

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Karbon Tetrakloridin (CCl₄) İndüklediği Karaciğer Hasarı ve
Oksidatif Stres Üzerine *Cynara scolymus* L. Yaprağı Ekstraktının
Etkileri**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMİNE ÇOLAK

DANIŐMAN
Yrd. Doç. Dr. M. Cengiz ÜSTÜNER

AĞUSTOS 2011

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TİBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Karbon Tetrakloridin (CCl₄) İndüklediği Karaciğer Hasarı ve
Oksidatif Stres Üzerine *Cynara scolymus* L. Yaprağı Ekstraktının
Etkileri**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMİNE ÇOLAK

DANIŐMAN
Yrd. Doç. Dr. M. Cengiz ÜSTÜNER

KABUL VE ONAY SAYFASI

Emine ÇOLAK'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Karbon tetrakloridin (CCl₄) İndüklediği Karaciğer Hasarı ve Oksidatif Stres üzerine *Cynara scolymus* L. Yaprağı Ekstraktının Etkileri" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

12.08.2011

Üye: Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ

Üye: Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENCI

Üye: Prof. Dr. Ruhi UYAR

Üye: Yrd. Doç. Dr. Hülyam KURT

Üye: Yrd. Doç. Dr. M. Cengiz ÜSTÜNER

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 16.08.2011 tarih ve 886/14088 Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ferruh YUCEL
Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu araştırmada, sıçanlarda karbon tetrakloridin neden olduğu oksidatif stres ve karaciğer hasarı üzerine *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının etkileri araştırıldı.

Çalışmada 42 adet 4 aylık Wistar cinsi erkek albino sıçan kullanılarak 6 grup oluşturuldu. Kontrol grubu, intraperitonel yolla zeytinyağı verilen zeytinyağı kontrol grubu ve gavaj tekniği ile enginar yaprağı ekstraktı verilen *Cynara scolymus* L. kontrol grubu CCl₄ uygulaması almadı. CCl₄, CCl₄ doğal iyileşme ve kúratif grup deney hayvanlarına çalışmanın ilk 10 gününde zeytin yağında 1:1 oranında çözdürölen CCl₄ (0,2 ml/kg) intraperitonel yolla verildi. CCl₄ uygulaması sonrasında kúratif gruptaki deney hayvanlarına 14 gün boyunca intragastrik olarak gavaj yöntemi ile *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı (1,5 g/kg) distile suda çözündürölererek verildi. CCl₄ grubu sıçanlardan 10. gün, diğer deney gruplarımızdaki sıçanlardan ise çalışmanın 24. günü tamamlandıktan sonra, etik kurallara uygun olarak anestezi altında, uygun teknikler kullanılarak kalp kanı ve karaciğer doku örnekleri alındı. Kan serumlarında aspartat aminotransferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP) ve laktat dehidrogenaz (LDH); hemolizat ve homojenatta katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ile malondialdehit (MDA) düzeyi ölçöldü. Karaciğer dokusunda DNA fragmentasyonu ölçümü yapıldı.

Karaciğer hasarı oluşumu sonrasında *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı verilen kúratif grupta AST enzim aktivitesinin çok önemli düzeyde kontrole yaklaştığı, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin ise CCl₄ grubuna göre düşük olduğu belirlendi.

Hemolizatta kúratif grup SOD inhibisyonu ve katalaz aktivitesinin kontrole yaklaştığı; CCl₄ doğal iyileşme grubuna göre kúratif grup hemolizat MDA düzeyinin azaldığı belirlendi.

Karaciğer homojenatında CCl₄ uygulanan gruplarda SOD inhibisyonunda azalma bulundu. Kúratif grupta SOD inhibisyonunda azalmanın daha az olduğu belirlendi.

Küratif grup homojenat katalaz aktivitesinde artış belirlendi. Küratif grup homojenat MDA düzeyinin CCl₄ doğal iyileşme grubuna göre düşük olduğu belirlendi.

CCl₄ kullanımı sonucunda DNA fragmentasyonunun arttığı ve *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının kullanıldığı küratif grupta DNA fragmentasyonunun azaldığı belirlendi.

Histolojik yönden incelendiğinde; CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarının *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı kullanımı sonucunda azaldığı belirlendi.

Sonuç olarak, karaciğerde hasara sebep olan karbon tetrakloridin neden olduğu oksidatif stres ve karaciğer hasarı üzerine *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının önemli ölçüde hasarı azaltma yönünde etkili olduğu belirlendi.

Anahtar Sözcükler: *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı, CCl₄, karaciğer hasarı, oksidatif stres

ABSTRACT

In this study, the effects of *Cynara scolymus* L. leaf extract on oxidative stress and liver damage were investigated.

Totally, there were 42, 4-month old Wistar male albino rats in 6 groups in the study design. Three groups did not receive CCl₄; which were control group, olive oil control group receiving olive oil intraperitoneally and *Cynara scolymus* L. control group receiving artichoke leaf extract by gavage technique. Three other groups were intraperitoneally given CCl₄ (0,2 ml/kg) dissolved in olive oil (1:1) for the first 10 days of the study, which were CCl₄, CCl₄ natural recovery and curative groups. Then, the following 14 days the curative group intragastrically received the *Cynara scolymus* L. (1,5 g/kg) leaf extract dissolved in distilled water by gavage technique and meanwhile CCl₄ natural recovery group was left to recover itself. Afterwards, heart blood samples and liver tissue samples were collected from each rat in all the groups under anesthesia following the ethics regulation. The sample collection was carried out at the end of day 10 for CCl₄ group and at the end of day 24 for the other groups. Moreover, aspartate aminotransferase (AST), alanin amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) parameters were measured from blood serum samples; catalase and superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) levels were measured from haemolysate and homogenate samples; and DNA fragmentation was analyzed from liver tissue samples.

The test results showed that, after the liver damage, the curative group receiving the *Cynara scolymus* L. leaf extract had AST enzyme activity levels close to the control values, and ALT and ALP enzyme activity levels lower than the CCl₄ group.

The SOD inhibition and catalase activity measures of the haemolysate samples of the curative group were close to the control values. Also, the curative group MDA levels were lower than that of the CCl₄ natural recovery group.

The liver homogenate of the CCl₄ group had decreased SOD inhibition measures. Curative group liver homogenate had decreased SOD inhibition measures to

a lesser degree. In addition, the curative group liver homogenate MDA level was lower than that of the CCl₄ natural recovery group. However, there was an increase in the catalase activity of the curative group liver homogenate.

