

ARAŞTIRMA

Farklı Dozlarda Ardıç Yağının Sıçan Karaciğerinde Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi

¹Duygu Kumbul Doğuç, ²Nilgün Gürbüz, ¹Firdevs Aylak, ³Emin Şavik, ¹Fatih Gültekin

1Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD

2Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü, Isparta

3Şanlıurfa Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, Şanlıurfa

Özet

Amaç: Ardıç yağı, *Juniperus Communis* Lynn (JCL)'den elde edilen doğal bir üründür. Halk arasında hiperkolesterolemi, diabet gibi hastalıklarda bitkisel tedavi alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tür hastalıkların sıklığının artışı ve hastalık sürecinin uzayışı ileri yaşlarda aşikardır. Dolayısıyla bu yaşlarda ardıç yağı kullanımı ve dozu artmaktadır. Biz çalışmamızda kolesterol düşürücü amaçla 30 gün kullanılan ardıç yağının karaciğer oksidatif ve antioksidatif sistemine etkilerini araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: 35 erişkin, erkek, Wistar albino sıçanlar, kontrol (GI), kolesterol (GII), 50 mg/kg JCL + kolesterol (GIII), 100 mg/kg JCL + kolesterol (GIV) ve 200 mg/kg JCL + kolesterol verilen grup (GIV) olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Otuz günlük uygulama sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edilerek karaciğer dokuları alınmıştır. Karaciğer dokusunda malondialdehid (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri saptanmıştır.

Sonuçlar: Kolesterol alan tüm gruplarda MDA düzeyi anlamlı düzeyde yükselmiştir. JCL verilmesi özellikle 200 mg/kg ile MDA düzeyini düşürememiş hatta GII'ye göre dahi anlamlı düzeyde yükseltmiştir. SOD ve KAT aktiviteleri de 200mg/kg JCL yağı alan grupta anlamlı düzeyde azalmıştır ($P < 0.01$).

Tartışma: JCL yağı karaciğer dokusunda 50 mg/kg doz ile antioksidan, 200 mg/kg doz ile oksidatif stresi artırıcı özellik göstermektedir. Vücutta JCL kullanılan doza bağımlı olarak dokuya özgü farklı sonuçlar yaratabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Juniperus Communis* Lynn, antioksidan etki, karaciğer antioksidan enzimleri

Abstract

Objective: Oil of *Juniperus Communis* Lynn (JCL) which is extracted from JCL leaves is a natural product. It has been commonly used for treating hypercholesterolemia, diabetes as herbal treatment. As these diseases become more frequent and progress over aging the usage of JCL oil prolongs and the doses used increase. In the present study we investigated the effects of JCL oil on oxidative and anti-oxidative systems in liver tissue of hypercholesterolemic rats which were administered JCL oil to lower their cholesterol levels.

Material-Method: Thirty-five, adult male Wistar albino rats were included and divided into 5 groups. The control group (GI) was fed with normal pellet chow, the cholesterol (GII) group was fed with pellet chow containing 2% of cholesterol, the 3rd, 4th and 5th groups were fed with 50, 100, 200mg/kg JCL oil, respectively in addition to the 2% cholesterol-containing pellet chow. At the end of 30 days the experiment was ended and liver tissues were taken. Oxidative (MDA) product and anti-oxidative (KAT, SOD, GSH-Px) enzymes were detected.

Results: MDA levels of the groups that were fed with cholesterol were significantly increased compared with control group ($p < 0.01$). The dose of 200mg/kg JCL (GV) did not lower even increased the MDA levels compared to GII, CAT and SOD activities in GV were significantly decreased compared to GI ($p < 0.01$).

Discussion: JCL oil provides antioxidant effect with the dose 50mg/kg but this effect did not prolong with higher doses in fact with the dose 200 mg/kg oxidative stress was increased. In conclusion it can be said that JCL oil may lead to different effects in a tissue-specific and dose-dependent manner.

