... **ii**
TAAHHÜTNAME ... **iii**
ÖZET ... **iv**
ABSTRACT ... **v**
TEŞEKKÜR ... **vi**
İÇİNDEKİLER ... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ... **x**
GRAFİKLER DİZİNİ ... **xi**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ... **xii**
1. GİRİŞ ... **1**
1.1 Göz ... 1
1.2 Retina ... 2
1.2.1 Müller Glia ... 3
1.3 Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres ... 5
1.4 Sarı Kantaron (Hypericum perforatum L.) ... 6
1.4.1 Hiperforin/Hiperisin ... 8
2. KURAMSAL TEMELLER ... **10**
2.1 Sarı Kantaronun Biyolojik Aktiviteleri ... 10
2.2 Hiperisinin Biyolojik Aktiviteleri ... 11
2.3 Hiperforinin Biyolojik Aktiviteleri ... 12
3. MALZEME VE YÖNTEM ... **14**
3.1 MALZEMELER ... 14
3.1.1 Bitki Materyalleri ... 14
3.1.2 Hücre Kültürü Kimyasalları ... 14
3.1.3 Cihazlar ... 15
3.2 YÖNTEM ... 15
3.2.1 Hücre Kültürü ... 15
3.2.2 H_2O_2 Muamelesi ... 16
3.2.3 Sarı Kantaron Özütleri/Yağı/Bileşenlerinin Koruma Aktivitesi ... 16
3.2.4 MTT Analizi ... 16
3.2.5 İstatistiksel Analiz ... 17
4. BULGULAR ... **18**
4.1 H_2O_2 ile İndüklenen Oksidatif Stres ... 18
4.2 Su Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği ... 19
4.3 EA Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği ... 20
4.4 MetOH Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği ... 21
4.5 Sarı Kantaron Yağının Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği ... 22
4.6 Hiperisinin Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği ... 23
4.7 Hiperforinin Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği ... 24
5. TARTIŞMA ... **26**
6. SONUÇ VE ÖNERİLER ... **28**
KAYNAKLAR ... **29**
EKLER ... **37**

Ek-A H_2O_2 ile İndüklenen Oksidatif Stres 38
Ek-B Su Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği 39
Ek-C EA Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği 40
Ek-D MetOH Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği 41
Ek-E Sarı Kantaron Yağının Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği. 41
Ek-F Hiperisinin Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği 42
Ek-G Hiperforinin Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği 43
ÖZGEÇMİŞ 45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 Gözün kısımları 2
Şekil 1.2 Retina tabakaları 3
Şekil 1.3 Müller Glia 4
Şekil 1.4 MIO-M1 Hücreleri 5
Şekil 1.5 Sarı Kantaron 7
Şekil 1.6 Hiperforinin kimyasal formülü 9
Şekil 1.7 Hiperisinin kimyasal formülü 9
Şekil 4.1 H_2O_2 muamelesi sonucu MIO-M1 hücre morfolojisi 18

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1 Sarı kantaronun sistematiği 7
Tablo 1.2 Sarı kantaronun kimyasal bileşenleri 8
Tablo 3.1 Kimyasallar 14
Tablo 3.2 Cihazlar 15

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1 H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları 19
Grafik 4.2 Su özütü ve H_2O_2muamelesi MTT sonuçları..... 20
Grafik 4.3 Etil asetat özütü ve H_2O_2muamelesi MTT sonuçları..... 21
Grafik 4.4 Metanol özütü ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları 22
Grafik 4.5 Sarı kantaron yağı ve H_2O_2muamelesi MTT sonuçları 23
Grafik 4.6 Hiperisin ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları 24
Grafik 4.7 Hiperforin ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları 25

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

cm	: Santimetre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
%	: Yüzde

Kısaltmalar

AMD	: Makula Dejenerasyonu
CNTF	: Siliyer Nörotrofik Faktör
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagles Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DR	: Diyabetik Retinopati
EA	: Etil Asetat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FBS	: Fetal Bovin Serum
FDA	: Food and Drug Administration
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
H_2O_2	: Hidrojen Peroksit
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LIF	: Lösemi Önleyici Faktör
metOH	: Metanol
NBP	: Dl-3-N-Bütilftalid
PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
RPE	: Retina Pigment Epiteli
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

1. GİRİŞ

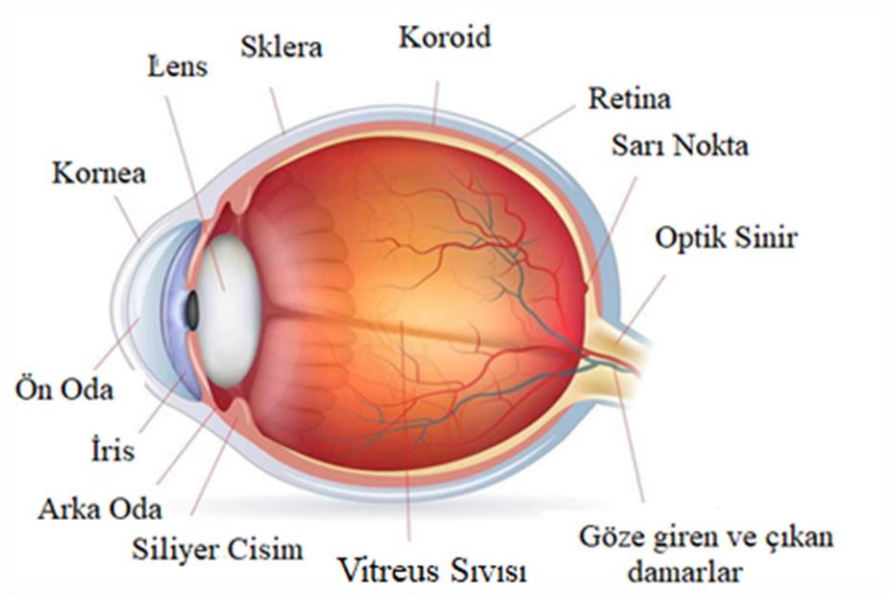
Tıbbi bitkiler, eski çağlardan bu yana hastalıkların geleneksel tedavisinde kullanılmaktadır. Türkiye uzun yıllar boyunca farklı medeniyetlerin yerleşmesinden ötürü zengin kültür, flora ve kendine has bir halk tıbbına sahiptir. Tıbbi bitkiler, ucuz ve kolay bir tedavi olanağı sağlaması, etki alanının geniş olması sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Sentetik bileşikler genellikle tek bir etkiye sahiptir ve yan etkileri gidermek için başka ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır (Toker, 2002). Geçmişten bugüne bitkiler ilaçların bileşiminde kullanılmış ve insan sağlığı için birçok olumlu etki göstermiştir.

1.1 Göz

Göz, 2,5 cm çapında, 6,5 ml hacminde görmeyi sağlayan organdır. (Forrester vd. 2016). Göz küresi, göz çukurunda bulunur ve burada bulunan kemikler tarafından korunur. Göz küresi, dış koruyucu tabaka (sert tabaka, sklera); kan damarları, pigment hücreleri ve kas liflerinden oluşan orta tabaka (damar tabaka, koroid tabaka) ve ışığa duyarlı iç tabaka (ağ tabaka, retina) olmak üzere üç doku katmanından oluşur (Şekil 1.1) (Abu-Reidah vd. 2015; Gielen vd. 2005).

Sert tabaka gözü korur (Jones ve Thornback, 2007). Sert tabakanın ön kısmının saydamlaşmasıyla oluşan kornea ışığın ilk kırıldığı yerdir. Damar tabaka, kan damarı bakımından zengin olduğu için gözü besler. Gözün ön kısmında kalınlaşarak irisi oluşturur. İris kasılıp gevşeyerek göze giren ışık miktarını ayarlar ve göze renk veren pigmentler içerir. İrisin ortasında bulunan boşluğa göz bebeği denir. Göz bebeği, az ışıklı ortamda göze daha fazla ışık girebilmesi için büyür; çok ışıklı ortamda ise göze fazla ışık girmesini önlemek için küçülür (Patil ve Dowd 2000). Göz bebeğinin arkasında bulunan göz merceği göze gelen ışınları kırarak ağ tabaka üzerine düşmesini sağlar. Ağ tabaka (retina) gözün en iç kısmında bulunur. Retinada görmeyi sağlayan ışığa ve renge duyarlı fotoreseptörler bulunur. Görsel sinyaller retinadan beyne optik sinir vasıtasıyla iletilmektedir (Chiang vd. 2018).

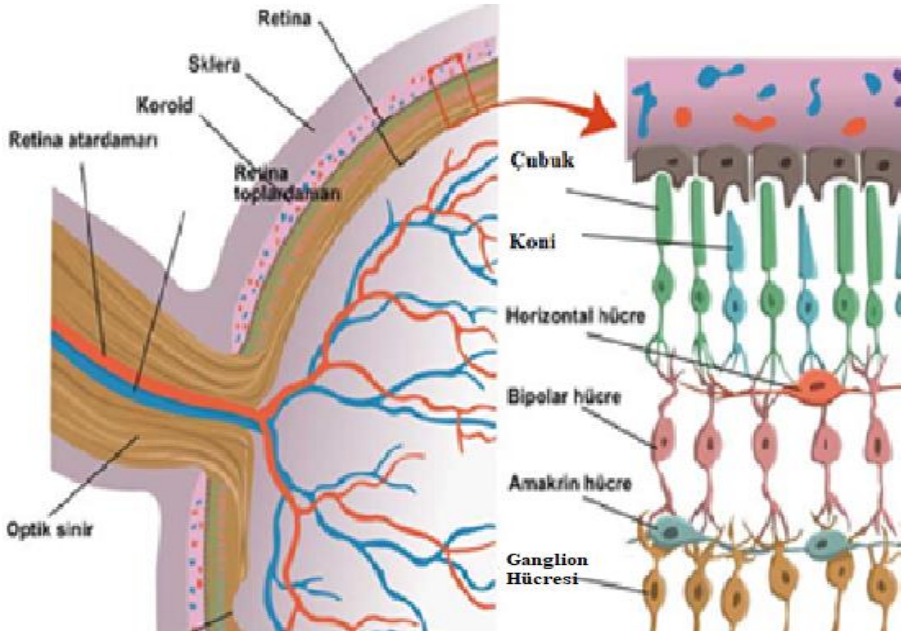
Görme olayı ‘ışık → kornea → gözbebeği → mercek → retina → optik sinirler → beyin‘ rotasını takip etmektedir.



Şekil 1.1 Gözün yapısı (URL-1 2021)

1.2 Retina

Retina ışık enerjisinin sinir iletisine dönüştüğü ve doğrudan beyinle bağlantılı bir dokudur (Aydın ve Akova, 2001; Kermany vd. 2018). Omurgalı retinası çok katmanlı bir yapıda olup sinapslarla birbirine bağlı altı tip nöron içermektedir (Şekil 1.2). Çubuk (rod) ve koni (kon) hücreleri ışığa duyarlı fotoreseptörlerdir. Çubuk hücreleri siyah-beyaz görüşü sağlarken, koni hücreleri ise renk algısının yanı sıra keskin görüşten sorumludur. Çubuk ve koni hücrelerinden gelen sinyaller üç tip internöron (horizontal hücreler, bipolar hücreler, amakrin hücreler) tarafından işlenir. Ganglion hücreleri internöronlardan alınan görsel veriyi optik sinir aracılığıyla beyne iletir (Sigelman, 1984).



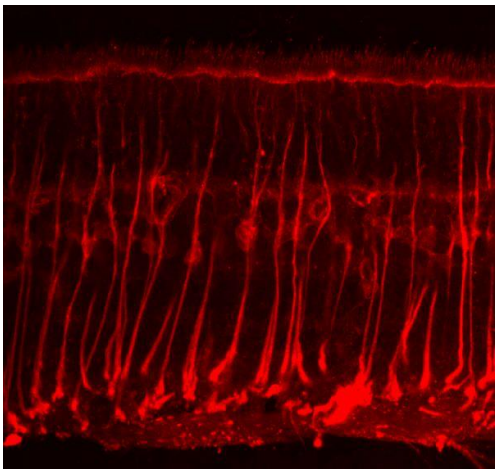
Şekil 1.2 Retina tabakaları (URL-2, 2021)

1.2.1 Müller Glia

İnsan retinası iki çeşit makroglia (astrositler, Müller glialar) ve bir çeşit mikroglia olmak üzere üç çeşit glial hücre içerir. Retinanın başlıca glia hücreleri olan Müller hücreleri, tüm retina boyunca yayılarak nöronlar ve kan damarlarıyla temas etmektedir (Şekil 1.3) (Bringmann vd. 2006). Sağlıklı retinada Müller hücreleri, su, iyon ve pH'ı düzenleyerek doku homeostazını korumaktadır (Nagelhus vd. 1998). Bu hücreler retinanın glikoz metabolizmasını düzenleyerek oksidatif metabolizma için gerekli besin maddelerini sağlamaktadır (Osborne vd. 2004). Ayrıca, retinada kan akışı ve anjiyogenezde rol oynamaktadır (Paulson ve Newman, 1987). Ek olarak, Müller hücreleri, nöronların hayatta kalması ve işlevlerini yerine getirebilmeleri için gerekli VEGF, TGF, FGF, CNTF, LIF ve GDNF gibi faktörleri salgılamaktadır (Cinaroglu vd. 2005).

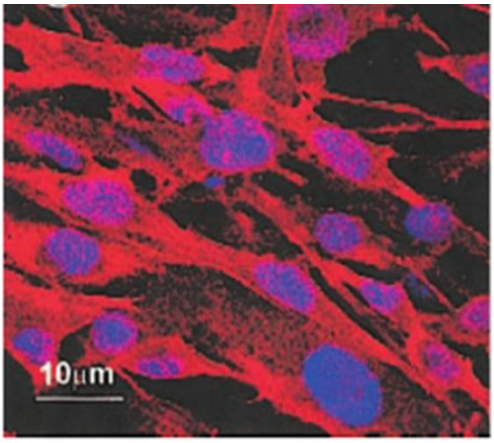
Müller hücreleri, normal retina fonksiyonunun yanı sıra retina hasarı ve hastalık durumunda da aktif oyunculardır. Reaktif Müller hücreleri, antioksidanlar ve nörotrofik faktörler salgılayarak dokuyu daha fazla hasardan korur. Bununla birlikte, hasar durumunun ilerleyen evrelerinde Müller hücre gliozisi nörodejenerasyona katkıda bulunabilir. Müller hücrelerinin hasara uğraması sonucu nöron fonksiyon

bozukluğu ve hücre ölümü retinal patolojilere yol açmaktadır (Reichenbach ve Bringmann, 2020).



Şekil 1.3 Müller Glia (URL-3, 2022)

Müller hücreleri, nöral progenitör/kök hücrelerin üretilmesiyle retinal rejenerasyona katkıda bulunabilir. Zebra balığı, civciv ve sıçan retinasında hasar sonrası Müller hücrelerinin çoğaldığı, kök hücre özellikleri kazandığı ve yeni nöronlar oluşturduğu gösterilmiştir (Goldman, 2016). Yetişkin insan retinasında hasar sonrası Müller hücrelerinde çoğalma gözlemlenirken, rejenerasyon tespit edilmemiştir. Buna rağmen, insan retinasından izole edilen küçük bir hücre popülasyonunun hem Müller glia hem de nöral kök hücre özellikleri sergilediğine dair bulgular mevcuttur (Guo vd. 2003). MIO-M1 hücreleri post-mortem insan retinasından izole edilmiş ölümsüzleştirilmiş bir Müller hücre hattıdır (Şekil 1.4). Hücre kültüründe 120 pasaja kadar türetilebilen MIO-M1 hücreleri kök hücre benzeri özelliklere ve çeşitli nöron tiplerine farklılaşma yeteneğine sahiptir (Lawrence vd. 2007).