The results indicated that the DNA fragmentation was increased by CCl₄ application and the fragmentation was decreased in the curative group receiving the *Cynara scolymus* L. leaf extract.

Histological analysis provided evidence for *Cynara scolymus* L. leaf extract to decrease the liver damage induced by CCl₄ application.

Overall, the study showed that *Cynara scolymus* L. leaf extract has an important effect on decreasing the oxidative stress and liver damage induced by CCl₄.

Keywords: CCl₄, *Cynara scolymus* L. leaf extract, liver damage, oxidative stress.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİL DİZİNİ	xii
TABLO DİZİNİ.....	xiv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 KARACİĞER VE KARACİĞER HASARI.....	4
2.1.1. KARACİĞER.....	4
2.1.1.1 Karaciğer Yapısı	5
2.1.1.2 Karaciğerin görevleri.....	6
2.1.2 KARACİĞER HASARI TÜRLERİ	6
2.1.2.1 Karaciğer Hasar Türlerinin Sınıflandırılması	6
2.1.2.2 Karaciğer Hasarında Histopatolojik Bulgular	7
2.1.3 KARBON TETRAKLORİD (CCl ₄) TOKSİSİTESİ.....	9
2.1.4 KARBON TETRAKLORİD (CCl ₄) TOKSİSİTESİNİN SERBEST RADİKALLER İLE İLİŞKİSİ.....	9
2.2 SERBEST RADİKALLER, ANTİOKSİDANLAR VE OKSİDATİF STRES .13	
2.2.1 SERBEST RADİKALLER.....	13
2.2.1.1 Serbest Oksijen Radikalleri	14
2.2.1.2 Serbest Radikallerin Kaynakları	16
2.2.1.3 Serbest Radikallerin Biyokimyasal Etkileri	17
2.2.1.3.1 Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri: Lipit Peroksidasyonu	17
2.2.1.3.2 Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri.....	19
2.2.1.3.3 Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri	19
2.2.1.3.4 Serbest Radikallerin DNA' ya Etkileri	20
2.2.2 ANTİOKSİDAN SİSTEM.....	21

2.2.2.1 Antioksidan Sistem Tanımı ve Etki Tipleri	21
2.2.2.2 Antioksidan Etki Mekanizması	22
2.2.2.3 Antioksidanların Sınıflandırılması	23
2.2.2.3.1 Endojen Antioksidanlar	23
2.2.2.3.1.1. Enzimatik antioksidanlar	23
2.2.2.3.1.1.1 Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz Sistemi	24
2.2.2.3.1.1.2 Süperoksit Dismutaz (SOD)	25
2.2.2.3.1.1.3 Katalaz (KAT)	26
2.2.2.3.1.1.3 Glutasyon Peroksidaz (GPx)	27
2.2.2.3.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	27
2.2.2.3.1.2 Ekzojen Antioksidanlar	28
2.2.3 OKSİDATİF STRES	29
2.2.3.1 Oksidatif Stresin Etkileri	30
2.3 <i>Cynara scolymus</i> L	31
2.3.1. <i>Cynara scolymus</i> L KİMYASAL ÖZELLİKLERİ	32
2.5.2. <i>Cynara scolymus</i> L. EKSTRAKTININ GÜNLÜK HAYATTA KULLANIM YERLERİ	32
2.5.2. <i>Cynara scolymus</i> L ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1 GEREÇ	34
3.1.1 Deney Hayvanları	34
3.1.2 Kimyasal Maddeler	34
3.1.3 Aygıtlar	36
3.2 YÖNTEM	38
3.2.1 Deney Grupları ve Doz Miktarları	38
3.2.2 Deney Hayvanlarından Çalışılacak Örneklerin Alınması	39
3.2.3 Serum Ölçümleri	40
3.2.4 Kan Ölçümleri	43
3.2.5 Karaciğer Dokusundan Homojenat Hazırlanması	46
3.2.6 Karaciğer Dokusunda Total Protein Ölçümü	46
3.2.7 Hemolizat ve Homojenat Enzim Aktivitelerinin Ölçümü	48
3.2.8. Karaciğer Dokusunda DNA Fragmantasyonu Ölçümü	55

3.2.9. Karaciğer Örneklerinden Histolojik Preparatların Hazırlanması	58
3.2.10 İstatistiksel Analiz	58
4. BULGULAR	60
4.1 SIÇAN VÜCUT AĞIRLIKLARI	60
4.1.1 Sıçan Vücut Ağırlıklarının Grup İçerisinde İlk ve Son Ağırlıklarının Karşılaştırılması	60
4.1.2 Sıçan Vücut Ağırlık Farklarının Gruplar Arası Karşılaştırılması	62
4.2 SERUM DEĞERLERİNE AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	63
4.2.1 Serum Aspartat Amino Transferaz (AST) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme	63
4.2.2 Serum Alanin Amino Transferaz (ALT) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme	65
4.2.3 Serum Alkalen Fosfataz (ALP) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme	66
4.2.4 Serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme	68
4.3 KAN DEĞERLERİNE AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	69
4.3.1 Hemoglobin.....	69
4.4 HEMOLİZATA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	71
4.4.1 Hemolizatta SOD Aktivitesi	71
4.4.2 Hemolizatta KAT Aktivitesi	72
4.4.3 Hemolizatta MDA Düzeyi	74
4.5 KARACİĞER HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	75
4.5.1 Karaciğer Homojenatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi.....	75
4.5.2 Karaciğer Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesi	77
4.5.3 Karaciğer Homojenatında Malondialdehit (MDA) Düzeyi	78
4.6 DNA FRAGMENTASYONU	80
4.7 KARACİĞERDE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	81
5. TARTIŞMA	86
5.1 SIÇAN VÜCUT AĞIRLIKLARI	86

5.1.1 Sıçan Vücut Ağırlıkları.....	86
5.1.2 Sıçan Vücut Ağırlıkları Farkı.....	87
5.2 SERUM DEĞERLERİNE AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	87
5.2.1 AST.....	87
5.2.2 ALT	88
5.2.3 ALP	89
5.2.4 LDH	90
5.3 KAN DEĞERLERİNE AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	90
5.3.1 Hemoglobin.....	90
5.4 HEMOLİZATA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	91
5.4.1 Hemolizatta SOD Aktivitesi	91
5.4.2 Hemolizatta KAT Aktivitesi	91
5.4.3 Hemolizatta MDA Düzeyi	92
5.5 KARACİĞER HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER.....	93
5.5.1 Homojenat SOD Düzeyi	93
5.5.2 Homojenat KAT Düzeyi.....	94
5.5.3 Homojenat MDA Düzeyi.....	94
5.6 DNA FRAGMENTASYONU	96
5.7 KARACİĞERDE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	97
6. SONUÇ	98
KAYNAKLAR	100
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİL DİZİNİ