Keywords: *Juniperus Communis* Lynn, antioxidative effect, antioxidant enzymes in liver

GİRİŞ

Ardıç yağı, Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da yetişen ve her mevsim yeşil bir bitki olan *Juniperus communis* Lynn (JCL)'den hidrodistilasyon yoluyla elde edilir. Kimyasal olarak yapısında flavonoidleri, biflavonoidleri ve aromateze alkol grupları içermesinden dolayı, parfümlerde ve lezzetlendirici olarak bazı gıdalarda ardıç meyvesi yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (1). JCL meyvesi ve yağı bitkisel tedavi amacıyla çok uzun yıllardır kullanılmaktadır (2). Serum glukoz ve fruktozaminini düşürücü antidiabetik etkisi obez olmayan diabetik farelerde gösterilmiştir (3). *J. communis* meyvesinin antidiabetik etkisi Sa'ñchez de Medina ve ark. tarafından da rapor edilmiştir (4). Ayrıca *J. communis* meyveleri kaynatılarak böbrek enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmıştır. (5, 6). Diğer taraftan *J. Communis*'in aynı zamanda antifertil aktiviteye sahip olduğu gösterilmiş (7) ve *J. Communis* içeriğinde yüksek seviyelerde olduğu tespit edilen isocupressic asitin sığırlarda düşüğe neden olduğu belirtilmiştir (8).

Türkiye'de de halk arasında diüretik, antiseptik, mideyi koruyucu ve gaz giderici etkilere sahip olduğuna inanılarak tedavi amacıyla kullanımı yaygındır (9). Ülkemizde yine *J. Communis* meyvesinin analjezik etkisi de olduğuna inanılmakta ve romatizma, gut, anjina, kardiyak ve cilt hastalıklarında da kullanılmaktadır (10). Ancak günde 30gr.ın üzerindeki dozlarda bir ay boyunca alındığında gastrointestinal sistem ve üriner sistemde irritasyona neden olduğu saptanmıştır (11, 12, 13). Bazı çalışmalarda JCL yağında bulunan isoprenoidlerin bu özelliklerinin yanında hipolidemik etkileri olduğu rapor edilmiştir (14). Akdoğan ve ark. JCL yağının özellikle 200 mg/kg doz ile total kolesterolü düşürücü etkisini ortaya koymuştur (15). JCL meyvesi ve yağının literatürde bulunan kullanım alanları oldukça geniştir ve görüldüğü gibi bazı durumlarda olumlu etkilerine rastlanırken bazı durumlarda da olumsuz sonuçlarına rastlanabilmektedir.

Oksidan ve antioksidan sistem vücutta tam bir denge içerisindedir (16). Hergün ekzojen (UV, radyasyon) ya da endojen kaynaklar (Sitokrom P450, NADPH oksidaz...) aracılığıyla öncelikle O₂ kaynaklı reaktif ürünler oluşmaktadır. Bu ürünler vücudun antioksidan defans mekanizmaları SOD, katalaz, GSH-Px, glutatyon (GSH) tarafından zararsızlaştırılmaktadır (17). Oksidatif stres yaşlanma ve bazı sistemik ve nörodejeneratif hastalığın etyolojisinde rol oynayan faktörlerdendir (16, 18). Endojen antioksidan savunma mekanizmalarımıza ek olarak ekzojen olarak alınması gereken ve etkinliği bilinen vitamin E ve C, bitkisel flavonoidler de antioksidanlar olarak bilinirler (17). Ancak insanlar dengeyi antioksidan yönde destekleyecek hatta daha etkin olacak doğal ürünlerin arayışındadır ve bu amaçla pek çok bitkisel çay, yağ kullanılmaktadır (19). Ardıç yağının yaprağından hazırlanan çeşitli ekstraktların antioksidan etkisi olduğu

çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (20–24) ve ardıç yağının insan organizmasında da antioksidan etkileri olup olmayacağı bu nokta önem taşımaktadır. Biz bu çalışmada kolesterol düşürücü amaçla kullanılan farklı dozlardaki JCL yağının ilk metabolizma durağı olan karaciğer dokusu üzerinde antioksidan enzimler üzerine etkilerini araştırılmayı amaçladık.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Grubu