Şekil 1.4 MIO-M1 hücreleri (Limb vd. 2002)

1.3 Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Redoks reaksiyonu sırasında ara ürün olarak reaktif oksijen türleri (ROT) üretilmektedir (Kim ve Byzova, 2014). Reaktif oksijen türleri, hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ve serbest radikaller içerir. Oksidatif stres, hücreler ve dokularda ROT üretimi ve birikimi ile biyolojik sistemin bu reaktif ürünleri detoksifiye etme yeteneği arasındaki dengesizliğin neden olduğu bir olgudur. Çevresel stres faktörleri (UV, iyonize radyasyon, kirleticiler ve ağır metaller) ve ksenobiyotikler de ROT üretimini artırmaya katkıda bulunur. Son yıllarda, E vitamini, flavonoidler ve polifenoller gibi antioksidanlardan oksidatif strese karşı yararlı etkileri nedeniyle yararlanılmıştır (Pizzino vd. 2017). Çok sayıda çalışma, oksidatif stresin çeşitli hastalıkların başlangıcında ve/veya ilerlemesinde farklı derecelerde sorumlu olabileceğini göstermektedir (Taniyama ve Griendling 2003). Oksidatif stres kanser gelişiminde DNA hasarından sorumlu uyaranlardan biridir (Valko vd. 2004). Oksidatif stres kardiyovasküler hastalıklar için birincil veya ikincil bir neden olarak düşünülmektedir (Pisoschi, (2015). Oksidatif stres çeşitli nörolojik hastalıklarla (Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, amyotrofik lateral skleroz, multipl skleroz, depresyon ve hafıza kaybı) ile ilişkilendirilmiştir (Halliwell, 2001). Bazı araştırmalar, astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi akciğer hastalıklarının oksidatif stresle bağlantılı olduğuna işaret etmiştir (Caramori ve Papi, 2004). Romatoid artrit eklemleri ve çevre dokuları etkileyen kronik inflamatuar bir hastalıktır. Serbest radikaller bu sendromun hem başlamasında hem de ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır (Mahajan ve Tandon, 2004). Oksidatif stres, böbrek yetmezliği,

proteinüri ve üremi gibi böbrek fonksiyonunu etkileyen çok sayıda hastalıkta rol oynamaktadır (Droge, 2002). Oksidatif stresin gecikmiş bir cinsel olgunlaşmadan sorumlu olabileceğine de dikkat çekilmiştir (Interdonato vd. 2015).

ROT artışı ve antioksidanların azalması retinayı oksidatif hasara karşı daha duyarlı hale getirir (Cascella vd. 2018). Retina, çoklu doymamış yağ asitlerinin yüksek oranı, yüksek oksijen tüketimi ve görünür ışığa maruz kalması sebebiyle oksidatif strese karşı duyarlıdır (Beatty vd. 2000). Retina pigment epitelinde (RPE) oksidatif stresin neden olduğu hasarın, yaşa bağlı makula dejenerasyonu (AMD) patolojisinde önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (Handa, 2012). Çok sayıda çalışma, diyabetik retinadaki yüksek ROT seviyesinin retinal hücre hasarı ve diyabetik retinopati (DR) patogenezi gelişimine katkıda bulunan hücresel sinyalleşme değişikliğindeki rolünü vurgulamıştır (Kowluru ve Mishra, 2015). Hiperglisemi ve oksidatif stres, diyabetik retinopatinin patogenezinde rol oynayan başlıca faktörlerdir (Geuth, 2006).

1.4 Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.)

Sarı kantaron olarak bilinen *Hypericum perforatum* L., Hypericaceae familyasının çok yıllık otsu bir bitkisidir (Şekil 1.5, Tablo 1.1). Sarı kantaron; kan otu, kılıç otu, binbirdelik otu, yara otu, mayasıl otu gibi bölgesel isimlerle bilinmektedir (Baytop, 1999). Bitki yaprakları incelendiğinde yağ bezeleri parlak noktalar halinde görülür. Bu delikli görüntü nedeniyle bitki binbirdelik otu adını almıştır. Dünyada Asya, Avrupa'nın batısı, Afrika'nın kuzeyi ve Amerika'nın kuzeyinde yayılım göstermektedir. Ayrıca, ülkemizde de doğal olarak yetişmektedir (Zdunić vd. 2009). Sarı kantaron küçük yanıklar, yaralar, deri iltihabı ve sinir ağrısının geleneksel tedavisinde uygulanmaktadır (Tavlı vd. 2020).



Şekil 1.5 Sarı kantaron (URL-4, 2021)

Sarı kantaron içeriğindeki bileşenler sayesinde çeşitli biyolojik aktiviteler göstermektedir (Wang, 2015). Sarı kantaron 6 çeşit biyoaktif bileşen içerir (Tablo 1.2). Bunlar; naftodiantron türevleri, floroglusinol türevleri, flavonoidler, esansiyel yağlar, aminoasitler ve fenolik türevleridir. Hasat zamanı, örneğin hazırlanma yöntemi, tür içindeki genetik varyasyonlar, ekolojik büyüme şartları, ışığa maruz kalma ve depolama koşullarındaki farklılıklar bu bileşenlerin her bitkide farklı yoğunlukta bulunmasına neden olur (Çaycı, 2006).

Tablo 1.1 Sarı kantaronun sistematiği (URL-5, 2022)

Alem	Plantae
Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Malpighiales
Aile	Hypericaceae
Cins	Hypericum
Tür	*Hypericum perforatum*

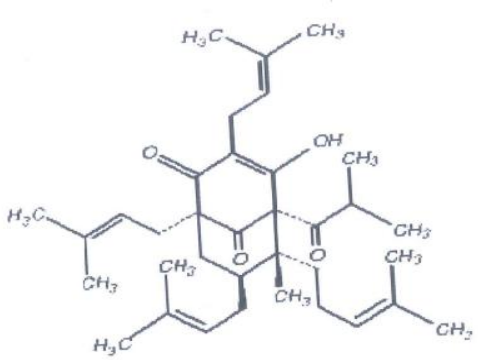
Tablo 1.2 Sarı kantaronun kimyasal bileşenleri (URL-6, 2022)

Naftodiantron	Hiperisin, Psödohiperisin, Protohiperisin, Protopsödohiperisin, Siklohiperisin, Skirin, İzohiperisin
Floroglusinol	Hiperforin, Adhiperforin, Lökosidin, Furanohiperforin, Ksanton
Flavonoid	Hiperozit, Rutin, Kersitrin, Izokersitrin, Kuersetin, Amentoflavon, Kaempferol
Fenolik	Kafeik asit, Klorojenik asit, Ferulik asit, Izofluran asit, p-kumarik asit, p-hidroksibenzoik asit, Vanilik asit
Aminoasit	GABA, Lösin, Lizin, Ornitin, Prolin, Treonin
Esansiyel Yağlar	N-alkanol, N-alkenel, Alfa ve beta pinen, Limonen, Myrcene, Karyofilin, Humulin

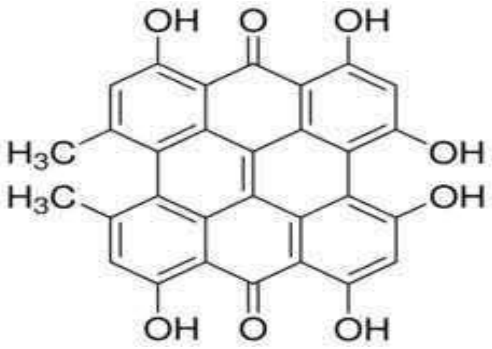
1.4.1 Hiperforin/Hiperisin

Hiperforin ve adhiperforin sarı kantaronun çiçek ve tomurcuklarında bulunan floroglusinol bileşenleridir (Şekil 1.6) (Greeson vd. 2001). Hiperforin, sarı kantoranda %2-4 oranında bulunur (Chatterjee vd. 1998).

Naftodiantronlar sarı kantaronun çiçek ve tomurcuklarında %0,1-0,3 oranında bulunmaktadır. Hiperisin, psödohiperisin ve bu bileşiklerin biyosentetik prekürsörleri olan protohiperisin, protopsödohiperisin ve eser miktarda bulunan siklohiperisin naftodiantron türevi bileşikler sınıfındadır (Şekil 1.7) (Monographs, 2003). Nafrodiantronlar sarı kantarona kırmızı rengi veren ve sarı kantaronun fototoksik özelliklerinden sorumlu olan bileşiklerdir. Hiperisin hücre membranının yağ katmanları arasına girebilen lipofilik yapıdadır (Cui vd. 2002).



Şekil 1.6 Hiperforinin kimyasal formülü (URL-7, 2021)



Şekil 1.7 Hiperisinin kimyasal formülü (URL-8, 2021)

2. KURAMSAL TEMELLER

Sarı kantaron içeriğindeki bileşenler sayesinde çeşitli biyolojik aktiviteler gösteren tıbbi bir bitkidir. Farmakolojik ve klinik çalışmalar sarı kantaron özütleri ve bileşenlerinin antibakteriyel, antiviral, anti-enflamatuar, antioksidan, antidepresan, antikanser ve nöroprotektif etkinliği olduğunu göstermiştir (Franchi vd. 2011).

2.1 Sarı Kantaronun Biyolojik Aktiviteleri

Sarı kantaron binlerce yıldır kesikleri, sıyrıkları ve diğer yaraları tedavi etmek için kullanılmıştır. Enflamasyonu azaltmada yararlı olduğu bilinmekte ve bu etkinlik antibakteriyel aktivite ile ilişkilendirilmektedir (Motallebnejad vd. 2008). Ayrıca *H. perforatum'*un yağ özütleri anti-inflamatuar ve mide koruyucu aktivite göstermiştir (Zdunic vd. 2009). Yapılan araştırmalar sarı kantaronun virüslerle mücadelede faydalı olduğunu öne sürmektedir (Kenneth M. Klemow vd. 2011). Mishenkova vd. (1975), *H. perforatum'un* flavonoid ve kateşin içeren fraksiyonlarının influenza virüsüne karşı aktif olduğunu belirtmişlerdir.

H. perforatum majör depresif bozukluk, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, sosyal fobi, obsesif kompulsif bozukluk, distimik bozukluk, somatoform bozukluklar, anksiyöz depresyon ve mevsimsel duygudurum bozukluğu gibi farklı psikiyatrik rahatsızlıklarda etkili olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (Sarris, J. 2018). Greeson vd., (2001) *H. perforatum'un* antidepresan aktivitesinin tek bir bileşen ve/veya mekanizmadan değil, çok sayıda biyoaktif bileşenin sinerjik etkinliğinden kaynaklandığı fikrini ortaya atmışlardır.

Reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılması veya oluşumunun antioksidanlar tarafından baskılanması, oksidatif hücre hasarının önlenmesinde etkilidir. Hypericum türleri içerdikleri çok sayıda farklı fenolik bileşiklerden dolayı genellikle iyi antioksidan etkiye sahiptir. El-Sherbiny vd., (2003), *H. perforatum* etanol özütünün skopolamin uygulamasına karşı sıçan beyni üzerindeki etkisini incelemiş ve özütün oksidatif hasardan koruyan antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. *H. perforatum*'un *in vitro* serbest radikal giderici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada

özütlerin antioksidan etkisinin konsantrasyonla doğru orantılı olduğu saptanmıştır. *H. perforatum* özütlerinin kuvvetli hidroksil ve süperoksit anyon giderici olduğu ve lipid peroksidasyonunu da önlediği belirtilmiştir (Mir vd. 2019).

H. perforatum oksidatif stresi azaltarak iltihaplanma, gastrointestinal problemler ve nörotoksisiteyi önlemektedir. *H. perforatum,* PC12 nöron hücrelerinde hidrojen peroksit kaynaklı apoptoza karşı etkilidir (Lu vd. 2004). *H. perforatum'*un metanol özütü insan nöroblastom hücre hattı SK-N-MC'de hidrojen peroksit ile indüklenen morfolojik değişiklikleri ve apoptozu azaltmıştır (Jang vd., 2002). Standart *H. perforatum* özütlerinin ayrıca sıçan beynini lipid peroksidasyonuna karşı koruduğu rapor edilmiştir (Benedi vd., 2004). *H. perforatum* özütleri, Alzheimer hastalarının beyinlerinde plak oluşumuna neden olan amiloid peptidlerinin tetiklediği hücre ölümüne karşı koruma sağlamaktadır (Silva vd., 2004). Alzheimer hastalığında plaklar ayrıca mikroglia ve astrosit hücrelerini de etkilemektedir. *H. perforatum* etanol özütü muamelesinin amiloid-β toksisitesine karşı mikroglia hücre canlılığını arttırdığı belirtilmiştir (Kraus vd., 2007). Bromokriptin, Parkinson hastalığının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Bromokriptin terapisinin çeşitli yan etkileri nedeniyle, Mohanasundari vd. (2006), bromokriptin ve *H. perforatumun'un* birleşik etkisini değerlendirmişlerdir. H. *perforatum* özütü ve bromokriptinin birlikte uygulanması lipid peroksidasyonunu düşürmüş ve daha verimli antioksidan aktivite gözlemlenmiştir. Bu nedenle, Parkinson hastalığının tedavisinde bromokriptin ve *Hypericum perforatum* özütü kombine uygulanması önerilmiştir. Zou vd. (2010) *H. perforatum*'un Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi oksidatif stresle ilişkili nörodejeneratif bozuklukları etkili bir şekilde tedavi edebilir fikrini ortaya atmışlardır. *Panax quinquefolius, Ginkgo biloba* ve *H. perforatum* karışımı, aksotomi sonrası retina gangliyon hücresi sağkalımını arttırmıştır (Cheung vd. 2002).

2.2 Hiperisinin Biyolojik Aktiviteleri

Kaltschmidt vd. (2002) hiperisinin, nöronal hayatta kalma ve enflamatuar yanıt gibi çeşitli hücresel süreçlerle ilgili genlerin düzenlenmesinde yer alan transkripsiyon faktörü NF-kB üzerindeki etkisini açıklamışlardır. *H. perforatum* özütlerinin antiviral etkinliğinden sorumlu bileşeni hiperisindir. Hiperisinin antiviral etkisi ışığa bağımlı

reaksiyonlar sonucu gerçekleşmektedir ve bu nedenle ışık faktörü etkinlik açısından önemli rol oynamaktadır. Hiperisin zarflı virüslere karşı etkili olmasına rağmen zarfsız virüslere karşı etkili değildir (Diwu, 1995). Hiperisin, viral yaşam döngüsünün farklı noktalarında zarflı virüsleri etkisiz hale getirir (Lenard vd. 1993). Hiperisin ayrıca virüslerin hücre zarıyla kaynaşma yeteneğini de inhibe eder (Degar vd. 1992).

Hiperisinin ışık ve oksijen varlığında, süperoksit radikalleri üreten güçlü bir ışığa duyarlılaştırıcı olması ve karanlıkta minimum toksisite göstermesi nedeniyle tümör hücreleri üzerindeki fotodinamik etkisi ilgi çekmektedir (Theodossiou vd. 2009). Bu etki başlangıçta sadece deri lezyonları için kullanılırken giderek artan bir şekilde birçok tümör tipi için tedavi olarak kabul edilmektedir. Kanser hücrelerinde hiperisin fotositotoksisitesinin altında yatan moleküler mekanizmaların araştırılması, bu ışığa duyarlılaştırıcının konsantrasyon ve ışık dozuna bağlı bir şekilde hem apoptozu hem de nekrozu indükleyebildiğini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, hiperisinli fotodinamik tedavi, hücre ölüm programını destekleyebilen veya karşı koyabilen çoklu yolların aktivasyonu ile sonuçlanır (Agostinis vd. 2011).

Hem *H. perforatum* özütü hem de hiperisinin iskemik retinopatili farelerde patolojik retinal neovaskülarizasyona karşı koruma sağladığı ve bu etkinliğin retinada azalmış ERK aktivasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Higuchi, 2008).