ŞEKİL		SAYFA
Şekil 2.1.	Karbon tetraklorid metabolizması ve reaktif metabolitlerin oluşumu	11
Şekil 3.1.	MDA standart eğrisi.....	54
Şekil 4.1.	Kontrol ve deney gruplarının grup içerisinde ilk ve son ağırlıkları.....	61
Şekil 4.2.	Kontrol ve deney gruplarının grup içerisinde ilk ve son ağırlıkları.....	63
Şekil 4.3.	Kontrol ve deney gruplarının serum aspartat amino Transferaz (AST) değerleri	64
Şekil 4.4.	Kontrol ve deney gruplarının serum alanin amino transferaz (ALT) değerleri	66
Şekil 4.5.	Kontrol ve deney gruplarının serum alkalen fosfataz (ALP) değerleri	67
Şekil 4.6.	Kontrol ve deney gruplarının serum laktat dehidrojenaz (LDH) değerleri	69
Şekil 4. 7.	Kontrol ve deney gruplarının Hemoglobin değerleri	70
Şekil 4. 8.	Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta SOD % inhibisyonu	72
Şekil 4. 9.	Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta katalaz aktivitesi değerleri	73
Şekil 4. 10.	Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri	75
Şekil 4. 11.	Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri	76

Şekil 4. 12.	Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri	78
Şekil 4. 13	Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında malondialdehit (MDA) Düzeyi	79
Şekil 4. 14.	Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında DNA fragmantasyonu yüzdesi	81
Şekil 4. 15.	Kontrol grubuna ait normal karaciğer yapısı	82
Şekil 4.16.	Zeytin yağ grubuna ait karaciğer yapısı	82
Şekil 4.17.	<i>Cynara scolymus</i> ekstrakt grubuna ait karaciğer yapısı.....	83
Şekil 4.18.	CCl_4 grubuna ait karaciğer yapısı	84
Şekil 4.19.	CCl_4 doğal iyileşme grubuna ait normale yakın karaciğer yapısı	85
Şekil 4.20.	Küratif gruba ait karaciğer yapısı.....	85

TABLolar DİZİNİ

TABLO		SAYFA
Tablo2.1.	Radikal Olan ve Olmayan Oksijen Türevleri	14
Tablo 2.2.	Serbest Radikal Kaynakları	17
Tablo 2.3.	Endojen Antioksidanlar	24
Tablo 2.4.	Ekzojen Antioksidanlar	29
Tablo 3.1.	Deney grupları, deney gruplarına uygulanan maddeler, miktarları ve uygulamalar	38
Tablo 3.2.	Örneklerin optik dansiteleri ve hemoglobin g/dl değerleri	44
Tablo 4.1.	Kontrol ve deney gruplarının Grup İçerisinde İlk ve Son Ağırlıkları ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	61
Tablo 4.2.	Kontrol ve deney gruplarının vücut ağırlıkları farkı ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	62
Tablo 4.3.	Kontrol ve deney gruplarının Serum Aspartat Amino Transferaz (AST) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	64
Tablo 4.4.	Kontrol ve deney gruplarının Serum Alanin Amino Transferaz (ALT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	65
Tablo 4.5.	Kontrol ve deney gruplarının Serum Alkalen Fosfataz (ALP) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	67

Tablo 4.6.	Kontrol ve deney gruplarının Serum Laktat Dehidrojenaz (LDH)değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	68
Tablo 4.7.	Kontrol ve deney gruplarının Hemoglobün değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	70
Tablo 4.8.	Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta SOD % inhibisyonu ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri.....	71
Tablo 4.9.	Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta Katalaz aktivitesi değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	73
Tablo 4.10.	Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	74
Tablo 4.11.	Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	76
Tablo 4.12.	Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında Katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	77
Tablo 4.13.	Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında Malondialdehit (MDA) Düzeyi ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	79
Tablo 4.14.	Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında DNA fragmentasyonu yüzdesi ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri	80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>SİMGELER</u>	<u>ACIKLAMA</u>
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Amonyum Molibdat
A	Absorbans
ALP	Alkalen Fosfataz
ALT	Alanin Amino Transferaz
AST	Aspartat Amino Transferaz
B	Blank
CBC	Cell Blood Count
$\text{CCl}_3\cdot^-$	Triklorometil
$\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot^-$	Triklorometil Perokside
CCl_4	Karbon Tetraklorid
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Redükte Glutasyon
GSH-P _x	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	Okside Glutasyon
H&E	Hematoksilen-Eosin
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
H_2PO_4	Fosforik Asit
Hb	Hemoglobin
HCl	Hidroklorik Asit

PDF Eraser Free

OH•	Hidroksil Radikali
i.p.	İntraperitonel
KAT	Katalaz
KCl	Potasyum Klorür
KH ₂ PO ₄	Potasyum Fosfat
LDH	Laktat Dehidrojenaz
LOO•	Lipid Peroksi Radikali
LOOH	Lipid Hidroperoksidi
MDA	Malondialdehit
ml	Mililitre
Na ₂ CO ₃	Sodyum Karbonat
Na ₂ HPO ₄	Sodyum Dihidrojenfosfat
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
O.D	Optik Dansiteler
O ₂ •	Süperoksit Radikalleri
SOD	Superokid Dismutase
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TİCAM	Tıbbi Ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endüstriyel bileşikler, pestisitler ve ilaçlar gibi insan yapımı kimyasallar ile doğal toksinlere maruz kalınarak ya da bu maddelerin detoksifikasyonu sonucunda karaciğerde hasarlar oluşur (97). Detoksifikasyon reaksiyonlarında enzimler zararlı maddelerin etkilerini ortadan kaldırırken, diğer maddelerin toksisitesini arttırabilir ya da biyoaktivasyonunu sağlar. Bu biyoaktivasyon sonucunda oluşan reaktif oksijen ve hidroksijen gibi serbest radikallerin lipid peroksidasyonu veya diğer yollarla hepatosit hücre membranlarında hasara sebep olurlar. Oluşan bu serbest radikallerin hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamlarda proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve DNA yapısında da hasar oluşturdukları belirtilmiştir (52, 97).