Süleyman Demirel Üniversitesi, Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen 200–250 g ağırlığındaki 35 erişkin, erkek, Wistar albino sıçanlar, kontrol (Grup 1), kolesterol (Grup 2), 50 mg/kg JCL (Grup 3), 100 mg/kg JCL (Grup 4) ve 200 mg/kg JCL (Grup 5) olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubunda bulunan sıçanlar normal yem ile, kolesterol ve JCL tedavi grubunda bulunan sıçanlar %2 kolesterol içeren yem ile 30 gün boyunca beslenmişlerdir. JCL yağı (Semasen Baharat–Arsen, Isparta, Türkiye) %0.5'lik sodyum karboksil metil seluloz (SCMC) içinde çözülmüş ve 3 farklı dozda JCL, ilgili sıçanlara gavaj yöntemiyle verilmiştir. Otuz günün sonunda % 10'luk ketamin (Alfamin, Alfasan IBV) – % 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV) anestezisi altında sıçanlar sakrifiye edilerek karaciğer dokuları alınmıştır. 50 mM fosfat tamponu (pH 7.4) ile dolu ependorf tüplere alınarak SDÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarına transfer edilmiştir. Herbir doku tartılmış, fosfat tamponu ile 9 kat sulandırılarak homojenize edilmiştir. Homojenizasyon doku parçalama (Janke & Kunkel Ultraturax T–25, Almanya) ve sonikasyon işlemi (UW–2070 Bandeun Electronic, Almanya) ile tamamlanmıştır. Homojenatlar, 4°C'de, 10000 g'de, 10 dk. santrifüj (Eppendorf 5415–R, Almanya) edilmiş ve süpernatantlarından Lowry yöntemi ile protein tayini yapılmıştır (25). Süpernatantlar porsiyonlanıp, enzim aktivitelerinin ölçümüne kadar –80 °C'de saklanmıştır.

2.2. MDA Düzeyinin Saptanması

Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan malondialdehid (MDA) ölçümü için Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi kullanılmıştır (26). Metodun prensibi TCA ile çöktürme işleminden sonra MDA–TBA (Tiobarbitürik asit) kompleksinin 532 nm'de (Shimadzu UV–1601, Almanya) verdiği absorpsiyonun ölçülmesi esasına dayanır. Sonuçlar nmol/gr. Hb olarak verilmiştir.

2.3. KAT Aktivitesi Ölçümü

KAT aktivitesi Aebi yöntemine göre çalışılmıştır. Yöntem, hidrojen peroksidin (H₂O₂) katalaz varlığında su ve moleküler oksijene dönüşmesi sırasında harcanan H₂O₂'in absorpsiyonunun 240 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır (27). Karaciğer dokusuna ait KAT aktivite değerleri, U/mg protein olarak verildi.

2.4. GSH–PX Aktivitesi Ölçümü

GSH-Px aktivitesi, Olympus AU 2700 (Japonya) marka otoanalizöre applike, Randox marka ticari kit kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür. Yöntem, kümen hidroperoksit varlığında GSH-Px'in glutatyonun oksidasyonunu katalizlemesi sonucunda okside olan glutatyonun tekrar redükte forma dönüşmesi için harcanan NADPH'in absorbanasının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır (28). Karaciğer dokusuna ait GSH-Px aktivite değerleri, U/mg protein cinsinden ifade edildi.

2.5. SOD Aktivitesi Ölçümü

SOD aktivitesi, Olympus AU 2700 (Japonya) marka otoanalizöre applike, Randox marka ticari kit kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür. Yöntemin prensibi, ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyon sonucunda ksantinden ürik asit ve süperoksit radikali oluşumuna ve bunu takiben oluşan süperoksit radikalının de kırmızı renkli formazon bileşiği oluşturmak üzere INT (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5 phenil tetrazolium chloride ile reaksiyona girmesine dayanır. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür (29). Karaciğer dokusuna ait SOD aktivite değerleri, U/mg protein şeklinde ifade edilmiştir.