2.3 Hiperforinin Biyolojik Aktiviteleri

Hiperforin doğal siklooksijenaz-1 ve 5-lipoksijenaz inhibitörlerinden biridir (Albert vd. 2002). Bu iki inhibitör etki sarı kantaron ve hiperforinin iltihaplı deri problemlerini tedavi etmede kullanılma nedenini açıklamaktadır. *H. perforatum*'un antibakteriyel bileşeni olarak kabul edilen hiperforinin Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes ve Corynebacterium diphtheriae gibi gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Pochwat vd. 2018; Saddiqe vd. 2010; Reichling vd. 2001; Schempp 1999).

Araştırmalar hiperforinin antidepresan ilaçlar gibi bazı nörotransmitterlerin (norepinefrin, dopamin, serotonin, GABA, L-Glutamat) geri alınımının önlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Kaehler vd. 1999; Mennini ve Gobbi, 2004).

Fox vd. (1998) hiperforini, glioma, nöroblastoma, melanoma ve lösemi dâhil olmak üzere çeşitli neoplastik dokulardan türetilen hücrelerin büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Schempp ve ark. (2002), hiperforinin antitümör aktivitesine sahip olması, doğal olarak kolayca ve bol miktarda bulunması ve *in vivo* düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle yeni antineoplastik ajan olma potansiyelini belirtmişlerdir.

Hiperforin H_2O_2 ve $(A\beta)_{1-42}$ ile hasar oluşturulan PC12 hücrelerinde doza bağlı olarak hücre canlılığını arttırmıştır (Jiang vd. 2018). Hiperforinin, güçlü anti-inflamatuar ve antioksidan aktivitesi sayesinde kolşisin ile indüklenen Alzheimer modelinde nörokimyasal ve davranışsal değişiklikleri tersine çevirmiştir (Jiang vd. 2018). Wang ve ark. (2019) hiperforinin alüminyum maltolatın PC12 ve SH-SY5Y nöron hücrelerinde tetiklediği oksidatif hasar ve apoptoza karşı koruyucu aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Hiperforin *in vitro* ve transgenik kemirgen modellerinde amiloid-β kaynaklı nörotoksisiteyi önlemiş, astrogliozis ve mikroglia aktivasyonunu azaltmış ve hafıza bozukluklarını iyileştirmiştir (Dinamarca vd. 2006).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 MALZEMELER

3.1.1 Bitki Materyalleri

Bu çalışmada kullanılan sarı kantaron örnekleri Kastamonu/Daday/Ballıdağ Mevkii'nden toplanmış ve Dr. Kerim GÜNEY tarafından taksonomik olarak tanımlanmıştır. Numuneler uygun koşullar altında kurutulup toz haline getirilmiş ve su, etil asetat, metanol kullanılarak özütler elde edilmiştir. Özütler Whatman mavi band filtre kâğıdında süzülmüş ve çözücüyü uzaklaştırmak için 40°C'de döner buharlaştırıcıda (Heidolph, Almanya) buharlaştırılmıştır. Kurutulan numuneler hücre kültürü deneylerinde kullanılmak üzere fosfat tampon çözeltisi (PBS) veya %5 dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözülmüştür.

3.1.2 Hücre Kültürü Kimyasalları

Tablo 3.1 Kimyasallar

Kimyasallar	**Markaları**
Penisilin/Streptomisin	Panbiotech, Almanya
Tripsin-Etilendiamin tetraasetik asit (Tripsin-EDTA)	Panbiotech, Almanya
PBS	Thermo Fisher Scientific, Gibco, ABD
3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT)	Neofroxx, Almanya
DMSO	Sigma Aldrich, ABD
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	Thermo Fisher Scientific, Gibco, ABD
Fetal Sığır Serumu (FBS)	Thermo Fisher Scientific, Gibco, ABD
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Sigma Aldrich, ABD
Hiperisin	Biosynth, İsviçre
Hiperforin	Biosynth, İsviçre

3.1.3 Cihazlar

Tablo 3.2 Cihazlar

Cihaz Adı	Marka
-20 Derin Dondurucu	Indesit
-86 Derin Dondurucu	VWR
Hassas Terazi	Precisa
Manyetik Karıştırıcı	Wisd WiseStir
Spektrofotometre	Thermo Fisher Scientific
Vortex	Witeg
Biyogüvenlik Kabini	Hedlab
Karbondioksit (CO_2 İnkübatörü)	Nüve
Otoklav	Nüve
Ters Mikroskop	Leica
Masaüstü Santrifüj	Nüve
Mikropipetler (Tek ve Çok Kanallı)	Capp

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Hücre Kültürü

Hücre kültürü deneylerinde insan Müller hücrelerinden türetilmiş MIO-M1 hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücre hattı Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden temin edilmiştir.

MIO-M1 hücreleri %10 FBS, 100 ünite/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisin içeren DMEM içerisinde büyütülmüştür. Petride yaklaşık %80 yoğunluğa ulaşan hücreler PBS ile yıkanmış, %0,25 tripsin-EDTA çözeltisi ile 37°C'de 5 dakika inkübe edilmiş ve kazınmıştır. Hücreler, 5 dakika süreyle santrifüjlenerek peletlenmiş ve besiyerinde yeniden süspanse edildikten sonra üç petriye bölünmüştür. Stok hazırlama için

hücreler dondurucu solüsyonda (%70 DMEM, %20 FBS, %10 DMSO) yeniden süspanse edilmiş ve -80°C'de saklanmıştır.

3.2.2 H_2O_2 Muamelesi

MIO-M1 hücreleri 96 kuyucuklu petrilerde 10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilmiştir. Ertesi gün hücreler serumsuz besiyerinde 25, 50, 100, 200, 400, 800 ve 1000 µM konsantrasyonlarda taze hazırlanmış H_2O_2 ile 24 saat boyunca muamele edilmiştir. Kontrol hücrelerine H_2O_2 yerine PBS eklenmiştir. Her konsantrasyon için üç kuyucuk hazırlanmıştır. Hücre canlılığındaki değişiklikler MTT analizi ile değerlendirilmiştir.

3.2.3 Sarı Kantaron Özütleri/Yağı/Bileşenlerinin Koruma Aktivitesi

Sarı kantaron özütleri, yağı veya bileşenlerinin H_2O_2'nin toksik etkisine karşı koruyucu aktivitesini belirlemek için 10^4 MIO-M1 hücresi 96 kuyucuklu petride büyütülmüştür. Sarı kantaron özütleri, yağı veya bileşenlerinin koruyucu etkinliğini analiz etmek için MIO-M1 hücreleri üzerinde toksisite göstermeyen konsantrasyonlar seçilmiştir. MIO-M1 hücrelerine 24 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda su özütü (31,25-62,5-125-250-500-1000 µg/ml), etil asetat (EA) özütü (31,25-62,5-125-250 µg/ml), metanol (metOH) özütü (31,25-62,5-125 µg/ml), sarı kantaron yağı (31,25-62,5-125-250-500-1000 µg/ml), hiperisin (0,5-1-2,5 µM) ve hiperforin (0,5-1-2,5-5-10-20-25-50 µM) ile ön inkübasyon yapılmıştır. Her test malzemesinin farklı konsantrasyonu için üç kuyucuk hazırlanmıştır. Sadece PBS veya sadece H_2O_2 içeren kuyucuklar koruma aktivitesi için kontrol olarak kullanılmıştır. Hücreler ön inkübasyon sonrasında 24 saat boyunca serumsuz besiyerinde taze hazırlanmış 400 µM H_2O_2 ile muamele edilmiştir. Hücre canlılığındaki değişiklikler MTT analizi ile belirlenmiştir.

3.2.4 MTT Analizi

H_2O_2 inkübasyonun sonunda hücreler 0,5 mg/ml MTT içeren besiyerinde 4 saat muamele edilmiştir. Oluşan mor renkli formazan kristalleri DMSO ile çözülmüştür. Multiskan GO mikroplaka okuyucu (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile absorbans değerleri 570 nm'de ölçülmüştür.

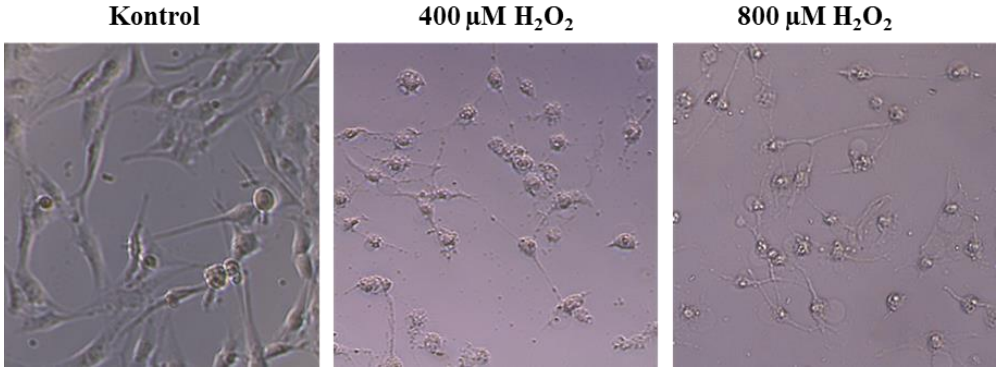
3.2.5 İstatistiksel Analiz

Tüm deneyler 3 bağımsız örnek ile tekrarlanmıştır. Veriler, ortalama ± standart hata (SE) olarak ifade edilmiştir. Deney grupları arasındaki istatistiksel anlamlılık, GraphPad Prism programı kullanılarak tek yönlü-ANOVA ve TUKEY post-hoc testi ile belirlenmiştir. $p \leq 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

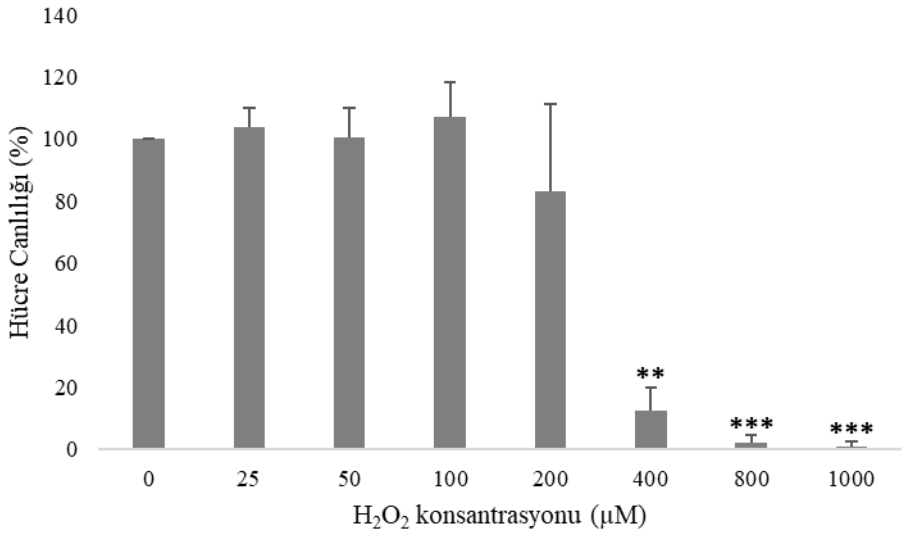
4.1 H_2O_2 ile İndüklenen Oksidatif Stres

Çalışmamızda sarı kantaron özütleri/yağı, hiperisin ve hiperforinin, Müller hücrelerini oksidatif strese karşı koruyucu etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, MIO-MI hücrelerinde H_2O_2 ile oksidatif stres modeli oluşturulmuştur. MIO-M1 hücreleri 0, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1000 µM konsantrasyonlarda 24 saat boyunca muamele edilmiştir. 25, 50, 100 ve 200 µM konsantrasyon aralığında kontrole kıyasla hücre morfolojisi ve hücre canlılığında herhangi bir değişim gözlenmemiştir.



Şekil 4.1 H_2O_2 muamelesi sonucu MIO-M1 hücre morfolojisi

MIO-M1 hücreleri 400 ve 800 µM konsantrasyonlarda H_2O_2'ye karşı duyarlıdır. Faz-kontrast mikroskobu görüntülerinde kontrol hücrelerinin morfolojileri normalken, H_2O_2 ile muamele edilen hücrelerde büzülmeler tespit edilmiştir (Şekil 4.1). MTT analizi sonucuna göre 400 µM H_2O_2 muamelesi hücre canlılığını %88 ($p<0,01$), 800 µM H_2O_2 muamelesi hücre canlılığını %98 ($p<0,001$) ve 1000 µM H_2O_2 muamelesi ise hücre canlılığını %99 ($p<0,001$) oranında düşürmüştür (Grafik 4.1). İlerleyen koruma deneylerinde MIO-M1 hücrelerinde oksidatif stres oluşturmak için 400 µM H_2O_2 konsantrasyonu seçilmiştir.

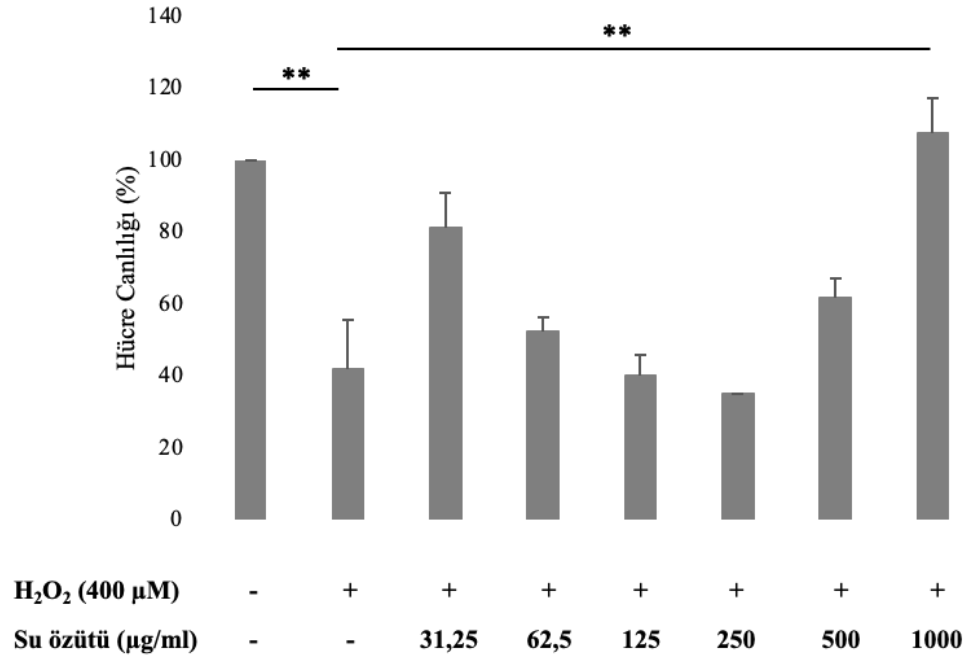


Grafik 4.1 H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları, ± SE (n=3). **, *p<0,01; ***, p<0,001*

4.2 Su Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

Laboratuvarımızda sarı kantaron özütleri/yağı ve bileşenlerinin MIO-M1 hücreleri üzerindeki toksik aktivitesi önceden analiz edilmiş olup, oksidatif strese karşı koruyucu etkinliğin belirlenmesinde toksisite göstermeyen konsantrasyonlar seçilmiştir. MIO-M1 hücreleri 31,25-62,5-125-250-500-1000 µg/ml konsantrasyonlarda su özütü ile 24 saat boyunca muamele edildikten sonra 400 µM H_2O_2 bitki özütü içeren besiyeine ilave edilerek 24 saat oksidatif stres indüklenmiştir.