Karbon tetraklorid (CCl_4) karaciğer toksisitesi oluşturmada en iyi tanımlanmış hepatotoksindir. Özellikle sıçanlarda karbon tetrakloridin (CCl_4) indüklediği hepatotoksinite, serbest radikal aracılı karaciğer hasarı çalışmaları için klasik bir model olup (36) hayvanlarda insan karaciğer hastalığına yakın bir hasara neden olur. Karbon tetraklorid (CCl_4), akut etkisini hepatosit endoplazmik retikulumunda morfolojik değişikliklerle oluşturmaktadır (25, 52, 73). CCl_4 'ün karaciğer üzerindeki toksik etkisi, serbest radikallerle oluşan biyotransformasyon ve lipid peroksidasyonu ile açıklanabilir (25, 52, 73). Serbest oksijen radikalleri oluştuğunda hücre membran lipidlerinin doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek hücre membranında hasar oluşturarak toksisiteye sebep olmaktadır. Mitokondriyal fonksiyonlar bozulmaktadır. Lipid peroksidasyonu tarafından oluşan parçalanma ürünleri çeşitli enzimlerin sülfidril grupları ve diğer proteinler tarafından elimine edilir. Lipid peroksidasyonu aynı zamanda lizozom membranının parçalanmasına ve desktrüktif enzimlerin sitoplazma içerisine boşalmasına neden olmaktadır. CCl_4 hidropik dejenerasyona ve hepatosellüler nekroza da neden olmaktadır (52, 73). Hasar mekanizmasında ilk olarak CCl_4 , hepatik granülsüz endoplazmik retikulumda sitokrom P-450 tarafından triklorometil ($CCl_3\cdot$)'e; daha sonra triklorometil ($CCl_3\cdot$) oksijen varlığında hızla triklorometil perokside ($CCl_3O_2\cdot$) veya hidrojen atomlarını kaybetmiş olan kloroform formuna dönüşür (73, 76,

100). Oluşan bu serbest radikaller lipidlere, proteinlere ya da nükleotidlere kovalent olarak bağlanırlar. Hücre zarında lipid peroksidasyonu başlatarak hepatotoksiteye yol açar (25, 76). Ayrıca CCl₄ uygulanması, karaciğerdeki histolojik değişikliklere sebep olur. Bu değişimler balonlaşma dejenerasyonunu, komşu hepatosit yağ başkalaşımını, hücre nekrozunu, hücre iltihabını, santral ven çevresinde lenfosit ve kupffer hücre infiltrasyonunu içermektedir (73).

Organizmadaki serbest oksijen radikallerinin miktarları oldukça hassas bir dengededir (22, 45). Organizmada normal değerlerinin üstüne çıktıklarında potansiyel tehlike oluşturmaktadır. Serbest oksijen radikallerin birikimine paralel olarak doku-organ hasarının önlenmesi vücudun kendi oluşturduğu “**antioksidan sistemi**” adı verilen bir savunma mekanizmasıyla sağlanabilmektedir (22, 58). Vücuttaki serbest oksijen radikalleri ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması “**oksidatif stres**” olarak adlandırılmaktadır (8). Normal koşullarda bu dengenin sağlanmasında antioksidan moleküllerin serbest oksijen radikalleri ile bağlar kurarak, vücutta gerekli yapısal moleküllerin zarar görmesini engellediğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır (46, 59). Serbest radikallerin zararlı etkileri, bazı maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik olarak çalışırlar. Antioksidan savunmada öncelikle etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır. Bunlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-P_x) ve glutatyon redüktaz gibi enzimlerdir (101). Bitki kökenli antioksidanlar ise (örneğin; fenolik asit, kateşin, flavonoidler vs.) redoks özellikleri sayesinde serbest oksijen radikallerinin yakalanmasında ve etkisiz hale getirilmesinde önemli rol oynar (69).

Cynara scolymus L. Asteraceae familyasına ait olup, yaygın olarak Akdeniz ülkelerinde yetişir ve C vitamini, hidroksisülinamik asitler ve flavonlar gibi doğal antioksidanlarca zengindir. *Cynara scolymus* L. ekstraktı uzun yıllardır karaciğer koruyucu, antimikrobiyal ve kolesterol düşürücü özelliklerinden dolayı halk arasında alternatif tedavi amacıyla kullanılmaktadır (26, 37, 55, 56, 71, 85). *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktlarının kültüre sıçan hepatositlerinde oksidatif strese karşı koruyucu

antioksidatif etki gösterdiği bildirilmiştir (72, 85, 96). Benzer şekilde CCl_4 ile indüklenmiş karaciğer hasarı öncesi ve sonrası *Cynara scolymus* L. ekstraktı kullanımı lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu üzerine olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (26, 55, 72, 85). *Cynara scolymus* L. ekstraktı hepG2 hücrelerinde kaspaz 3 bağımlı olarak apoptozu indüklemiştir (18). Kültüre sıçan hepatositleri ve insan hepatoma hücrelerinde yapılan bir çalışmada, *Cynara scolymus* L. ekstraktının H_2O_2 üretiminin azalması sonucunda lipid peroksidasyonunu engellediği, bu nedenle kanser önlenmesi ve tedavisinde kullanabileceği bildirilmiştir (56).

Bu çalışmada, halk arasında kullanılan *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının CCl_4 ile karaciğer toksisitesi oluşturulan sıçanlarda antioksidan sistem üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 KARACİĞER VE KARACİĞER HASARI

Karaciğer, ilaç ve toksinlerin biyotransformasyonunda önemli bir rol oynadığı için ilaçlarla oluşan hasarların ana hedefidir. **Hepatotoksisite** (hepatik toksisite), karaciğer hasarı için kullanılan genel bir terimdir (50, 94). Hepatotoksisite, doğal toksinler, endüstriyel bileşikler, pestisitler ve farmasötik ilaçlar gibi birçok insan yapımı kimyasallara maruz kalma sonucu oluşur. Karaciğer hasarına sebep olan bu tür kimyasallar, **hepatotoksin** olarak adlandırılır (36, 79, 97).

Aşırı dozda alınan tıbbi maddelerin yanı sıra, terapötik sınırdan alınan bazı ilaçlar karaciğerde toksisite oluşturabilir. Doğal kimyasallar, bitkisel kökenli maddeler, laboratuvar ve endüstride kullanılan kimyasal maddeler hepatotoksisiteyi tetikleyebilir (19, 21, 73, 101).