2.6. İstatistiksel Analiz

Tüm gruplara ait MDA düzeyleri ve SOD, KAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinin istatistiksel analizi için SPSS Ver 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Amerika) istatistik programı kullanılmıştır. Tüm gruplar arasındaki çoklu karşılaştırma Kruskal-Wallis testi ile yapılmış ve $P < 0.05$ kabul edilmiş, anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak için ikili karşılaştırmalar Mann Whitney U test ile yapılmış ve bu kez $P < 0.01$ anlamlı kabul edilmiştir.

3. SONUÇLAR

Hiperkolesterolemik sıçanlarda ardıç yağına cevaben lipid peroksidasyonunda ve enzimatik antioksidan kapasitede meydana gelen değişiklikler 3 farklı dozu ile in vivo olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla MDA düzeyi ve SOD, KAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri, kontrol grubu (Grup I) ve kolesterol grubu (Grup II) ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen tüm sonuçlar, ortalama \pm standart sapma (SD) şeklinde Tablo 1'de toplu olarak özetlenmiştir.

Tablo 1. Tüm Grupların Karaciğer Dokusuna ait Antioksidan Enzim Aktivite Değerleri

Gruplar	MDA Düzeyi (μ mol/mg prt)	KAT Aktivitesi (U/mg prt)	GSH-PX Aktivitesi (U/mg prt)	SOD Aktivitesi (U/mg prt)
Grup I (n=7)	0,010 \pm 0,001 ^a	1784,88 \pm 599,7 ^a	3655,56 \pm 741,4	680,67 \pm 135,7 ^a
Grup II (n=7)	0,018 \pm 0,005 ^{b,x}	1127,79 \pm 208,0 ^b	3305,36 \pm 624,5	530,35 \pm 139,3
Grup III (n=7)	0,016 \pm 0,003 ^b	1625,38 \pm 394,9	3424,17 \pm 796,2	581,91 \pm 158,7
Grup IV (n=7)	0,024 \pm 0,004 ^b	1313,09 \pm 272,7	3330,49 \pm 679,2	514,72 \pm 148,4
Grup V (n=7)	0,026 \pm 0,005 ^{b,y}	1073,67 \pm 208,7 ^b	2901,38 \pm 855,3	425,71 \pm 131,6 ^b

Veriler ortalama \pm SD olarak verilmiştir. 'a' ile işaretlenen veri 'b' ile ve 'x' ile işaretlenen veri 'y' ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır ve $P < 0.01$ anlamlı kabul edilmiştir. JCL yağı uygulanan gruplardan 50 mg/kg dozun uygulandığı grupta kısmi bir antioksidan etki gözlenmiş ancak 200 mg/kg dozun uygulandığı grupta KAT ve SOD aktiviteleri anlamlı düzeyde azalmış ve MDA düzeyi kontrol ve kolesterol grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır.

4. TARTIŞMA

Kolesterol yüksekliğinin hücre içerisinde oksidatif strese neden olduğu ve oksidatif stres parametrelerini yükselttiği bildirilmiştir (30, 31). Bizim çalışmamızda da kolesterol alan grubun MDA düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yükselmiştir. Bu düzeyin 50 mg/kg ardıç yağı ile bir miktar düştüğü ancak 100 ve 200 mg/kg düzeyinde ardıç yağı ile aksine daha da yüksek düzeylere ulaştığı gözlemlenmiştir. 200 mg/kg dozda ardıç yağı MDA düzeyini hem kontrol grubuna hem de kolesterol kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yükseltmiş yani oksidatif stresi artırıcı bir ajan gibi davranmıştır. Antioksidan enzimler incelendiğinde ise 50 mg/kg doz ile olumlu gelişmeler olmuş ve antioksidan enzim aktiviteleri kontrol grubunun düzeyine yükselmiştir. Ancak 100 mg/kg doz ile başlayan antioksidan enzim tüketimi 200 mg/kg ardıç yağı kullanılan grupta anlamlı düzeyde artmıştır. KAT ve SOD aktiviteleri 200 mg/kg ardıç yağı kullanılan grupta kolesterolün yarattığı olumsuz etkiyi ortadan kaldıramamış hatta arttırmaya devam etmiştir. Ardıç yağı kolesterol düşürücü amaç ile hiperkolesterolemik vakalara uygulandığında kolesterolün yarattığı oksidatif stresi 50 mg/kg doz ile antioksidan enzim aktivitelerinde iyileşme sağlayarak kontrol grubu düzeyine yaklaştırmış ancak yükselen dozlarında bu etkisi ortadan kalkmış ve hem oksidatif stres parametreleri hemde antioksidan enzim aktivitelerinde olumsuz sonuçlarla karşılaşmıştır.