H_2O_2 muamelesi, PBS kontrol ile kıyaslandığında hücre canlılığında %58 oranında düşüşe (*p<0,01*) neden olmuş, oksidatif stres koşulları oluşturulmuştur (Grafik 4.2). 31,25-62,5-125-250-500 µg/ml su özütü ile oksidatif stres öncesinde ön inkübasyon yapıldığında, sadece H_2O_2 muamelesine kıyasla hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir (Grafik 4.2). 1000 µg/ml su özütü ile oksidatif stres öncesinde ön inkübasyon yapıldığında ise sadece H_2O_2 muamelesine kıyasla hücre canlılığında %68 oranında istatistiksel olarak anlamlı bir artış (*p<0,01*) gözlemlenmiştir (Grafik 4.2). Su özütünün 1000 µg/ml konsantrasyonu ile ön inkübasyon H_2O_2 ile indüklenen oksidatif strese karşı hücreleri koruyabilmiş, hücre canlılığı PBS kontrolü seviyesine tekrar ulaşmıştır.

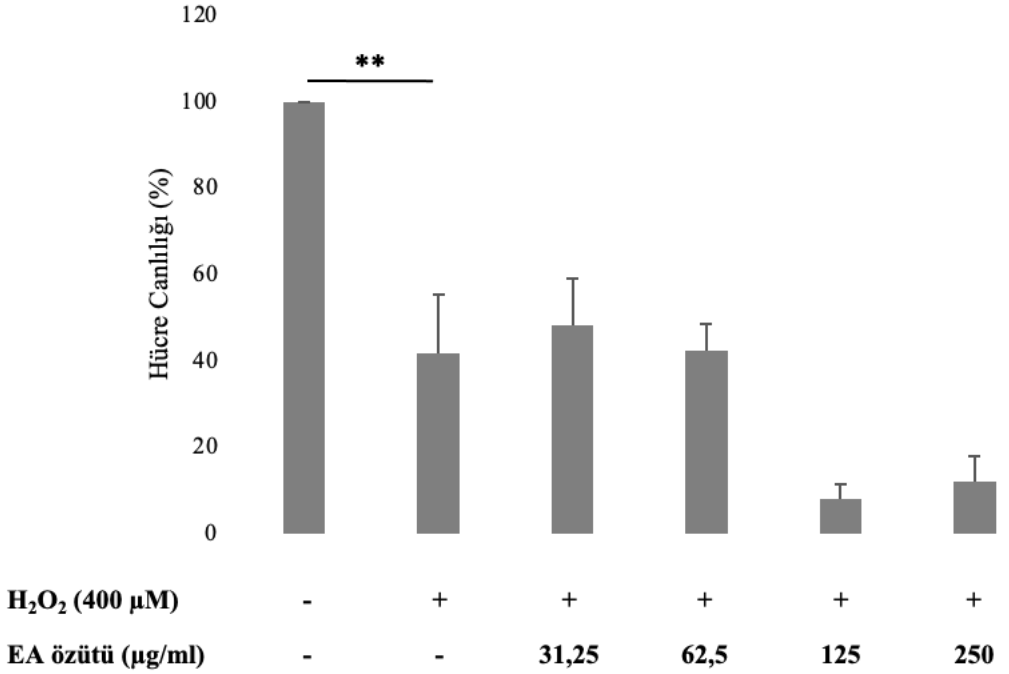


Grafik 4.2 Su özütü ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları, ± SE (n=3). **, *p<0,01*

4.3 EA Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

MIO-M1 hücreleri 31,25-62,5-125-250 µg/ml konsantrasyonlarda EA özütü ile 24 saat boyunca muamele edildikten sonra 400 µM H_2O_2 ile oksidatif stres indüklenmiştir.

H_2O_2 muamelesi, PBS kontrol ile kıyaslandığında hücre canlılığında %58 oranında düşüşe (*p<0,01*) neden olmuş, oksidatif stres koşulları oluşturulmuştur (Grafik 4.3). 31,25 ve 62,5 µg/ml EA özütü ile oksidatif stres öncesinde ön inkübasyon yapıldığında, sadece H_2O_2 muamelesine kıyasla hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir (Grafik 4.3). 125 ve 250 µg/ml EA özütü ile oksidatif stres öncesinde ön inkübasyon yapıldığında ise hücre canlılığı oranı oksidatif stres koşullarında gözlemlenen %42'nin altına düşmüştür, fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir (Grafik 4.3). EA özütü, H_2O_2 ile indüklenen oksidatif strese karşı MIO-M1 hücrelerini koruyamamıştır.

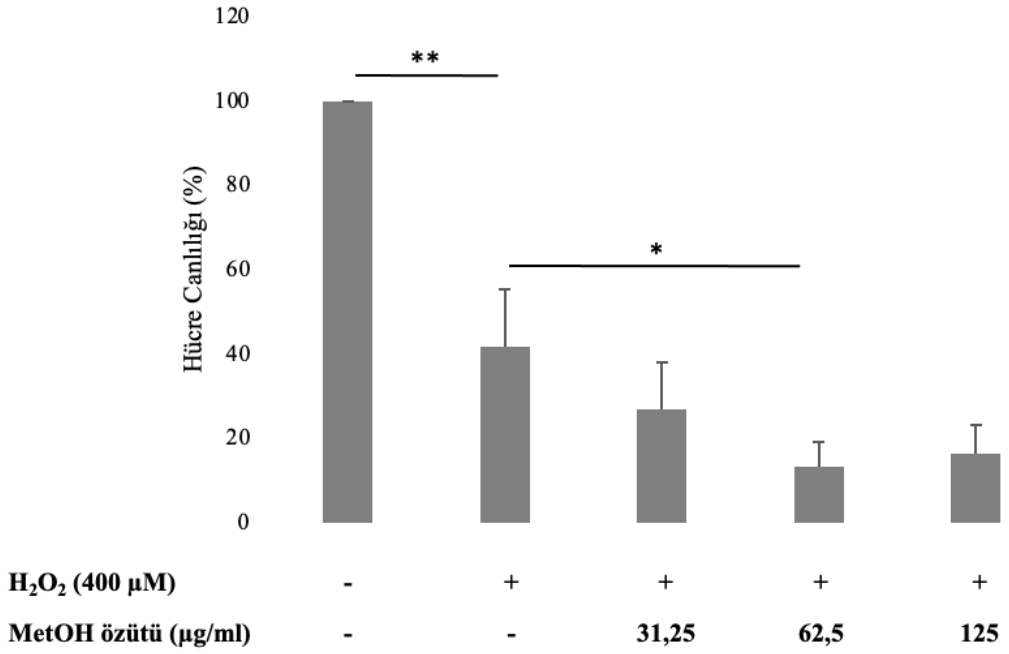


Grafik 4.3 EA özütü ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları, ± SE (n=3). **, *p<0,01*

4.4 MetOH Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

MIO-M1 hücreleri 31,25-62,5-125 µg/ml konsantrasyonlarda metOH özütü ile 24 saat boyunca muamele edildikten sonra 400 µM H_2O_2 ile oksidatif stres indüklenmiştir.

H_2O_2 muamelesi, PBS kontrol ile kıyaslandığında hücre canlılığında %58 oranında düşüşe (*p<0,01*) neden olmuş, oksidatif stres koşulları oluşturulmuştur (Grafik 4.4). 31,25-62,5-125 µg/ml metOH özütü ile oksidatif stres öncesinde ön inkübasyon yapıldığında, sadece H_2O_2 muamelesine kıyasla hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmediği gibi hücre canlılığı oksidatif stres koşullarında gözlemlenenden daha fazla düşmüştür (Grafik 4.4). 62,5 µg/ml metOH özütü muamalesi ile oksidatif stres koşullarına kıyasla hücre canlılığı %28 oranında (*p<0,05*) daha fazla düşmüştür (Grafik 4.4). MetOH özütü, H_2O_2 ile indüklenen oksidatif strese karşı MIO-M1 hücrelerini koruyamamıştır.

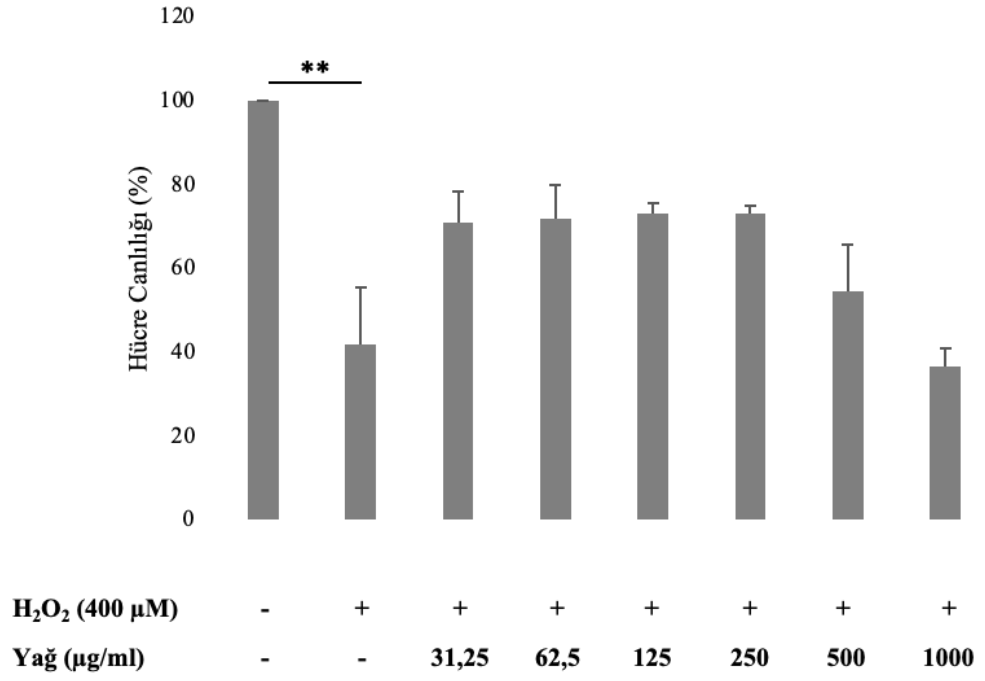


Grafik 4.4 MetOH özütü ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları, ± SE (n=3). *, *p<0,05; **; p<0,01*

4.5 Sarı Kantaron Yağının Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

MIO-M1 hücreleri 31,25-62,5-125-250-500-1000 µg/ml konsantrasyonlarda sarı kantaron yağı ile 24 saat boyunca muamele edildikten sonra 400 µM H_2O_2 ile oksidatif stres indüklenmiştir.

H_2O_2 muamelesi, PBS kontrol ile kıyaslandığında hücre canlılığında %58 oranında düşüşe (*p<0,01*) neden olmuş, oksidatif stres koşulları oluşturulmuştur (Grafik 4.5). 31,25-62,5-125-250-500-1000 µg/ml sarı kantaron yağı ile oksidatif stres öncesinde ön inkübasyon yapıldığında, sadece H_2O_2 muamelesine kıyasla hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir (Grafik 4.5). Sarı kantaron yağı, H_2O_2 ile indüklenen oksidatif strese karşı MIO-M1 hücrelerini koruyamamıştır.

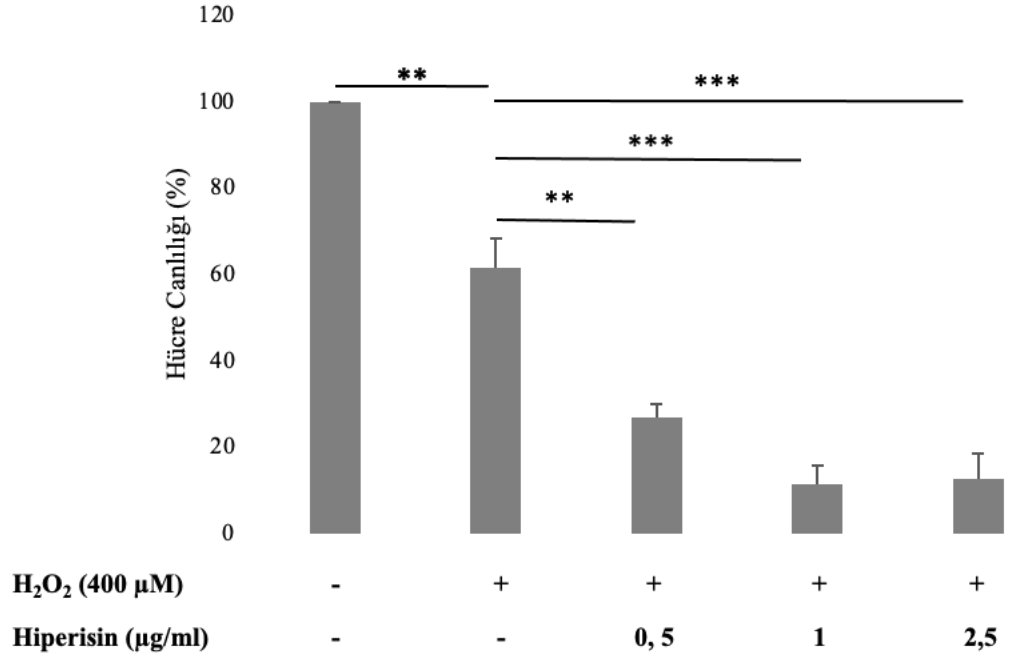


Grafik 4.5 Sarı kantaron yağı ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları, ± SE (n=3). **, *p<0,01*

4.6 Hiperisinin Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

MIO-M1 hücreleri 0,5-1-2,5 µM konsantrasyonlarda hiperisin ile 24 saat boyunca muamele edildikten sonra 400 µM H_2O_2 ile oksidatif stres indüklenmiştir.

H_2O_2 muamelesi, PBS kontrol ile kıyaslandığında hücre canlılığında %39 oranında düşüşe (*p<0,01*) neden olmuş, oksidatif stres koşulları oluşturulmuştur (Grafik 4.6). 0,5-1-2,5 µM hiperisin ile oksidatif stres öncesinde ön inkübasyon yapıldığında, sadece H_2O_2 muamelesine kıyasla hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmediği gibi hücre canlılığı oksidatif stres koşullarında gözlemlenenden sırasıyla %35 (*p<0,01*), %50 (*p<0,001*) ve %49 (*p<0,001*) oranında daha fazla düşmüştür (Grafik 4.6). Hiperisin, H_2O_2 ile indüklenen oksidatif strese karşı MIO-M1 hücrelerini koruyamamıştır.

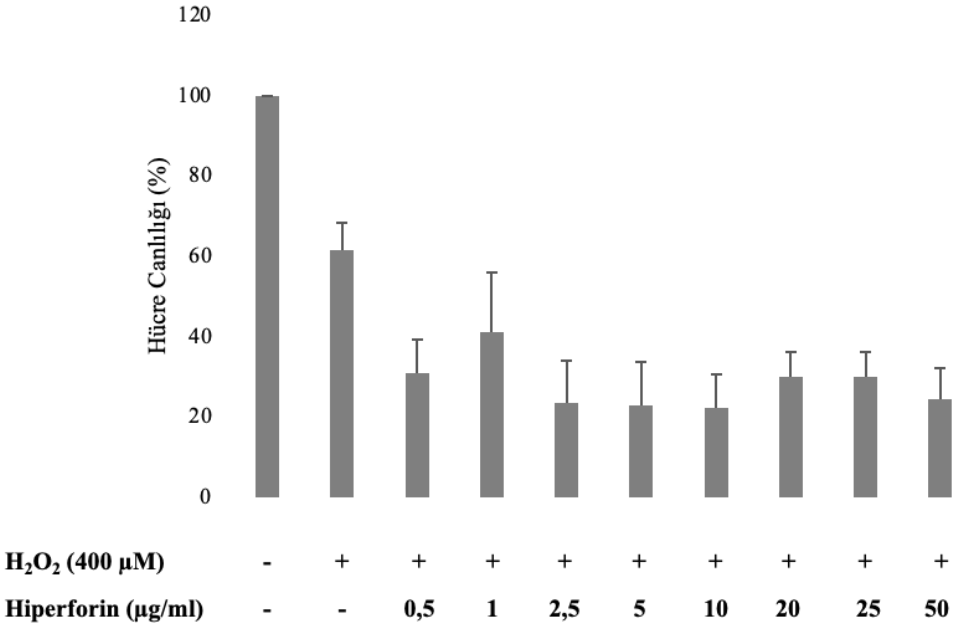


Grafik 4.6 Hiperisin ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları, ± SE (n=3). **, *p<0,01*

4.7 Hiperforinin Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

MIO-M1 hücreleri 0,5-1-2,5-5-10-20-25-50 µM konsantrasyonlarda hiperforin ile 24 saat boyunca muamele edildikten sonra 400 µM H_2O_2 ile oksidatif stres indüklenmiştir.