2.1.1. KARACİĞER

Karaciğer, vücudun en karmaşık ve en büyük organlarından biridir. Karın boşluğunun sağ yukarı kısmında diyaframın altına yerleşmiştir. Karaciğerin iki yüzü iki kenarı vardır (16, 24, 34). Üst yüzü diyafram, alt yüzü karın organları ile komşudur. Bu yüzden H şeklinde bir yarık görülür, bu yarıklar karaciğeri 4 loba ayırır. Bu loblar; sağ lob (lobus hepatis dexter), sol lob (lobus hepatis sinister), dörtgen lob (lobus quadratus) ve kuyruklu lob (lobus caudatus) olarak adlandırılmaktadır (87).

2.1.1.1 Karaciğer Yapısı

Karaciğer yapısında, hepatosit, endotel hücreleri, kupffer hücreleri, stellat hücreleri ve safra kanalı epitel hücreleri olmak üzere beş hücre türü bulunmaktadır. Karaciğer organı dokusunun % 80'i hepatosit hücre tipinden oluşur (38).

Hepatositler; hem iç hem de dış salgılama işlevine sahip hücrelerdir. Birçok maddenin sentezini yapar ve biriktirir. Birçoğunu da detoksifiye eder (73).

Kupffer hücreleri, karaciğerde yerleşik makrofajlar olup yabancı parçacıkları fagosite etme ve endotoksinleri detoksifiye etme yeteneklerinden dolayı savunma sisteminde önemli rol oynamaktadır (5, 7, 38).

Endotel hücreleri, karaciğerde en çok bulunan hücre yapılarından biridir. Bağırsaklardan gelen ve organizmaya zararlı olabilecek çeşitli kimyasal maddeler (ksenobiyotikler) ve mikroorganizmalar için karmaşık bir filtre görevi görürler (38, 73).

Stellat hücreler, yıldız görünümünde olup, sinüzoid duvarında bulunmaktadır. Oksidatif veya başka kaynaklı hasarlanmalarda, sürecin fibroz aşamasını bloke edebilmek için stellat hücreler tedavide hedef olarak seçilmektedir. Bu hücrelerin apoptoza uğratılmasıyla, fibroz doku oluşumunun yavaşlayabileceği, hatta ortadan kalkabileceği düşünülmektedir (20).

Safra kanalı epitelyum hücreleri, karaciğerde bulunan bir diğer hücre tipidir. Safra kanalları başlangıçlarını iki hepatosit arasındaki safra kanalcığından almakta ve gitgide birleşerek büyük safra kanallarını oluşturmaktadırlar. Ana safra kanalını teşkil ederek duodenumun ikinci kısmında sonlanmaktadır (38, 73).

2.1.1.2 Karaciğerin görevleri

Karaciğer, hem endokrin hem de ekzokrin görevlerinden dolayı vücudun çok yönlü bir organıdır. Protein sentezi, safra salgılanması, detoksifikasyon, A, D, E, K, B₁₂ vitaminlerinin ve demirin depolanması, A vitamininin üretimi, glikozun glikojen şeklinde depolanıp, insülin denetiminde kana verilmesi, kan pıhtılaşmasında görev alan proteinlerin üretilmesi ve lenf yapımında görev almak gibi önemli görevleri bulunmaktadır (2, 30, 39, 70, 80).

2.1.2 KARACİĞER HASARI TÜRLERİ

2.1.2.1 Karaciğer Hasar Türleri ve Karaciğer Hasarında Biyokimyasal Bulgular

Karaciğer hasarlarının türü toksik maddenin türüne, zehirlenme şiddetine ve bu maddeye maruz kalma (akut ya da kronik) tipine bağlıdır.

İçsel (intrensek) hepatotoksinler geniş insidans ve doza bağlı ilişki gösterirler. Genellikle, insanda ve hayvan modellerinde benzer toksisite görülür. Hapatotoksinlere dolaylı olarak maruz kalan kişilerde ise aşırı duyarlılık ya da beklenmeyen metabolik dönüşümlerle sonuçlanan sınırlı toksisite gözlenir. Bunun sebebi ilaçların metabolize edilmesini sağlayan genlerdeki polimorfizmdir (35, 87, 99).

Zarar gören karaciğer hücreleri alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP) gibi kana karaciğere özel enzimler salgılar. AST ve ALT enzimleri hepatosit hasarı biyomarkırları olarak kullanılırken, ALP safra kanalı epitelyum hasarının belirlenmesinde kullanılır. Bu enzimler genel olarak klinik olarak ve hayvan çalışmalarında hepatotoksisitenin saptanmasında takip edilmektedir. Karaciğer hasarı ALT seviyesinin normal seviyeden üç kat, ALP seviyesinin iki kat

daha fazla olması ya da ALP ve ALT seviyelerinin artışı ile ilişkili olarak toplam bilirubin seviyesinin normalden iki kat fazla olması ile tanımlanır (28, 52, 97).

2.1.2.2 Karaciğer Hasarında Histopatolojik Bulgular

İlaçlar ve diğer kimyasal maddelerle oluşan karaciğer hasarları morfolojik geniş bir etki alanını kapsar ve karaciğer hastalıklarının hemen hemen tüm histolojik örnekleri gözlenebilir. Bu durumlar steatoz, kolestaz hepatitler, granülomlar dejenerasyon, nekroz, fibrozis, siroz, vasküler bozukluklar ve neoplazidir.

Steatoz, yağ damlacıklarının hepatositler içerisinde birikmesi olayıdır. Steatoz, yağ damlacıklarının büyüklüğüne bağlı olarak mikroveziküler ve makroveziküler steatoz olmak üzere iki histolojik gruba ayrılır. (11, 97).

Kolestaz, herhangi bir nedenle ortaya çıkan safra akımındaki azalma sonrasında histopatolojik olarak karaciğerde hepatosit ve safra kanallarında safra pigmentinin artışı, klinik olarak ise kan ve değişik dokularda, normalde safra ile atılması gereken bilirubin, safra asitleri ve kolesterol gibi maddelerin birikmesi ile seyreden bir tablodur (47, 93, 100).