Elmastaş ve arkadaşları JCL meyvesinin ekstraktlarının in vitro antioksidan kapasitesini araştırmış ve vücutta oluşabilecek çok çeşitli oksidan ürünlere karşı antioksidan aktiviteye sahip olabileceğini ortaya koymuşlardır. In vitro deneylerde JCL meyvesinin ekstraktının güçlü bir H⁺ iyonu alıcısı olduğu, metal iyonlarını şelatlayabildiği ve hidrojen peroksid, süperoksit radikali ve diğer serbest radikallerin etkin bir temizleyicisi olduğu ortaya konmuştur (22). Ancak bu deney canlı bir organizmada değil in vitro olarak JCL meyvesi ve yaprağının inceleme sonuçlarıdır. Bir maddenin in vitro özellikleri ile in vivo etkileri tamamen farklı olabilir. Emami ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Juniperus communis*, *subsp. hemisphaerica* ve *Juniperus oblonga*. M. B. olmak

üzere iki farklı juniperus bitkisinin farklı kısımlarından elde ettikleri yağ ekstraktlarında herhangi bir antioksidan etki olup olmadığı incelenmiştir (32). Araştırmacıların bulgularına göre her iki juniperus türünün pekçok kısmında antioksidan etki gözlenmesine karşın en güçlü etkinin, esansiyel yağlar arasında *J. communis. subsp. hemisphaerica*'nın yaprağında olduğu, test edilen uçucu yağlar arasında ise *J. oblonga*'nın meyvesinde olduğu saptanmıştır. Buna paralel olarak yine başka bir çalışmada, JCL yaprağından elde edilen ekstraktta SOD, GSH-Px ve peroksidaz enzim aktiviteleri çeşitli yöntemlerle ölçülmüş ve anlamlı düzeyde antioksidan bir etki olduğu gözlenmiştir (23).

Bu literatürler JCL yaprağından elde edilen yağı ve meyvesinden elde edilen ekstraktların antioksidan etkilerini ortaya koymaktadır ancak bu deneylerin in vitro şartlarda gerçekleştirilmiş olması önemli bir faktördür ve ayrıca direk bitki içeriği veya ekstraktının antioksidan özellikte maddeler içeriyor olması insan vücudunda da paralel etki göstermesini sağlamayabilir. Ek olarak ardıç yağı insan vücudunda bazı sistemlerde olumlu yönde antioksidan etkiler yaratırken diğer sistemlerde olumsuz etkiler yaratabilir, tıpkı ağrı kesici olarak alınan bir antiinflamatuvar ilacın mide kanaması yapabilmesi gibi. Dolayısıyla dokuya özel ve doza bağımlı farklı etkilerin oluşma ihtimalleri de verilerdeki çelişkilerden sorumlu olabilir.