H_2O_2 muamelesi, PBS kontrol ile kıyaslandığında hücre canlılığında %39 oranında düşüşe neden olmuştur (Grafik 4.7). Hiperforinin uygulanan bütün konsantrasyonlarında H_2O_2 ile indüklenen oksidatif strese karşı herhangi bir koruma etkinliği gözlenmediği gibi, hücre canlılığı değerleri oksidatif stres koşullarının altına düşmüştür (Grafik 4.7). Bu düşüş oranları istatistiksel olarak anlamlı değildir.



Grafik 4.7 Hiperforin ve H_2O_2 muamelesi MTT sonuçları, ± SE (n=3).

5. TARTIŞMA

Merkezi sinir sistemi ve retina oksidatif strese karşı özellikle hassastır. Oksidatif stres, eksitotoksisite ve apoptozu tetikleyerek glia ve nöron ölümüne ve dolayısıyla Alzheimer, Parkinson, diyabetik retinopati gibi hastalıklara neden olmaktadır. Bu hastalıkları önlemek için hücrenin mitokondri fonksiyonunu korumak, oksidatif stres faktörlerini engellemek, antioksidan savunmayı güçlendirmek önemlidir. *H. perforatum* özütleri ve bazı bileşenleri doğrudan veya antioksidan özellikleri ile glia ve nöronları koruyucu aktivite göstermektedir.

Çok sayıda çalışmada H_2O_2 kullanılarak oksidatif hasar indüklenmiştir. H_2O_2 çeşitli hücre tiplerinde apoptozu tetikleyerek nöron dejenerasyonuna neden olmaktadır. *Hypericum perforatum'*un PC12 nöron hücrelerinde ve SK-N-MC insan nöroblastom hücrelerinde H_2O_2 ile indüklenen apoptoza karşı koruyucu etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (Zou vd. 2010; Benedi vd. 2004; Lu vd. 2004; Jang vd. 2002). Bu tez çalışmasında da, *H. perforatum* özütleri/yağı ve bileşenlerinden hiperisin ve hiperforinin MIO-M1 hücrelerinde H_2O_2 ile oluşturulan oksidatif strese karşı koruyucu etkinliği analiz edilmiştir.

Laboratuvarımızda daha önce sarı kantaron özütleri/yağı, hiperisin ve hiperforinin MIO-M1 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkinliği analiz edilmiş, su özütü ve sarı kantaron yağının 1000 µg/ml'ye kadar test edilen aralıkta sitotoksik bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. Etil asetat özütünün 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarda, metanol özütünün ise 250, 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarda MIO-M1 hücrelerinde toksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Hiperforinin 50 µM'a kadar test edilen aralıkta sitotoksik bir etkisi bulunmazken, hiperisinin 2.5 µM üzerinde MIO-M1 hücreleri üzerinde sitotoksik aktivitesi vardır. H_2O_2 ile indüklenen oksidatif hasara karşı koruyucu etkinliklerin analizi için sarı kantaron özütleri/yağı, hiperisin ve hiperforin için toksik olmayan konsantrasyonlarla inkübasyonlar gerçekleştirilmiştir.

Benzer koruma deneylerinde oksidatif stres öncesi ve oksidatif stres sonrası koruyucu ajan muamelesi test edilmiş ve stres öncesinde ön inkübasyon yapılmasının koruyucu

etkinliği arttırdığı gözlemlenmiştir (Lee vd. 2017; Assis vd. 2014). Bu nedenle çalışmamızda sarı kantaron özütleri/yağı, hiperisin ve hiperforin inkübasyonu H_2O_2 muamelesi öncesinde gerçekleştirilmiştir.

Sarı kantaron özütleri/yağı, hiperisin ve hiperforinin MIO-M1 hücrelerini koruyucu etkinliği MTT analizi ile hücre canlılığı oranları tespit edilerek belirlenmiştir. MTT solüsyonunda bulunan tetrazolium halkası, mitokondride bulunan dehidrogenaz enzimlerince parçalanarak mor renkli formazan kristalleri oluşturur. Canlı ve mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücrelerde mor renk oluşumu gözlemlenirken, ölü ya da H_2O_2 ile indüklenen oksidatif strese bağlı mitokondri fonksiyonu bozulmuş hücrelerde renk oluşumu gerçekleşmez.

MTT analizi sonuçlarına göre su özütünün 1000 μg/ml konsantrasyonu H_2O_2 ile oluşturulan oksidatif strese karşı MIO-M1 hücrelerini koruyabilmiştir. Hiperisin ve hiperforin H_2O_2 ile oluşturulan oksidatif strese karşı hücreleri koruyamadığı gibi hücre canlılığı oksidatif stres koşullarına göre azalma göstermiştir. Hiperisinin suda tamamen çözünmediği bilinmektedir (Uzdensky vd. 2003). Hiperforin ise lipofilik bir bileşiktir ve ayrıca ısıya veya ışığa maruz kaldığında hızla ayrışmaktadır (Römpp vd. 2004). Franchi ve ark. (2011) farklı sarı kantaron özütlerinin kimyasal içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerine çalışma yapmışlardır. Sonuçlarımızla uyumlu olarak su özütlerinin hiperisin ve hiperforin içermemelerine rağmen antioksidan aktivite gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Su özütünde en bol bulunan bileşenin ise klorojenik asit olduğu belirtilmiştir. Pavlica ve Gebhardt 2005 yılında PC12 nöron hücrelerinde oksidatif strese karşı klorojenik asit ve ellagik asitin güçlü serbest radikal süpürücü ve koruyucu aktivitelerini ortaya çıkarmışlardır. Dolayısıyla, su özütünde bulunan klorojenik asit MIO-M1 hücrelerini oksidatif strese karşı korumada da etkin rol oynayabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, sarı kantaron su özütünün *in vitro* retina Müller hücrelerinde H_2O_2 ile indüklenen sitotoksisiteye karşı koruyucu etkinliği gösterilmiştir. Su özütünün detaylı içerik analizi, bu aktiviteden sorumlu bileşenlerin karakterize edilmesine olanak sağlayacaktır. H_2O_2 ile MIO-M1 hücrelerinde apoptozun tetiklenmesi ve su özütünün apoptoza karşı koruyucu etkinliğinin belirlenmesi ile sonuçlar desteklenebilir.

Apoptoz (fizyolojik hücre ölümü), hücre intiharı olarak da bilinen fizyolojik bir olaydır. Apoptoz için sinyal alındıktan sonra hücrede birçok biyokimyasal (DNA parçalanması, fosfotidilserin moleküllerinin hücre membranın dış yüzeyine çıkması) ve morfolojik değişim (hücre küçülmesi, kromatin yoğunlaşması, apoptotik cisimcikler) gözlenir. Bu değişimleri saptamak için Hematoksilen-eozin boyama, Giemsa boyama, Floresan mikroskopi, Elektronmikroskopi, Faz kontrast mikroskopi, Anneksin V yöntemi, TUNEL yöntemi, M30 yöntemi, Kaspaz-3 yöntemi, Agaroz jel elektroforezi, Western blotting, Flow sitometri ve ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) yöntemleri geliştirilmiştir. H_2O_2 ile MIO-M1 hücrelerinde apoptozun tetiklenip tetiklenmediği ve su özütünün apoptoza karşı koruyucu etkinliğinin belirlenmesinde bu yöntemler kullanılabilir.

Hücre temelli sitotoksisite çalışmaları, gerek uygulama kolaylığı, gerekse *in vivo* çalışmalardan elde edilen verilerle uyum göstermesi nedeniyle toksikoloji laboratuvarlarında sıkça tercih edilmektedir. *In vivo* hayvan deneylerinde solucan, meyve sineği ve zebra balığı gibi basit canlılardan, sıçan, fare, kedi ve köpek gibi daha kompleks canlılara kadar birçok model organizma kullanılmaktadır. *In vitro* hücre kültüründe elde ettiğimiz verileri in vivo deneylerle desteklenebilir.

KAYNAKLAR

Abu-Reidah, I. M., Ali-Shtayeh, M. S., Jamous, R. M., Arráez-Román, D., &Segura-Carretero, A. (2015). HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from Rhuscoriari aL. (Sumac) fruits. *Food Chemistry*, 166, 179-191.

Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., ... & Golab, J. (2011). Photodynamic therapy of cancer: an update. CA: *a cancer journal for clinicians*, 61(4), 250-281.

Albert, D., Zündorf, I., Dingermann, T., Müller, W. E., Steinhilber, D., &Werz, O. (2002). Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochemical Pharmacology*, 64(12), 1767-1775.

Assis, L. C., Straliotto, M. R., Engel, D., Hort, M. A., Dutra, R. C., & De Bem, A. F. (2014). β-Caryophyllene protects the C6 glioma cells against glutamate-induced excitotoxicity through the Nrf2 pathway. Neuroscience, 279, 220-231.

Aydın, P., & Akova, Y. A. (2001). Temel göz hastalıkları. Güneş.

Baytop, T. (1999). Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün. Nobel Tıp Kitabevleri.

Beatty, S., Koh, H. H., Phil, M., Henson, D., &Boulton, M. (2000). The role of oxidativestress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Survey of Ophthalmology*, 45(2), 115-134.

Benedí, J., Arroyo, R., Romero, C., Martín-Aragón, S., & Villar, A. M. (2004). Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells. *Life sciences*, 75(10), 1263-1276.

Bringmann, A., Pannicke, T., Grosche, J., Francke, M., Wiedemann, P., Skatchkov, S. N., ... &Reichenbach, A. (2006). Müller cells in the healthy and diseased retina. *Progress in Retinal and Eye Research*, 25(4), 397-424.

Caramori, G., & Papi, A. (2004). Oxidants and asthma. *Thorax*, 59(2), 170-173.

Cascella, R., Strafella, C., Caputo, V., Errichiello, V., Zampatti, S., Milano, F., ... &Giardina, E. (2018). Towards the application of precision medicine in age-related macular degeneration. *Progress in Retinal and Eye Research*, 63, 132-146.

Çaycı, M. K. (2006). *Hypericum perforatum* ve Tarantulacubensis Özütlerinin Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Mide Mukozası Hasarına Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. Kütahya, Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya.

Chatterjee, S. S., Nöldner, M., Koch, E., &Erdelmeier, C. (1998). Antidepressant activity of *Hypericum perforatum* and hyperforin: the neglected possibility. *Pharmacopsychiatry*, 31(S 1), 7-15.

Cheung, Z. H., So, K. F., Lu, Q., Yip, H. K., Wu, W., Shan, J. J., ... & Chen, C. F. (2002). Enhanced survival and regeneration of axotomized retinal ganglion cells by a mixture of herbal extracts. Journal of neurotrauma, 19(3), 369-378.

Chiang, B., Jung, J. H., &Prausnitz, M. R. (2018). The suprachoroidal space as a route of administration to the posterior segment of the eye. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 126, 58-66.

Cinaroglu, A., Ozmen, Y., Ozdemir, A., Ozcan, F., Ergorul, C., Cayirlioglu, P., ... &Bugra, K. (2005). Expression and possible function of fibroblast growth factor 9 (FGF9) and its cognate receptors FGFR2 and FGFR3 in postnatal and adult retina. *Journal of Neuroscience Research*, 79(3), 329-339.

Cui, Y., & Ang, C. Y. (2002). Supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatographic determination of phloroglucinols in St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 2755-2759.

DEGAR, S., PRINCE, A. M., PASCUAL, D., LAVIE, G., LEVIN, B., Mazur, Y., ... & MERUELO, D. (1992). Inactivation of the human immunodeficiency virus by hypericin: evidence for photochemical alterations of p24 and a block in uncoating. AIDS research and human retroviruses, 8(11), 1929-1936.

Dinamarca, M. C., Cerpa, W., Garrido, J., Hancke, J. L., & Inestrosa, N. C. (2006). Hyperforin prevents β-amyloid neurotoxicity and spatial memory impairments by disaggregation of Alzheimer's amyloid-β-deposits. Molecular psychiatry, 11(11), 1032-1048.

Diwu, Z. (1995). Novel therapeutic and diagnostic applications of hypocrellins and hypericins. *Photochemistry and Photobiology*, 61(6), 529-539.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

El-Sherbiny, D. A., Khalifa, A. E., Attia, A. S., & Eldenshary, E. E. D. S. (2003). Hypericum perforatum extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 76(3-4), 525-533.

Forrester, J. V., Dick, A. D., McMenamin, P. G., Roberts, F., &Pearlman, E. (2016). The eye: basic sciences in practice: chapter 1: anatomy of the eye and orbit.

Fox, F. E., Niu, Z., Tobia, A., & Rook, A. H. (1998). Photoactivated hypericin is an anti-proliferative agent that induces a high rate of apoptotic death of normal, transformed, and malignant T lymphocytes: implications for the treatment of cutaneous lymphoproliferative and inflammatory disorders. *Journal of Investigative Dermatology,* 111(2), 327-332.

Franchi, G. G., Nencini, C., Collavoli, E., & Massarelli, P. (2011). Composition and antioxidant activity in vitro of different St. Johns wort (*Hypericum perforatum* L.) extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4349-4353.

Genuth, S. (2006). Insights from the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study on the use of intensive glycemic treatment to reduce the risk of complications of type 1 diabetes. *Endocrine Practice*, 12, 34-41.

Gielen, M., &Tiekink, E. R. (Eds.). (2005). Metallo therapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine. John Wiley&Sons.

Greeson, J. M., Sanford, B., & Monti, D. A. (2001). St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology*, 153(4), 402-414.

Guo, Y., Saloupis, P., Shaw, S. J., &Rickman, D. W. (2003). Engraftment of adult neural progenitor cells transplanted to rat retina injured by transient ischemia. *Investigative Ophthalmology&Visual Science*, 44(7), 3194-3201.

Halliwell, B. (2001). Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. *Drugs & aging*, 18(9), 685-716.

Handa, J. T. (2012). How does the macula protect itself from oxidative stress? *Molecular aspects of medicine*, 33(4), 418-435.

Higuchi, A., Yamada, H., Yamada, E., Jo, N., &Matsumura, M. (2008). Hypericin inhibits pathological retinal neovascularization in a mouse model of oxygen-induced retinopathy. *Molecular Vision*, 14, 249.

Interdonato, M., Pizzino, G., Bitto, A., Galfo, F., Irrera, N., Mecchio, A., ... & Altavilla, D. (2015). Cadmium delays puberty onset and testis growth in adolescents. *Clinical Endocrinology*, 83(3), 357-362.

Jang, M. H., Lee, T. H., Shin, M. C., Bahn, G. H., Kim, J. W., Shin, D. H., ... & Kim, C. J. (2002). Protective effect of Hypericum perforatum Linn (St. John's wort) against hydrogen peroxide-induced apoptosis on human neuroblastoma cells. Neuroscience letters, 329(2), 177-180.

JesseSigelman. (1984). Retinal diseases: pathogenesis, laser therapy, and surgery. Little Brown &Company.