Akut veya kronik olaylarda, inflamatuvar hücrelerin karaciğere gelmesi ile oluşan hepatosit hasarı ile birlikte olan inflamasyon varlığına **hepatit** adı verilir. Hepatit, karaciğerde viral, toksik, metabolik, farmakolojik bir ajan ve ya immünolojik bir atak ile oluşan hasarın sonucu meydana gelir (13, 14). Hepatitin akut hepatit ve kronik hepatit olmak üzere iki ana türü bulunmaktadır (87).

Granülom, fibroblastlar, histiyositler, lenfositler ve başka bağ doku hücrelerinin oluşturduğu, çevresi sınırlı nodüller bağ doku oluşumlarıdır.

Kimyasal, ilaç etkileşimli ya da bağışıklık sistemindeki bozukluklar sonucunda karaciğer dokularında oluşan hasar **dejenerasyon** olarak isimlendirilmektedir.

Fibrozis, kollajen lifler bakımından zengin, hücre ve damarlardan yoksun bağ doku miktarının artması olarak tanımlanmaktadır (20, 90). Karaciğerde inflamasyona ya da toksik hasara cevap olarak fibrotik doku oluşur (23). Bu oluşum sonucunda kollajen birikimi hepatik kan akım düzenini ve hepatosit perfüzyonunu etkiler (12, 51).

Vasküler bozukluklar, vasküler endotel hücrelerinin hasar görmesi sonucu oluşur. Genellikle ilaca bağımlı durumda ortaya çıkar (74).

Canlı organizmada bir grup hücre veya lokal doku ölümü sonucu meydana gelen lezyona **nekroz** denir. Ölümü izleyen olaylar, hücre içi enzimlerinin kendi organellerini ve nükleusunu parçalayıp eritmesidir. Bu enzimatik aktivite etkisi ile dokuda nekroz denilen patolojik görünüm ortaya çıkar. Nekrozun sebepleri fiziksel (sıcak, soğuk, radyasyon, elektrik akımı v.s.), kimyasal (asitler, alkaliler, çeşitli ilaçlar v.s.), canlı hastalık etkenleri, damarsal nedenler (anoksi), organizmanın kendi sekresyonları (midede hidroklorik asit, pankreasta lipaz) ve immün mekanizmada bozukluk olabilir. Hepatosit nekrozu karaciğerde hasara yol açan bir olay tarafından oluşturulabilir (78, 97).

Patolojik anlamda yeni doku oluşumu anlamına gelen **neoplazm** herhangi bir sınırlanma veya sonlanma göstermeyen konak canlıının kontrol mekanizmalarının etkisinde kalmayan, hızlı, sınırsız ve anormal bir hücre çoğalması ile karakterizedir. Karaciğerde neoplazmın bazı ilaçlar veya toksinlere uzun süre maruz kalınması sonucunda oluştuğu belirtilmektedir.

Siroz, karaciğerde kronik olarak hasar yapan Hepatit B ve C gibi viral hastalıklar, hemokromatoziz, otoimmün hepatit, gibi birçok hastalığın son evresidir. Hastalık sebebi ile olduğu gibi toksik maddeler ve enfeksiyon da siroza sebep olabilir.

Normal karaciğer dokusunun yerini yara tamirinde kullanılan bağ dokusu kaplar. Karaciğer hücreleri ölürken onların yerini de bağ dokusu alır (16, 19). Başlangıçta karaciğer normal faaliyetini sürdüremeyen hücrelerin yerini doldurmak için büyür. Zamanla daha fazla bağ dokusu oluşur ve karaciğer küçülür. Bu durumda kanın organa gelmesi zorlaşır. Kan akışı tersine dönüp, karaciğere uğramadan genel dolaşıma geçer ve önemli besinlerini alıp götürür. Kanın akışındaki bu değişiklik dalağın büyümesine neden olur (23, 54, 60).

2.1.3 KARBON TETRAKLORİD (CCl₄) TOKSİSİTESİ

Karbon tetraklorid hem biyokimyasal hem de patolojik olarak tüm dünyada en fazla üzerinde çalışılmış bir hepatotoksik maddedir (61). Özellikle sıçanlarda karbon tetraklorid (CCl₄) indüklü hepatopati serbest radikal aracılı karaciğer hasarı çalışmaları için klasik bir model olup (36) insana yakın karaciğer hastalığı üretir (20, 57).

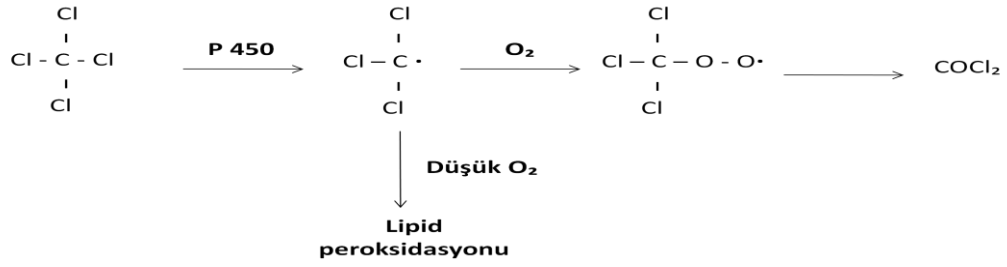
Karbon tetraklorid (CCl₄) kimyasal olarak üretilen bir madde olup, kararlı bir yapıya sahiptir. Biyolojik olarak aktif değildir. Aktivasyonları için reaktif toksik metabolitlere çevrilmeleri gerekir. Bu özelliklerinden dolayı karaciğerde sitokrom P-450 sistemi CCl₄' ü reaktif serbest radikale dönüştürür (42, 75, 96). Oluşan bu metabolitler mikrozomlarda karaciğer bileşenleri ile reaksiyona girerek, karaciğer hasarına sebep olur. Bu hasar sentobüler nekroza kadar gelişebilir (10, 43, 63).

2.1.4 KARBON TETRAKLORİD (CCl₄) TOKSİSİTESİNİN SERBEST RADİKALLER İLE İLİŞKİSİ

CCl₄ karaciğerde etkisini iki aşamalı olarak oluşturur (7). İlk olarak sitokrom P-450 tarafından reaktif serbest radikal olan triklorometil (CCl₃•)' e dönüştürülmesi sonucu CCl₄' ün toksik etkisi hücre zarı hasarı ile ilişkili olan lipid peroksidasyonuna sebep olur (64). Bu hasar su ve sodyum geçirgenliğini artırır. Apolipoprotein sentezini azaltır ve karaciğer yağlanması oluşur (15, 82).