Karaciğer ksenobiotiklerin ilk ve merkezi detoksifikasyon merkezidir. Sırasıyla hidrosilasyon ve konjugasyon aşamalarından sonra yabancı maddeler daha çok üriner yolla vücuttan uzaklaştırılırlar. Detoksifikasyonun ilk aşamasında Sitokrom P450 enzimi merkezi rol oynar ve yabancı maddeyi suda çözünür hale getirir. Sitokrom P450 enzimi kullanım sürecine bağlı olarak kamçılanabilir özelliktedir ve ihtiyaca göre düzeyi artar (33). Ayrıca Sitokrom P450 en önemli endojen serbest O₂ radikali kaynaklarından biridir (17). Ardıç yağı da vücut için bir ksenobiotiktir ve beraberinde vücut dengelemeye çalıştığı bir kolesterol yükü ile hipolipidemik amaçla 30 gün ve rölatif olarak yüksek dozda kullanılan ardıç yağı Sitokrom P450 sisteminin indüklemesine ve alınımın devam etmesiyle Sitokrom P450'nin kamçılanmasına, miktarının artmasına ve dolayısıyla detoksifikasyon esnasında oksidatif ürünlerin üretiminin de artmasına neden olabilir. Bu mekanizma vücudun fizyolojik cevabıdır ve oksidatif stres parametrelerindeki yüksekliğin klinik bir yansıması olmadan tamamen normal bir fizyolojik cevap olabilir. Diğer yandan halk arasında ardıç yağının kullanım alanları (diabet, romatizma, hiperkolesterolemi) göz önüne alındığında kronik olarak alınması ya da artan dozlarda alınmaya devam edilmesi, kullanan popülasyonun yaşı ve olası yandaş hastalıkları da birlikte değerlendirildiğinde problem oluşturabilir.

Bizim verilerimiz 30 gün boyunca, hiperkolesterolemik sıçanlarda, 50 mg/kg dozda kullanılan ardıç yağının oksidatif stresi azaltabildiği ancak doz 200 mg/kg'a ulaştığında oksidatif stres artışın azaltmadığı gibi arttırdığı yönündedir. Gözlenen etkiler doz bağımlı gibi görünmektedir ve kullanım süresinin daha da uzaması olumsuz sonuçları arttırabilir. Bu nedenledir ki ardıç yağının deneysel ve klinik çalışmalarla tanımlanmış bir doz ve süre tanımı yapılmadan ve farklı sistemlere etkileri bir arada değerlendirilmeden bilinçsiz kullanımının yaratabileceği akibetler göz ardı edilmemelidir.

Kaynaklar

1. Innocenti M, Michelozzi M, Giaccherini C, Ieri F, Vincieri FF, Mulinacci N. Flavonoids and biflavonoids in Tuscan berries of *Juniperus communis* L.: detection and quantitation by HPLC-DAD-ESI-MS. *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55 (16): 6596–6602.
2. ESCOP. *Juniperi fructus: Monographs on the Medici-nal Uses of Plant Drugs.* Exeter, U.K.: European Scien-tific Cooperative on Phytotherapy 1997.
3. Petlevski R, Hadzija M, Slijepcevic M, Juretic D. Effect of 'antidiabetis' herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *J. Ethnopharm.*, 2001; 75: 181–185.
4. Sa'nchez de Medina, F, Ga'mez MJ, Jime'nez I, Jime'nez J, Osuna JI and Zarzuelo A. Hypoglycemic activity of juniper "berries". *Planta Med.*, 1994; 60: 197–200.
5. Ritch-Krc EM, Thomas S, Turner NJ, Towers GHN. *Carriere herbal medicine: traditionally and contemporarily use.* *J. Ethnopharm.* 1996; 52: 85–94.
6. Newall CA, Anderson LA, Phillipson J.D. *Herbal Medicines. A Guide for Health-Care Professionals.* London: The Pharmaceutical Press. 1996.
7. Agrawal OP, Bharadwaj S, Mathur R. Antifertility effects of fruit of *Juniperus communis*. *Planta Med.*, 1980; 98–101.
8. Gardner DR, Panter KE, James LF, Stegelmeier BL. Abortifacient effects of lodgepole pine (*Pinus contorta*) and common juniper (*Juniperus communis*) on cattle. *Vet. Hum. Toxicol.* 1998; 40: 260–263.
9. Baytop T. *Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present); Nobel Tıp Kitapevleri;* 152–153, 1999.