Jiang, X., Kumar, M., & Zhu, Y. (2018). Protective effect of Hyperforin on β amyloid protein induced apoptosis in PC12 cells and colchicine induced Alzheimer's disease: an anti-oxidant and anti-inflammatory therapy. Journal of Oleo Science, 67(11), 1443-1453.

Jones, C. J., &Thornback, J. R. (2007). Medicinal applications of coordination chemistry. *Royal Society of Chemistry*.

Kaehler, S. T., Sinner, C., Chatterjee, S. S., & Philippu, A. (1999). Hyperforin enhances the extracellular concentrations of catecholamines, serotonin and glutamate in the rat locus coeruleus. *Neuroscience letters*, 262(3), 199-202.

Kaltschmidt, B., Heinrich, M., & Kaltschmidt, C. (2002). Stimulus-dependent activation of NF-κB specifies apoptosis or neuroprotection in cerebellar granule cells. *Neuromolecular medicine*, 2(3), 299-309.

Kermany, D. S., Goldbaum, M., Cai, W., Valentim, C. C., Liang, H., Baxter, S. L., ... &Zhang, K. (2018). Identifying medical diagnoses and treatable diseases by image-based deep learning. *Cell*, 172(5), 1122-1131.

Kim, Y. W., &Byzova, T. V. (2014). Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 123(5), 625-631.

Klemow, K. M., Bartlow, A., Crawford, J., Kocher, N., Shah, J., & Ritsick, M. (2011). Medical attributes of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Herbal medicine: biomolecular and clinical aspects*, 211-237.

Kowluru, R. A., & Mishra, M. (2015). Oxidative stress, mitochondrial damage and diabetic retinopathy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1852(11), 2474-2483.

Kraus, B., Wolff, H., Heilmann, J., & Elstner, E. F. (2007). Influence of Hypericum perforatum extract and its single compounds on amyloid-β mediated toxicity in microglial cells. Life Sciences, 81(11), 884-894.

Lawrence, J. M., Singhal, S., Bhatia, B., Keegan, D. J., Reh, T. A., Luthert, P. J., ... & Limb, G. A. (2007). MIO-M1 cells and similar Müller glial cell lines derived from adult human retina exhibit neural stem cell characteristics. *Stem cells*, 25(8), 2033-2043.

Lee, K. M., Lee, A. S., & Choi, I. (2017). Melandrii Herba extract attenuates H2O2-induced neurotoxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells and Scopolamine-induced memory impairment in mice. Molecules, 22(10), 1646.

Lenard, J., Rabson, A., & Vanderoef, R. (1993). Photodynamic inactivation of infectivity of human immunodeficiency virus and other enveloped viruses using hypericin and rose bengal: inhibition of fusion and syncytia formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(1), 158-162.

Limb, G. A., Salt, T. E., Munro, P. M., Moss, S. E., & Khaw, P. T. (2002). In vitro characterization of a spontaneously immortalized human Muller cell line (MIO-M1). Investigative ophthalmology & visual science, 43(3), 864-869.

Lu, Y. H., Du, C. B., Liu, J. W., Hong, W., & Wei, D. Z. (2004). Neuroprotective effects of *Hypericum perforatum* on trauma induced by hydrogen peroxide in PC12 cells. *The American journal of Chinese medicine*, 32(03), 397-405.

Mahajan, A., & Tandon, V. R. (2004). Antioxidants and rheumatoid arthritis. *J Indian Rheumatol Assoc*, 12, 139-142.

Mennini, T., &Gobbi, M. (2004). The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum. Life Sciences*, 75(9), 1021-1027.

Mir, M. Y., Kamili, A. N., Hassan, Q. P., Rafi, S., Parray, J. A., & Jan, S. (2019). In vitro regeneration and free radical scavenging assay of *Hypericum perforatum* L. *National academy science letters*, 42(2), 161-167.

Mishenkova, E. L., Derbentseva, N. A., Garagulya, A. D., & Litvin, L. N. (1975). Antiviral properties of St John's wort and preparations produced from it. *In Transactions of the Congress of Microbiologists of the Ukraine* (Vol. 4, pp. 222-322).

Mohanasundari, M., Srinivasan, M. S., Sethupathy, S., & Sabesan, M. (2006). Enhanced neuroprotective effect by combination of bromocriptine and Hypericum perforatum extract against MPTP-induced neurotoxicity in mice. Journal of the neurological sciences, 249(2), 140-144.

Monographs, E. S. C. O. P. (2003). European Scientific Cooperative On Phytotherapy. United Kingdom: ESCOP.

Motallebnejad, M., Moghadamnia, A., & Talei, M. (2008). *The efficacy of Hypericum perforatum extract on recurrent aphthous ulcers. J Med Sci*, 8(1), 39-43.

Motallebnejad, M., Moghadamnia, A., and Talei, M. (2008). The efficacy of Hypericum perforatum extract on recurrent aphthous ulcers. J. Med. Sci. 8, 39–43. doi: 10.3923/jms.2008.39.43

Nagelhus, E. A., Veruki, M. L., Torp, R., Haug, F. M., Laake, J. H., Nielsen, S., ... &Ottersen, O. P. (1998). Aquaporin-4 water channel protein in the rat retina and optic nerve: polarized expression in Müller cells and fibrous astrocytes. *Journal of Neuroscience*, 18(7), 2506-2519.

Osborne, J. W., & Costello, A. B. (2004). Sample size and subject to item ratio in principal components analysis. Practical Assessment, Research, and Evaluation, 9(1), 11

Patil, B. B., &Dowd, T. C. (2000). Physiological functions of the eye. *Current Anaesthesia& Critical Care*, 11(6), 293-298.

Paulson, O. B., &Newman, E. A. (1987). Does the release of potassium from astrocyte endfeet regulate cerebral blood flow?. *Science*, 237(4817), 896-898.

Pavlica, S., & Gebhardt, R. (2005). Protective effects of ellagic and chlorogenic acids against oxidative stress in PC12 cells. *Free radical research*, 39(12), 1377-1390.

Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... & Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.

Pochwat, B., Szewczyk, B., Kotarska, K., Rafało-Ulińska, A., Siwiec, M., Sowa, J. E., ... & Nowak, G. (2018). Hyperforin potentiates antidepressant-like activity of lanicemine in mice. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 456.

Reichenbach, A., &Bringmann, A. (2020). Glia of the human retina. *Glia*, 68(4), 768-79

Reichling, J., Weseler, A., & Saller, R. (2001). A current review of the antimicrobial activity of Hypericum perforatum L. Pharmacopsychiatry, 34(Sup. 1), 116-118.

Römpp, H., Seger, C., Kaiser, C. S., Haslinger, E., & Schmidt, P. C. (2004). Enrichment of hyperforin from St. John's Wort (Hypericum perforatum) by pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction. European journal of pharmaceutical sciences, 21(4), 443-451.

Saddiqe, Z., Naeem, I., & Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum L. Journal of ethnopharmacology, 131(3), 511-521.

Sarris, J. (2018). Herbal medicines in the treatment of psychiatric disorders: 10-year updated review. *Phytotherapy Research*, 32(7), 1147-1162.

Schempp, C. M., Kirkin, V., Simon-Haarhaus, B., Kersten, A., Kiss, J., Termeer, C. C., ... & Simon, J. C. (2002). Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis. *Oncogene*, 21(8), 1242-1250.

Schempp, C. M., Pelz, K., Wittmer, A., Schöpf, E., & Simon, J. C. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant Staphylococcus aureus and gram-positive bacteria. The Lancet, 353(9170), 2129.

Schempp, C. M., Pelz, K., Wittmer, A., Schöpf, E., & Simon, J. C. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant Staphylococcus aureus and gram-positive bacteria. *The Lancet*, 353(9170), 2129.

Silva, B. A., Dias, A. C., Ferreres, F., Malva, J. O., & Oliveira, C. R. (2004). Neuroprotective effect of *H. perforatum* extracts on β-amyloid-induced neurotoxicity. *Neurotoxicity research*, 6(2), 119-130.

Taniyama, Y., & Griendling, K. K. (2003). Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension*, 42(6), 1075-1081.

Tavlı, Ö. F., Hazman, Ö., Büyükben, A., Yılmaz, F. N., Çelik, B. Ö., & Özkan, E. E. (2020). İstanbul Aktarlarında Satılan *Hyperıcum Perforatum* Örneklerinin Farmakognozik Açıdan İncelenmesi. *Journal Of Faculty Of Pharmacy Of Ankara University*, 44(2), 265-280.

Theodossiou, T. A., Hothersall, J. S., De Witte, P. A., Pantos, A., & Agostinis, P. (2009). The multifaceted photocytotoxic profile of hypericin. Molecular pharmaceutics, 6(6), 1775-1789.

Toker, Z. (2002). Bazı *Hypericum* türlerinin uçucu yağ bileşenleri ve bu yağların antimikrobiyal aktiviteleri (Doctoraldissertation, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır).

URL-1 https://gozdoktor.net/gozun-yapisi/ Erişim Tarihi: 18/12/2021

URL-2 https://gozdoktor.net/gozun-yapisi/ Erişim Tarihi: 18/12/2021

URL-3 http://retinalmicroscopy.com/glial-cells/ Erişim Tarihi: 08.04.2022

URL-4 https://weedsofmelbourne.org/st-johns-wort-hypericum-perforatum Erişim Tarihi: 19/12/2021

URL5 https://tr.wikipedia.org/wiki/Sar%C4%B1_kantaron Erişim Tarihi: 27/01/2022

URL-6 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92750/#ch11_r183 Erişim Tarihi: 27/01/2022

URL-7 https://supplementansiklopedisi.com/hypericum-perforatum-sari-kantaron-nedir/ Erişim Tarihi: 20/12/2021

URL-8 https://supplementansiklopedisi.com/hypericum-perforatum-sari-kantaron-nedir/ Erişim Tarihi: 21/12/2021

Uzdensky, A. B., Bragin, D. E., Kolosov, M. S., Kubin, A., Loew, H. G., & Moan, J. (2003). Photodynamic effect of hypericin and a water-soluble derivative on isolated crayfish neuron and surrounding glial cells. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 72(1-3), 27-33.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., & Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*, 266(1), 37-56.

Voss, A., & Verweij, P. E. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort. *The Lancet*, 354(9180), 777

Wan, J., & Goldman, D. (2016). Retina regeneration in zebrafish. *Current opinion in genetics & development*, 40, 41-47.

Wang, H., Shao, B., Yu, H., Xu, F., Wang, P., Yu, K., ... & Cao, Z. (2019). Neuroprotective role of hyperforin on aluminum maltolate-induced oxidative damage and apoptosis in PC12 cells and SH-SY5Y cells. Chemico-biological interactions, 299, 15-26.

Wang, J., Qian, J., Yao, L., & Lu, Y. (2015). Enhanced production of flavonoids by methyljasmonateelicitation in cell suspension culture of *Hypericum perforatum*. *Bioresources and Bioprocessing*, 2(1), 1-9.

Zdunić, G., Gođevac, D., Milenković, M., Vučićević, D., Šavikin, K., Menković, N., &Petrović, S. (2009). Evaluation of *Hypericum perforatum* oil extracts for an antiinflammatory and gastroprotective activity in rats. *Phytotherapy Research*, 23(11),

Zou, Y. P., Lu, Y. H., & Wei, D. Z. (2010). Protective effects of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. against hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells. *Phytotherapy research*, 24(S1), S6-S10.

EKLER

Ek-A H2O2 ile İndüklenen Oksidatif Stres

1	Number of families	1					
2	Number of comparisons per family	28					
3	Alpha	0.05					
4							
5	**Tukey's multiple comparisons test**	**Mean Diff.**	**95.00% CI of diff.**	**Below threshold?**	**Summary**	**Adjusted P Value**	
6	PBS vs. 25 µM H_2O_2	-3.742	-61.28 to 53.79	No	ns	>0.9999	A-B
7	PBS vs. 50 µM H_2O_2	-0.4804	-58.01 to 57.05	No	ns	>0.9999	A-C
8	PBS vs. 100 µM H_2O_2	-7.062	-64.60 to 50.47	No	ns	0.9998	A-D
9	PBS vs. 200 µM H_2O_2	16.75	-40.78 to 74.28	No	ns	0.9665	A-E
10	PBS vs. 400 µM H_2O_2	87.42	29.89 to 145.0	Yes	**	0.0015	A-F
11	PBS vs. 800 µM H_2O_2	97.99	40.45 to 155.5	Yes	***	0.0005	A-G
12	PBS vs. 1000 µM H_2O_2	99.04	41.51 to 156.6	Yes	***	0.0004	A-H
13	25 µM H_2O_2 vs. 50 µM H_2O_2	3.262	-54.27 to 60.80	No	ns	>0.9999	B-C
14	25 µM H_2O_2 vs. 100 µM H_2O_2	-3.320	-60.85 to 54.21	No	ns	>0.9999	B-D
15	25 µM H_2O_2 vs. 200 µM H_2O_2	20.49	-37.04 to 78.03	No	ns	0.9100	B-E
16	25 µM H_2O_2 vs. 400 µM H_2O_2	91.16	33.63 to 148.7	Yes	**	0.0010	B-F
17	25 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	101.7	44.20 to 159.3	Yes	***	0.0003	B-G
18	25 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	102.8	45.25 to 160.3	Yes	***	0.0003	B-H
19	50 µM H_2O_2 vs. 100 µM H_2O_2	-6.582	-64.12 to 50.95	No	ns	0.9999	C-D
20	50 µM H_2O_2 vs. 200 µM H_2O_2	17.23	-40.30 to 74.76	No	ns	0.9612	C-E
21	50 µM H_2O_2 vs. 400 µM H_2O_2	87.90	30.37 to 145.4	Yes	**	0.0015	C-F
22	50 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	98.47	40.94 to 156.0	Yes	***	0.0004	C-G
23	50 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	99.52	41.99 to 157.1	Yes	***	0.0004	C-H
24	100 µM H_2O_2 vs. 200 µM H_2O_2	23.81	-33.72 to 81.35	No	ns	0.8297	D-E
25	100 µM H_2O_2 vs. 400 µM H_2O_2	94.48	36.95 to 152.0	Yes	***	0.0007	D-F
26	100 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	105.1	47.52 to 162.6	Yes	***	0.0002	D-G
27	100 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	106.1	48.57 to 163.6	Yes	***	0.0002	D-H
28	200 µM H_2O_2 vs. 400 µM H_2O_2	70.67	13.14 to 128.2	Yes	*	0.0109	E-F
29	200 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	81.24	23.71 to 138.8	Yes	**	0.0032	E-G
30	200 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	82.29	24.76 to 139.8	Yes	**	0.0028	E-H
31	400 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	10.57	-46.97 to 68.10	No	ns	0.9977	F-G
32	400 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	11.62	-45.92 to 69.15	No	ns	0.9958	F-H
33	800 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	1.051	-56.48 to 58.59	No	ns	>0.9999	G-H