Hasar mekanizmasında ilk olarak CCl_4 , sitokrom P-450 tarafından triklorometil' e ($\text{CCl}_3\cdot$); daha sonra triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$) oksijen varlığında hızla triklorometil perokside ($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$) veya hidrojen atomlarını kaybetmiş olan kloroform formuna dönüşür. Oluşan bu serbest radikaller lipidlere, proteinlere ya da nükleotidlere kovalent olarak bağlanır (3, 40, 89). Daha sonra sekonder olarak oluşan konjuge dien, lipid hidroperoksit ve malondialdehit gibi yapılar ile kısa zincirli karbonhidratlar oluşur. Toksik etki sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, hücre membranlarındaki fosfolipidlerde bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak karaciğer hücre nekrozuna yol açarlar. Triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$) radikalinin oksijenle reaksiyonu sonucu meydana gelen $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ radikali de kuvvetli bir lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır. Bu olayları takiben serbest radikal üretimi karaciğerde antioksidan savunmaları aşar; bu da hücre membranlarının oksidatif yıkımı ve ciddi doku hasarı ile sonuçlanır (9, 63, 52).

CCl_4 ile oluşan hepatotoksisite kısmi olarak dokulardaki oksijen basıncı ile de ilişkilidir. Düşük oksijen basıncında CCl_4 metabolizmasının ilk basamağında C- Cl bağı sitokrom p 450 monooksijenaz sistemi ile katalizlenir. Triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$) ve Cl radikalleri oluşur. Triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$), hidroksil radikallerde olduğu gibi lipid peroksidasyonunu başlatır. Lokal olarak meydana gelen serbest radikaller membran fosfolipidlerin içinde var olan polienik yağ asitlerinin otooksidasyonuna neden olur. Lipidlerin oksidatif yıkımı başlar ve oksijen ile reaksiyondan sonra organik peroksitler meydana gelir. Peroksit radikallerden yeni radikaller meydana geldiği için bu reaksiyon otokatalitiktir. Lipidlerin yapısının bozulması nedeniyle endoplazmik retikulumun yapı ve fonksiyonunda hızlı bir yıkım başlar (52, 65, 97).



Şekil 2.1. Karbon tetraklorid metabolizması ve reaktif metabolitlerin oluşumu (Wallace, A.D. , Meyer, S. A., 2010, Hepatotoxicity kitabından modifiye edilmiştir(97))

Lipid peroksidasyonu, lipid peroksitlerin oluşumunu başlatan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile bir dizi olaylar zincirini başlatır. Oluşan lipid hidroperoksitler, özellikle distal dokularda toksisiteye sebep olan aldehitler olmak üzere birçok son ürüne dönüştürülür. Bu nedenden dolayı hücrel hasar yalnızca endoplazmik retikulum, mitokondri ve lizozom gibi organellerin intrasellüler membran yıkımı ve plazma membranında hasar ile değil, aynı zamanda oluşan reaktif aldehitlerin diğer dokulara taşınması ile de oluşur. Parçalanma ürünleri, hücrede birikerek hasarın daha da ağırlaşmasına sebep olurlar (1, 61, 95, 102). Lipid peroksidasyon, lipoprotein sentezi için gerekli olan yapıları da hasara uğratarak hepatik lipidozise yardımcı olur. Karaciğerde aşırı lipid birikimi sonucu, organda fonksiyon bozukluğu ve siroza doğru ilerleyen değişimler ortaya çıkar.

İkinci aşamada, Kupffer hücreleri, karaciğer yıldızsı hücresi ve sinüzoidal endotel hücreleri dahil olmak üzere bazı karaciğer hücreleri, karaciğer fibrogenezine sebep olan sitokinlerin salgılanmasını aktive ederler. Bu inflamatuvar tepkiyi sağlar ve karaciğer hasarı oluşur (15, 67, 81, 92). Aktive olmuş kupffer hücrelerinden salınan toksik moleküller de hasar oluşumuna sebep olurlar. CCl₄ ile parankimal hücrelerde oluşan hasar, Kupffer hücrelerinin aktivasyonunu başlatır (7, 77) Kupffer hücrelerinin zararlı sitokinleri aracılığı ile inflamatuvar tepki başlar ve karaciğer hasarı oluşur (17, 100, 105).

CCl₄ aynı zamanda DNA hasarına da sebep olur. CCl₄ ilk önce reaktif ara ürünlere metabolize edilir. Daha sonra bu ürünler DNA' ya kovalent olarak bağlanırlar.

Reaktif oksijen türleri oluşur. Oluşan bu serbest oksijen radikallerinin ortamda toplanması, oksidatif stresi başlatır. Reaktif oksijen türleri DNA ile etkileşime girer ve doğrudan DNA zincirlerinin kırılmasına sebep olur. DNA' nın oksidatif hasarı, birçok insan hastalığının oluşumunda önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (44, 49).

CCl_4 , apoptoz veya nekroz ile sonuçlanan kaspazların aktivasyonunu içeren yollarda, sinyalizasyonu aktive eden mitokondriyal strese neden olur. Bu hücrelerde mitokondri, oksidatif fosforilasyon ile ATP sağlamanın yanı sıra, hücre içi Ca^{+2} dengesi, pH kontrolü, apoptotik ve sitotoksik hücre ölümü gibi diğer birçok hücrel mekanizmada rol almaktadır (73, 101).

CCl_4 ile oluşan karaciğer hasarının gelişim basamakları redüktif dehalojenasyon, radikallerin kovalent bağlanması, protein sentezinin inhibisyonu, yağ birikimi, kalsiyum sekresyonunda kayıp, apoptoz, fibrozistir (97, 99).

CCl_4 uygulaması sonrası olaylar dizisi birçok araştırmacı tarafından tanımlanmıştır. CCl_4 uygulanması sonrasında, karaciğerdeki histolojik değişiklikler balonlaşma dejenerasyonunu, komşu hepatosit yağ başkalaşımını, hücre nekrozunu, hücre iltihabını, santral ven çevresinde lenfosit ve kupffer hücre infiltrasyonunu içerir (62).

Karbon tetraklorid ile muamele edilen sıçanlarda ALT, AST, ALP seviyesi yükselir (4). Karaciğer hücre zarı hasar gördüğünden dolayı, normalde sitoplazmada bulunan enzimler kana geçer (31, 52). Bu enzimler karaciğer hücre hasarının türü ve boyutunun belirlenmesinde faydalı bir nicel belirteç olup, serum marker enzimleri olarak nitelendirilirler (18, 21, 85).