10. Asımgil A. Şifalı Bitkiler. Timaş Yayınevi, 1997; 38–39.
11. Pappas SR. Institut für Marktökologie. Nr. 22/183. Vagosca, Bosnia – Herzegovina 2003.
12. Newall CA, Anderson LA, Phillipson J.D. Herbal Medicines. A Guide for Health–Care Professionals. London: The Pharmaceutical Press. 1996.
13. Butani L, Afshinnik A, Johnson J, et al. Amelioration of tacrolimus–induced nephrotoxicity in rats using juniper oil. Transplantation 2003; 76(2): 306–311.
14. Syrov VN, Abzalova MK, Khushbaktova ZA, Sultanov MB. Hypolipidemic and antiatherosclerotic properties of terpenoid coumarins. Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Uzbek SSR, Tashkent Received 1984.
15. Akdoğan M, Koyu A, Ciris M, Yildiz K. Anti–hypercholesterolemic activity of Juniperus communis Lynn Oil in rats: A biochemical and histopathological investigation. Biomedical Research 2012; 23 (3), 321–328.
16. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA Hasarı ve yaşlanma. (Oxidative DNA damage and aging) Cerrahpaşa J Med 2004; 35: 159–169.
17. Smith C, Marks A, Lieberman M. Marks' Basic Medical Biochemistry. A Clinical Approach. Second Edition. Section 4. Chapter 24. Oxygen Toxicity and Free Radical Injury. 439–457.
18. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition
19. metals and disease. Biochem. J., 219: 1–4.
20. Ho CT, Osawa T, Huang MT, Rosen, T. Food phytochemicals for cancer prevention II. ACS Symposium. Series 547. American Chemical Society: Washington, DC. 1994.
21. Burits M, Asres K, Bucar F. The antioxidant activity of the essential oils of Artemisia afra, Artemisia abyssinica and Juniperus procera. Phytother Res 2001; 15(2):103–8.
22. Afanasev IB, Dorozhko AL, Brodoski AV, et al. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. Biochem Pharmacol 1989; 38: 1763–1769.
23. Elmastas M, Gulcin I, Beydemir S, Kufreviogulu OI, et al. A Study on the In Vitro Antioxidant Activity of Juniper (Juniperus communis L.) Fruit Extracts. Ana–lytical Letters 2006; 39: 47–65.
24. Kumar P, Chandra H, Singh A, Bhatt RP. Antioxidant and anticandidal activity of Juniperus communis L. International Journal of Environmental Rehabilitation and Conservation 2010; 1(1):10–16.
25. Miceli N, Trovato A, Dugo P, Cacciola F, Donato P, Marino A, Bellinghieri V, La Barbera TM, Güvenç A, Taviano MF. Comparative analysis of flavonoid profile, antioxidant and antimicrobial activity of the berries of Juniperus communis L. var. communis and Juniperus communis L. var. saxatilis Pall. from Turkey, J Agric Food Chem. 2009; 57 (15): 6570 – 6577.
26. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folinphenol reagents. J Biol Chem. 1951; 193: 265–275.
27. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol 1990; 186: 421–431.
28. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984;105:121–26.
29. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med. 1967; 70: 158–69.
30. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood various breed crosses of sheep. Res Vet Sci. 1983; 34: 69–77.
31. Balkana J, Doğru AS, Aykaç TG, Uysal M. The effect of a highcholesterol diet on lipids and oxidativestress in plasma, liver and aorta of rabbits and rats. Nutrition Research, 2004; 24 (3): 229–234.
32. Mahfouz MM, Kummerow FA. Cholesterol–rich diets have different effects on lipid peroxidation, cholesterol oxides, and antioxidant enzymes in rats and rabbits. J Nutr Biochem, 2000; 11: 293–302.
33. Emami SA, Javadi B, Hassanzadeh MK. Antioxidant Activity of the Essential Oils of Different Parts of Juniperus communis. subsp. hemisphaerica. and Juniperus oblonga. 2007; 45 (10): 769–776.
34. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper'in Biyokimyası. 24. Baskı. Bölüm 4, 61. Ünite, 799–807.