Test details	**Mean 1**	**Mean 2**	**Mean Diff.**	**SE of diff.**	**n1**	**n2**	**q**	**DF**
PBS vs. 25 µM H_2O_2	100.0	103.7	-3.742	16.62	3	3	0.3184	16
PBS vs. 50 µM H_2O_2	100.0	100.5	-0.4804	16.62	3	3	0.04088	16
PBS vs. 100 µM H_2O_2	100.0	107.1	-7.062	16.62	3	3	0.6010	16
PBS vs. 200 µM H_2O_2	100.0	83.25	16.75	16.62	3	3	1.425	16
PBS vs. 400 µM H_2O_2	100.0	12.58	87.42	16.62	3	3	7.440	16
PBS vs. 800 µM H_2O_2	100.0	2.011	97.99	16.62	3	3	8.339	16
PBS vs. 1000 µM H_2O_2	100.0	0.9598	99.04	16.62	3	3	8.428	16
25 µM H_2O_2 vs. 50 µM H_2O_2	103.7	100.5	3.262	16.62	3	3	0.2776	16
25 µM H_2O_2 vs. 100 µM H_2O_2	103.7	107.1	-3.320	16.62	3	3	0.2826	16
25 µM H_2O_2 vs. 200 µM H_2O_2	103.7	83.25	20.49	16.62	3	3	1.744	16
25 µM H_2O_2 vs. 400 µM H_2O_2	103.7	12.58	91.16	16.62	3	3	7.758	16
25 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	103.7	2.011	101.7	16.62	3	3	8.657	16
25 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	103.7	0.9598	102.8	16.62	3	3	8.747	16
50 µM H_2O_2 vs. 100 µM H_2O_2	100.5	107.1	-6.582	16.62	3	3	0.5601	16
50 µM H_2O_2 vs. 200 µM H_2O_2	100.5	83.25	17.23	16.62	3	3	1.466	16
50 µM H_2O_2 vs. 400 µM H_2O_2	100.5	12.58	87.90	16.62	3	3	7.481	16
50 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	100.5	2.011	98.47	16.62	3	3	8.380	16
50 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	100.5	0.9598	99.52	16.62	3	3	8.469	16
100 µM H_2O_2 vs. 200 µM H_2O_2	107.1	83.25	23.81	16.62	3	3	2.026	16
100 µM H_2O_2 vs. 400 µM H_2O_2	107.1	12.58	94.48	16.62	3	3	8.041	16
100 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	107.1	2.011	105.1	16.62	3	3	8.940	16
100 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	107.1	0.9598	106.1	16.62	3	3	9.029	16
200 µM H_2O_2 vs. 400 µM H_2O_2	83.25	12.58	70.67	16.62	3	3	6.014	16
200 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	83.25	2.011	81.24	16.62	3	3	6.914	16
200 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	83.25	0.9598	82.29	16.62	3	3	7.003	16
400 µM H_2O_2 vs. 800 µM H_2O_2	12.58	2.011	10.57	16.62	3	3	0.8993	16
400 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	12.58	0.9598	11.62	16.62	3	3	0.9888	16
800 µM H_2O_2 vs. 1000 µM H_2O_2	2.011	0.9598	1.051	16.62	3	3	0.08947	16

Ek-B Su Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

Number of families	1					
Number of comparisons per family	28					
Alpha	0.05					
Tukey's multiple comparisons test	**Mean Diff.**	**95.00% CI of diff.**	**Below threshold?**	**Summary**	**Adjusted P Value**	
PBS vs. H_2O_2	58.27	15.84 to 100.7	Yes	**	0.0060	A-B
PBS vs. Su 31,25 µg/ml + H_2O_2	18.65	-23.78 to 61.08	No	ns	0.7333	A-C
PBS vs. Su 62,5 µg/ml + H_2O_2	47.53	0.08738 to 94.96	Yes	*	0.0495	A-D
PBS vs. Su 125 µg/ml + H_2O_2	59.93	12.49 to 107.4	Yes	*	0.0111	A-E
PBS vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	65.16	17.72 to 112.6	Yes	**	0.0060	A-F
PBS vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	38.37	-9.068 to 85.81	No	ns	0.1465	A-G
PBS vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	-7.494	-54.93 to 39.94	No	ns	0.9985	A-H
H_2O_2 vs. Su 31,25 µg/ml + H_2O_2	-39.62	-82.05 to 2.811	No	ns	0.0730	B-C
H_2O_2 vs. Su 62,5 µg/ml + H_2O_2	-10.75	-58.18 to 36.69	No	ns	0.9868	B-D
H_2O_2 vs. Su 125 µg/ml + H_2O_2	1.658	-45.78 to 49.10	No	ns	>0.9999	B-E
H_2O_2 vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	6.885	-40.55 to 54.32	No	ns	0.9991	B-F
H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	-19.90	-67.34 to 27.54	No	ns	0.7718	B-G
H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	-65.76	-113.2 to -18.33	Yes	**	0.0056	B-H
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 62,5 µg/ml + H_2O_2	28.87	-18.56 to 76.31	No	ns	0.3986	C-D
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 125 µg/ml + H_2O_2	41.28	-6.161 to 88.71	No	ns	0.1045	C-E
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	46.50	-0.9334 to 93.94	No	ns	0.0560	C-F
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	19.72	-27.72 to 67.16	No	ns	0.7791	C-G
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	-26.15	-73.58 to 21.29	No	ns	0.5063	C-H
Su 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 125 µg/ml + H_2O_2	12.40	-39.56 to 64.37	No	ns	0.9824	D-E
Su 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	17.63	-34.33 to 69.60	No	ns	0.9002	D-F
Su 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	-9.156	-61.12 to 42.81	No	ns	0.9970	D-G
Su 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	-55.02	-107.0 to -3.054	Yes	*	0.0357	D-H
Su 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	5.228	-46.74 to 57.19	No	ns	>0.9999	E-F
Su 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	-21.56	-73.52 to 30.41	No	ns	0.7805	E-G
Su 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	-67.42	-119.4 to -15.46	Yes	**	0.0092	E-H
Su 250 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	-26.79	-78.75 to 25.18	No	ns	0.5785	F-G
Su 250 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	-72.65	-124.6 to -20.69	Yes	**	0.0053	F-H
Su 500 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	-45.86	-97.83 to 6.102	No	ns	0.0975	G-H

Test details	**Mean 1**	**Mean 2**	**Mean Diff.**	**SE of diff.**	**n1**	**n2**	**q**	**DF**
PBS vs. H_2O_2	100.0	41.73	58.27	11.53	3	3	7.144	11
PBS vs. Su 31,25 µg/ml + H_2O_2	100.0	81.35	18.65	11.53	3	3	2.287	11
PBS vs. Su 62,5 µg/ml + H_2O_2	100.0	52.47	47.53	12.90	3	2	5.212	11
PBS vs. Su 125 µg/ml + H_2O_2	100.0	40.07	59.93	12.90	3	2	6.572	11
PBS vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	100.0	34.84	65.16	12.90	3	2	7.145	11
PBS vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	100.0	61.63	38.37	12.90	3	2	4.208	11
PBS vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	100.0	107.5	-7.494	12.90	3	2	0.8218	11
H_2O_2 vs. Su 31,25 µg/ml + H_2O_2	41.73	81.35	-39.62	11.53	3	3	4.858	11
H_2O_2 vs. Su 62,5 µg/ml + H_2O_2	41.73	52.47	-10.75	12.90	3	2	1.178	11
H_2O_2 vs. Su 125 µg/ml + H_2O_2	41.73	40.07	1.658	12.90	3	2	0.1818	11
H_2O_2 vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	41.73	34.84	6.885	12.90	3	2	0.7551	11
H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	41.73	61.63	-19.90	12.90	3	2	2.182	11
H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	41.73	107.5	-65.76	12.90	3	2	7.212	11
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 62,5 µg/ml + H_2O_2	81.35	52.47	28.87	12.90	3	2	3.166	11
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 125 µg/ml + H_2O_2	81.35	40.07	41.28	12.90	3	2	4.527	11
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	81.35	34.84	46.50	12.90	3	2	5.100	11
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	81.35	61.63	19.72	12.90	3	2	2.162	11
Su 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	81.35	107.5	-26.15	12.90	3	2	2.867	11
Su 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 125 µg/ml + H_2O_2	52.47	40.07	12.40	14.13	2	2	1.242	11
Su 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	52.47	34.84	17.63	14.13	2	2	1.765	11
Su 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	52.47	61.63	-9.156	14.13	2	2	0.9166	11
Su 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	52.47	107.5	-55.02	14.13	2	2	5.508	11
Su 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 250 µg/ml + H_2O_2	40.07	34.84	5.228	14.13	2	2	0.5233	11
Su 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	40.07	61.63	-21.56	14.13	2	2	2.158	11
Su 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	40.07	107.5	-67.42	14.13	2	2	6.750	11
Su 250 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 500 µg/ml + H_2O_2	34.84	61.63	-26.79	14.13	2	2	2.682	11
Su 250 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	34.84	107.5	-72.65	14.13	2	2	7.273	11
Su 500 µg/ml + H_2O_2 vs. Su 1000 + µg/ml + H_2O_2	61.63	107.5	-45.86	14.13	2	2	4.591	11

Ek-C EA Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

Number of families					
Number of comparisons per family					
Alpha					
Tukey's multiple comparisons test	**95.00% CI of diff.**	**Below threshold?**	**Summary**	**Adjusted P Value**	
PBS vs. H_2O_2	19.99 to 96.55	Yes	**	0.0027	A-B
PBS vs. EA 31,25 µg/ml + H_2O_2	13.53 to 90.09	Yes	**	0.0068	A-C
PBS vs. EA 62,5 µg/ml + H_2O_2	19.41 to 95.98	Yes	**	0.0029	A-D
PBS vs. EA 125 µg/ml + H_2O_2	53.62 to 130.2	Yes	****	<0.0001	A-E
PBS vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	49.68 to 126.3	Yes	****	<0.0001	A-F
H_2O_2 vs. EA 31,25 µg/ml + H_2O_2	-44.75 to 31.82	No	ns	0.9915	B-C
H_2O_2 vs. EA 62,5 µg/ml + H_2O_2	-38.86 to 37.71	No	ns	>0.9999	B-D
H_2O_2 vs. EA 125 µg/ml + H_2O_2	-4.651 to 71.92	No	ns	0.0981	B-E
H_2O_2 vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	-8.586 to 67.98	No	ns	0.1692	B-F
EA 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 62,5 µg/ml + H_2O_2	-32.40 to 44.17	No	ns	0.9944	C-D
EA 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 125 µg/ml + H_2O_2	1.811 to 78.38	Yes	*	0.0383	C-E
EA 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	-2.124 to 74.44	No	ns	0.0682	C-F
EA 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 125 µg/ml + H_2O_2	-4.076 to 72.49	No	ns	0.0904	D-E
EA 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	-8.011 to 68.56	No	ns	0.1565	D-F
EA 125 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	-42.22 to 34.35	No	ns	0.9992	E-F

Test details	**Mean 2**	**Mean Diff.**	**SE of diff.**	**n1**	**n2**	**q**	**DF**
PBS vs. H_2O_2	41.73	58.27	11.40	3	3	7.230	12
PBS vs. EA 31,25 µg/ml + H_2O_2	48.19	51.81	11.40	3	3	6.428	12
PBS vs. EA 62,5 µg/ml + H_2O_2	42.30	57.70	11.40	3	3	7.159	12
PBS vs. EA 125 µg/ml + H_2O_2	8.096	91.90	11.40	3	3	11.40	12
PBS vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	12.03	87.97	11.40	3	3	10.92	12
H_2O_2 vs. EA 31,25 µg/ml + H_2O_2	48.19	-6.462	11.40	3	3	0.8017	12
H_2O_2 vs. EA 62,5 µg/ml + H_2O_2	42.30	-0.5749	11.40	3	3	0.07133	12
H_2O_2 vs. EA 125 µg/ml + H_2O_2	8.096	33.63	11.40	3	3	4.173	12
H_2O_2 vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	12.03	29.70	11.40	3	3	3.685	12
EA 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 62,5 µg/ml + H_2O_2	42.30	5.887	11.40	3	3	0.7304	12
EA 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 125 µg/ml + H_2O_2	8.096	40.09	11.40	3	3	4.975	12
EA 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	12.03	36.16	11.40	3	3	4.487	12
EA 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 125 µg/ml + H_2O_2	8.096	34.21	11.40	3	3	4.245	12
EA 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	12.03	30.27	11.40	3	3	3.756	12
EA 125 µg/ml + H_2O_2 vs. EA 250 µg/ml + H_2O_2	12.03	-3.935	11.40	3	3	0.4883	12

Ek-D MetOH Özütünün Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

Number of families	1							
Number of comparisons per family	10							
Alpha	0.05							
Tukey's multiple comparisons test	**Mean Diff.**	**95.00% CI of diff.**	**Below threshold?**	**Summary**	**Adjusted P Value**			
PBS vs. H_2O_2	58.27	24.74 to 91.80	Yes	**	0.0014	A-B		
PBS vs. MetOH 31,25 µg/ml + H_2O_2	86.05	52.52 to 119.6	Yes	****	<0.0001	A-C		
PBS vs. MetOH 62,5 µg/ml + H_2O_2	93.65	60.12 to 127.2	Yes	****	<0.0001	A-D		
PBS vs. MetOH 125 µg/ml + H_2O_2	91.76	58.23 to 125.3	Yes	****	<0.0001	A-E		
H_2O_2 vs. MetOH 31,25 µg/ml + H_2O_2	27.78	-5.747 to 61.31	No	ns	0.1189	B-C		
H_2O_2 vs. MetOH 62,5 µg/ml + H_2O_2	35.38	1.846 to 68.91	Yes	*	0.0377	B-D		
H_2O_2 vs. MetOH 125 µg/ml + H_2O_2	33.49	-0.03871 to 67.02	No	ns	0.0503	B-E		
MetOH 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. MetOH 62,5 µg/ml + H_2	7.593	-25.94 to 41.12	No	ns	0.9405	C-D		
MetOH 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. MetOH 125 µg/ml + H_2	5.709	-27.82 to 39.24	No	ns	0.9780	C-E		
MetOH 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. MetOH 125 µg/ml + H_2O_2	-1.884	-35.42 to 31.65	No	ns	0.9997	D-E		
Test details	**Mean 1**	**Mean 2**	**Mean Diff.**	**SE of diff.**	**n1**	**n2**	**q**	**DF**
PBS vs. H_2O_2	100.0	41.73	58.27	10.19	3	3	8.088	10
PBS vs. MetOH 31,25 µg/ml + H_2O_2	100.0	13.95	86.05	10.19	3	3	11.94	10
PBS vs. MetOH 62,5 µg/ml + H_2O_2	100.0	6.353	93.65	10.19	3	3	13.00	10
PBS vs. MetOH 125 µg/ml + H_2O_2	100.0	8.237	91.76	10.19	3	3	12.74	10
H_2O_2 vs. MetOH 31,25 µg/ml + H_2O_2	41.73	13.95	27.78	10.19	3	3	3.857	10
H_2O_2 vs. MetOH 62,5 µg/ml + H_2O_2	41.73	6.353	35.38	10.19	3	3	4.910	10
H_2O_2 vs. MetOH 125 µg/ml + H_2O_2	41.73	8.237	33.49	10.19	3	3	4.649	10
MetOH 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. MetOH 62,5 µg/ml + H_2	13.95	6.353	7.593	10.19	3	3	1.054	10
MetOH 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. MetOH 125 µg/ml + H_2	13.95	8.237	5.709	10.19	3	3	0.7924	10
MetOH 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. MetOH 125 µg/ml + H_2O_2	6.353	8.237	-1.884	10.19	3	3	0.2616	10

Ek-E Sarı Kantaron Yağının Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

Number of families	1					
Number of comparisons per family	28					
Alpha	0.05					
Tukey's multiple comparisons test	**Mean Diff.**	**95.00% CI of diff.**	**Below threshold?**	**Summary**	**Adjusted P Value**	
PBS vs. H_2O_2	58.27	16.50 to 100.0	Yes	**	0.0045	A-B
PBS vs. Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2	29.00	-12.77 to 70.77	No	ns	0.2834	A-C
PBS vs. Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2	28.21	-13.56 to 69.99	No	ns	0.3109	A-D
PBS vs. Yağ 125 µg/ml + H_2O_2	27.00	-19.70 to 73.71	No	ns	0.4806	A-E
PBS vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	26.89	-19.81 to 73.59	No	ns	0.4853	A-F
PBS vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	45.48	3.711 to 87.26	Yes	*	0.0290	A-G
PBS vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	63.36	16.66 to 110.1	Yes	**	0.0056	A-H
H_2O_2 vs. Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2	-29.27	-71.04 to 12.50	No	ns	0.2743	B-C
H_2O_2 vs. Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2	-30.06	-71.83 to 11.72	No	ns	0.2492	B-D
H_2O_2 vs. Yağ 125 µg/ml + H_2O_2	-31.27	-77.97 to 15.44	No	ns	0.3200	B-E
H_2O_2 vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	-31.38	-78.08 to 15.32	No	ns	0.3163	B-F
H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	-12.79	-54.56 to 28.99	No	ns	0.9474	B-G
H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	5.094	-41.61 to 51.80	No	ns	0.9999	B-H
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2	-0.7848	-42.56 to 40.99	No	ns	>0.9999	C-D
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 125 µg/ml + H_2O_2	-1.996	-48.70 to 44.71	No	ns	>0.9999	C-E
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	-2.108	-48.81 to 44.60	No	ns	>0.9999	C-F
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	16.48	-25.29 to 58.26	No	ns	0.8384	C-G
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	34.36	-12.34 to 81.07	No	ns	0.2290	C-H
Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 125 µg/ml + H_2O_2	-1.211	-47.91 to 45.49	No	ns	>0.9999	D-E
Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	-1.323	-48.03 to 45.38	No	ns	>0.9999	D-F
Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	17.27	-24.50 to 59.04	No	ns	0.8069	D-G
Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	35.15	-11.55 to 81.85	No	ns	0.2095	D-H
Yağ 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	-0.1123	-51.27 to 51.05	No	ns	>0.9999	E-F
Yağ 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	18.48	-28.22 to 65.18	No	ns	0.8366	E-G
Yağ 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	36.36	-14.80 to 87.52	No	ns	0.2608	E-H
Yağ 250 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	18.59	-28.11 to 65.29	No	ns	0.8327	F-G
Yağ 250 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	36.47	-14.69 to 87.63	No	ns	0.2578	F-H
Yağ 500 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	17.88	-28.82 to 64.58	No	ns	0.8567	G-H

Test details	Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q	DF
PBS vs. H_2O_2	100.0	41.73	58.27	11.70	3	3	7.043	13
PBS vs. Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2	100.0	71.00	29.00	11.70	3	3	3.505	13
PBS vs. Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2	100.0	71.79	28.21	11.70	3	3	3.410	13
PBS vs. Yağ 125 µg/ml + H_2O_2	100.0	73.00	27.00	13.08	3	2	2.919	13
PBS vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	100.0	73.11	26.89	13.08	3	2	2.907	13
PBS vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	100.0	54.52	45.48	11.70	3	3	5.498	13
PBS vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	100.0	36.64	63.36	13.08	3	2	6.850	13
H_2O_2 vs. Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2	41.73	71.00	-29.27	11.70	3	3	3.538	13
H_2O_2 vs. Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2	41.73	71.79	-30.06	11.70	3	3	3.633	13
H_2O_2 vs. Yağ 125 µg/ml + H_2O_2	41.73	73.00	-31.27	13.08	3	2	3.380	13
H_2O_2 vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	41.73	73.11	-31.38	13.08	3	2	3.392	13
H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	41.73	54.52	-12.79	11.70	3	3	1.546	13
H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	41.73	36.64	5.094	13.08	3	2	0.5507	13
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2	71.00	71.79	-0.7848	11.70	3	3	0.09486	13
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 125 µg/ml + H_2O_2	71.00	73.00	-1.996	13.08	3	2	0.2157	13
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	71.00	73.11	-2.108	13.08	3	2	0.2279	13
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	71.00	54.52	16.48	11.70	3	3	1.992	13
Yağ 31,25 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	71.00	36.64	34.36	13.08	3	2	3.715	13
Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 125 µg/ml + H_2O_2	71.79	73.00	-1.211	13.08	3	2	0.1309	13
Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	71.79	73.11	-1.323	13.08	3	2	0.1430	13
Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	71.79	54.52	17.27	11.70	3	3	2.087	13
Yağ 62,5 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	71.79	36.64	35.15	13.08	3	2	3.800	13
Yağ 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 250 µg/ml + H_2O_2	73.00	73.11	-0.1123	14.33	2	2	0.01109	13
Yağ 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	73.00	54.52	18.48	13.08	2	3	1.998	13
Yağ 125 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	73.00	36.64	36.36	14.33	2	2	3.588	13
Yağ 250 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 500 µg/ml + H_2O_2	73.11	54.52	18.59	13.08	2	3	2.010	13
Yağ 250 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	73.11	36.64	36.47	14.33	2	2	3.600	13
Yağ 500 µg/ml + H_2O_2 vs. Yağ 1000 µg/ml + H_2O_2	54.52	36.64	17.88	13.08	3	2	1.933	13

Ek-F Hiperisinin Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

Number of families	1							
Number of comparisons per family	10							
Alpha	0.05							
Tukey's multiple comparisons test	**Mean Diff.**	**95.00% CI of diff.**	**Below threshold?**	**Summary**	**Adjusted P Value**			
PBS vs. H_2O_2	38.42	15.99 to 60.85	Yes	**	0.0016	A-B		
PBS vs. Hiperisin 0,5 µM + H_2O_2	69.24	46.81 to 91.67	Yes	****	<0.0001	A-C		
PBS vs. Hiperisin 1 µM + H_2O_2	88.43	66.00 to 110.9	Yes	****	<0.0001	A-D		
PBS vs. Hiperisin 2,5 µM + H_2O_2	87.13	64.70 to 109.6	Yes	****	<0.0001	A-E		
H_2O_2 vs. Hiperisin 0,5 µM + H_2O_2	30.82	8.391 to 53.25	Yes	**	0.0076	B-C		
H_2O_2 vs. Hiperisin 1 µM + H_2O_2	50.01	27.58 to 72.43	Yes	***	0.0002	B-D		
H_2O_2 vs. Hiperisin 2,5 µM + H_2O_2	48.70	26.27 to 71.13	Yes	***	0.0002	B-E		
Hiperisin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperisin 1 µM + H_2O_2	19.19	-3.241 to 41.62	No	ns	0.1040	C-D		
Hiperisin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperisin 2,5 µM + H_2O	17.88	-4.545 to 40.31	No	ns	0.1386	C-E		
Hiperisin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperisin 2,5 µM + H_2O_2	-1.304	-23.73 to 21.12	No	ns	0.9996	D-E		
Test details	**Mean 1**	**Mean 2**	**Mean Diff.**	**SE of diff.**	**n1**	**n2**	**q**	**DF**
PBS vs. H_2O_2	100.0	61.58	38.42	6.815	3	3	7.974	10
PBS vs. Hiperisin 0,5 µM + H_2O_2	100.0	30.76	69.24	6.815	3	3	14.37	10
PBS vs. Hiperisin 1 µM + H_2O_2	100.0	11.57	88.43	6.815	3	3	18.35	10
PBS vs. Hiperisin 2,5 µM + H_2O_2	100.0	12.87	87.13	6.815	3	3	18.08	10
H_2O_2 vs. Hiperisin 0,5 µM + H_2O_2	61.58	30.76	30.82	6.815	3	3	6.396	10
H_2O_2 vs. Hiperisin 1 µM + H_2O_2	61.58	11.57	50.01	6.815	3	3	10.38	10
H_2O_2 vs. Hiperisin 2,5 µM + H_2O_2	61.58	12.87	48.70	6.815	3	3	10.11	10
Hiperisin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperisin 1 µM + H_2O_2	30.76	11.57	19.19	6.815	3	3	3.982	10
Hiperisin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperisin 2,5 µM + H_2O	30.76	12.87	17.88	6.815	3	3	3.711	10
Hiperisin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperisin 2,5 µM + H_2O_2	11.57	12.87	-1.304	6.815	3	3	0.2706	10

Ek-G Hiperforinin Oksidatif Strese Karşı Koruyucu Etkinliği

Number of families	1					
Number of comparisons per family	45					
Alpha	0.05					
Tukey's multiple comparisons test	**Mean Diff.**	**95.00% CI of diff.**	**Below threshold?**	**Summary**	**Adjusted P Value**	
PBS vs. H_2O_2	38.42	-5.821 to 82.67	No	ns	0.1237	A-B
PBS vs. Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2	69.02	24.78 to 113.3	Yes	***	0.0007	A-C
PBS vs. Hiperforin 1 µM + H_2O_2	58.96	14.71 to 103.2	Yes	**	0.0040	A-D
PBS vs. Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2	76.47	32.22 to 120.7	Yes	***	0.0002	A-E
PBS vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	77.00	32.76 to 121.2	Yes	***	0.0002	A-F
PBS vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	77.67	33.42 to 121.9	Yes	***	0.0002	A-G
PBS vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	70.12	25.87 to 114.4	Yes	***	0.0006	A-H
PBS vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	69.91	25.67 to 114.2	Yes	***	0.0006	A-I
PBS vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	75.41	31.17 to 119.7	Yes	***	0.0002	A-J
H_2O_2 vs. Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2	30.60	-13.64 to 74.84	No	ns	0.3499	B-C
H_2O_2 vs. Hiperforin 1 µM + H_2O_2	20.53	-23.71 to 64.78	No	ns	0.8124	B-D
H_2O_2 vs. Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2	38.04	-6.200 to 82.29	No	ns	0.1308	B-E
H_2O_2 vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	38.58	-5.663 to 82.82	No	ns	0.1209	B-F
H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	39.24	-4.999 to 83.49	No	ns	0.1094	B-G
H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	31.69	-12.55 to 75.94	No	ns	0.3075	B-H
H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	31.49	-12.75 to 75.73	No	ns	0.3152	B-I
H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	36.99	-7.253 to 81.23	No	ns	0.1524	B-J
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 1 µM + H_2O_2	-10.07	-54.31 to 34.18	No	ns	0.9976	C-D
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2	7.443	-36.80 to 51.69	No	ns	0.9998	C-E
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	7.980	-36.26 to 52.22	No	ns	0.9996	C-F
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	8.644	-35.60 to 52.89	No	ns	0.9993	C-G
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	1.094	-43.15 to 45.34	No	ns	>0.9999	C-H
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	0.8880	-43.36 to 45.13	No	ns	>0.9999	C-I
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	6.390	-37.85 to 50.63	No	ns	>0.9999	C-J
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2	17.51	-26.73 to 61.75	No	ns	0.9130	D-E
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	18.05	-26.20 to 62.29	No	ns	0.8982	D-F
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	18.71	-25.53 to 62.95	No	ns	0.8780	D-G
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	11.16	-33.08 to 55.40	No	ns	0.9949	D-H
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	10.95	-33.29 to 55.20	No	ns	0.9956	D-I
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	16.46	-27.79 to 60.70	No	ns	0.9379	D-J
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	0.5365	-43.71 to 44.78	No	ns	>0.9999	E-F
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	1.201	-43.04 to 45.44	No	ns	>0.9999	E-G
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	-6.349	-50.59 to 37.89	No	ns	>0.9999	E-H
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	-6.555	-50.80 to 37.69	No	ns	>0.9999	E-I
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	-1.054	-45.30 to 43.19	No	ns	>0.9999	E-J
Hiperforin 5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	0.6648	-43.58 to 44.91	No	ns	>0.9999	F-G
Hiperforin 5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	-6.886	-51.13 to 37.36	No	ns	0.9999	F-H
Hiperforin 5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	-7.092	-51.33 to 37.15	No	ns	0.9999	F-I
Hiperforin 5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	-1.590	-45.83 to 42.65	No	ns	>0.9999	F-J
Hiperforin 10 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	-7.551	-51.79 to 36.69	No	ns	0.9998	G-H
Hiperforin 10 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	-7.756	-52.00 to 36.49	No	ns	0.9997	G-I
Hiperforin 10 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	-2.255	-46.50 to 41.99	No	ns	>0.9999	G-J
Hiperforin 20 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	-0.2056	-44.45 to 44.04	No	ns	>0.9999	H-I
Hiperforin 20 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	5.296	-38.95 to 49.54	No	ns	>0.9999	H-J
Hiperforin 25 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	5.502	-38.74 to 49.74	No	ns	>0.9999	I-J

Test details	Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q	DF
PBS vs. H_2O_2	100.0	61.58	38.42	12.49	3	3	4.349	20
PBS vs. Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2	100.0	30.98	69.02	12.49	3	3	7.813	20
PBS vs. Hiperforin 1 µM + H_2O_2	100.0	41.04	58.96	12.49	3	3	6.673	20
PBS vs. Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2	100.0	23.53	76.47	12.49	3	3	8.655	20
PBS vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	100.0	23.00	77.00	12.49	3	3	8.716	20
PBS vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	100.0	22.33	77.67	12.49	3	3	8.791	20
PBS vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	100.0	29.88	70.12	12.49	3	3	7.936	20
PBS vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	100.0	30.09	69.91	12.49	3	3	7.913	20
PBS vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	100.0	24.59	75.41	12.49	3	3	8.536	20
H_2O_2 vs. Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2	61.58	30.98	30.60	12.49	3	3	3.464	20
H_2O_2 vs. Hiperforin 1 µM + H_2O_2	61.58	41.04	20.53	12.49	3	3	2.324	20
H_2O_2 vs. Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2	61.58	23.53	38.04	12.49	3	3	4.306	20
H_2O_2 vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	61.58	23.00	38.58	12.49	3	3	4.367	20
H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	61.58	22.33	39.24	12.49	3	3	4.442	20
H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	61.58	29.88	31.69	12.49	3	3	3.587	20
H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	61.58	30.09	31.49	12.49	3	3	3.564	20
H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	61.58	24.59	36.99	12.49	3	3	4.187	20
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 1 µM + H_2O_2	30.98	41.04	-10.07	12.49	3	3	1.139	20
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2	30.98	23.53	7.443	12.49	3	3	0.8425	20
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	30.98	23.00	7.980	12.49	3	3	0.9032	20
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	30.98	22.33	8.644	12.49	3	3	0.9784	20
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	30.98	29.88	1.094	12.49	3	3	0.1238	20
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	30.98	30.09	0.8880	12.49	3	3	0.1005	20
Hiperforin 0,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	30.98	24.59	6.390	12.49	3	3	0.7232	20
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2	41.04	23.53	17.51	12.49	3	3	1.982	20
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	41.04	23.00	18.05	12.49	3	3	2.043	20
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	41.04	22.33	18.71	12.49	3	3	2.118	20
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	41.04	29.88	11.16	12.49	3	3	1.263	20
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	41.04	30.09	10.95	12.49	3	3	1.240	20
Hiperforin 1 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	41.04	24.59	16.46	12.49	3	3	1.863	20
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 5 µM + H_2O_2	23.53	23.00	0.5365	12.49	3	3	0.06072	20
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	23.53	22.33	1.201	12.49	3	3	0.1360	20
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	23.53	29.88	-6.349	12.49	3	3	0.7187	20
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	23.53	30.09	-6.555	12.49	3	3	0.7420	20
Hiperforin 2,5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	23.53	24.59	-1.054	12.49	3	3	0.1193	20
Hiperforin 5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 10 µM + H_2O_2	23.00	22.33	0.6648	12.49	3	3	0.07525	20
Hiperforin 5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	23.00	29.88	-6.886	12.49	3	3	0.7794	20
Hiperforin 5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	23.00	30.09	-7.092	12.49	3	3	0.8027	20
Hiperforin 5 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	23.00	24.59	-1.590	12.49	3	3	0.1800	20
Hiperforin 10 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 20 µM + H_2O_2	22.33	29.88	-7.551	12.49	3	3	0.8547	20
Hiperforin 10 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	22.33	30.09	-7.756	12.49	3	3	0.8779	20
Hiperforin 10 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	22.33	24.59	-2.255	12.49	3	3	0.2552	20
Hiperforin 20 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 25 µM + H_2O_2	29.88	30.09	-0.2056	12.49	3	3	0.02327	20
Hiperforin 20 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	29.88	24.59	5.296	12.49	3	3	0.5994	20
Hiperforin 25 µM + H_2O_2 vs. Hiperforin 50 µM + H_2O_2	30.09	24.59	5.502	12.49	3	3	0.6227	20