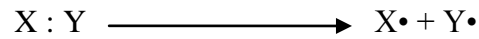
2.2 SERBEST RADİKALLER, ANTİOKSİDANLAR VE OKSİDATİF STRES

2.2.1 SERBEST RADİKALLER

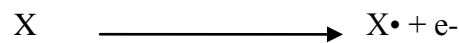
Atom çekirdeğinin etrafında bulunan elektronlar 'orbital' denilen yörüngelerde hareket halindedir. Kararlı durumlarda ilk orbitalde iki, diğerlerinde sekiz elektron bulunur. Bir veya daha fazla orbitalinde eşlenmemiş elektron bulunan atom veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanır. Serbest radikaller kimyasal olarak kararsız yapılardır (46, 76). Dış orbitaldeki eşleşmemiş elektronun eşleşmesini sağlamak ve daha kararlı hale gelmesi için, herhangi bir molekül veya atom ile etkileşime girerek, o yapıdan bir elektron alma veya bir elektron verme eğilimindedirler. Bu nedenden dolayı, diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde aktif bir yapı gösterirler (25, 32).

Serbest radikaller 3 yolla oluşabilir (22, 32). Bunlar;

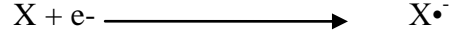
1. Normal bir molekülün kovalent bağının, molekülün her bir parçasında eşleşmiş elektronlardan bir tanesi kalacak şekilde homolitik bölünmesi ile;



2. Normal bir molekülden tek bir elektron kaybı ile veya bir molekülün kovalent bağındaki iki elektronun bir atomda kalacak şekilde heterolitik bölünmesi ile;



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile;



Serbest radikal oluşumunda moleküle bir elektron eklenmesi biyolojik ortamlarda en sık görülen serbest radikal oluşum şeklidir (32).

2.2.1.1 Serbest Oksijen Radikalleri

Biyolojik ortamlardaki en önemli serbest radikaller, oksijenin radikal türleridir (Reaktif oksijen türleri; ROT). Reaktif oksijen türleri sadece serbest oksijen radikallerini içermeyip, oksijen radikali oluşumunda yer alan, radikal olmayan oksijen türlerini de içerir (8, 32, 76). Radikal olan ve olmayan oksijen türevleri bileşiklerine örnekler tabloda verilmiştir.

Tablo 2.1.Radikal Olan ve Olmayan Oksijen Türevleri

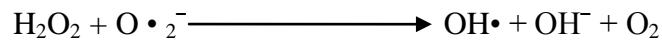
Radikal Oksijen Türleri		Radikal Olmayan Oksijen Türleri	
Hidroksil	HO•	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Alkoksil	RO•	Singlet oksijen	O ₂
Peroksil	ROO•	Ozon	O ₃
Süperoksit	O ₂ ⁻	Hipoklorid asit	HOCl
Nitrik oksit	NO•	Lipid hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	NO ₂ •	Peroksinitrit	ONOO ⁻

Hidroksil (HO•) , süperoksit (O₂⁻) gibi reaktif oksijen türleri ve hidrojen peroksit (H₂O₂) baz değişikliği (modifikasyonları), zincir kırığı ve DNA-protein çapraz bağ kırıkları gibi her türlü DNA hasarına neden olmaktadır. Reaktif oksijen ve azot türleri direk ya da dolaylı olarak hücrel makromoleküllerde geçici ya da kalıcı hasara yol açmaktadır. Böylece, oksidatif stres hasarları oluşur. Nükleik asit, protein ve lipid gibi

hücrel makromoleküller üzerinde oksidatif hasarı kanser dahil birçok hastalığın oluşumunda sorumlu tutulmuştur (3, 8, 65). Ayrıca, reaktif oksijen türlerinin fibrozis oluşumunda ve ilerlemesinde etkisi bulunmaktadır (20, 29, 32, 41).

Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya non-enzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu meydana gelir. Yapısında paylaşılmamış elektron içermez. Bu nedenden dolayı radikal özellik taşımaz ve reaktif bir tür değildir. Demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranması hidrojen peroksitin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin sebebidir (8, 32, 41).

Süperoksit radikalleri ($O_2^{\bullet-}$), hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının oksidasyonu ile oluşur. Süperoksit oluşumu, elektron taşıyıcısının redoks durumuna ve ortamdaki oksijen konsantrasyonuna bağlıdır. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalinin tek başına önemli hücre hasarlarına yol açması olanaksızdır. Süperoksit radikalleri yalnızca oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (32). Bu reaksiyonların en önemlisi Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O_2 ve H_2O_2 demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan OH^{\bullet} radikalini oluşturmaktadır.



Bu reaksiyon sonucu oluşan OH^{\bullet} radikalleri reaktif olup, hücrede önemli hasarlara sebep olurlar. Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve O_2 oluştururlar.

Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde $O_2^{\bullet-}$ oluşur. En önemli kaynağı, fagositik hücrelerin yabancı partiküller ve ya immün komplekslerle etkileştiklerinde, fagositik hücrelerin solunum ile parçalanması sonucu oluşur. Nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eosinofiller süperoksit radikali oluşturan fagositik hücrelerdir (29, 32).

Singlet O₂, yapısında eşleşmemiş elektronu bulundurmazlar. Fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlatabilme özelliğine sahiptir. Bu sebepten dolayı serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Singlet O₂, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabilir ya da süperoksit radikalinin dismutasyonu ve hidrojen peroksidin Hipoklorid ile reaksiyonu sonunda da oluşabilir (29, 32).

Singlet oksijen, *in vivo* ve *in vitro* olarak; bitkilerde ışığa maruz kalmış kloroplastlarda, memelilerde ise göz retinası ve lenslerinde oluşur (32).

Hidroksil radikali (OH•), en aktif ve en toksik oksijen radikali olup, üretildiği her yerde birçok molekül ile reaksiyon verir. OH• radikali suda olmak üzere ortamda rastladığı her molekül ile reaksiyona girebilir. Bütün bu tepkimeler, OH'ın paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır. Hidroksil radikalının sebep olduğu bilinen en önemli hasar, lipid peroksidasyonudur. Hücre zarı su içermediğinden OH'ın başlıca hedefi yağ asitleridir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırarak hücre ölümüne sebep olabilir (29, 32).

2.2.1.2 Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest oksijen radikalleri normal metabolizmanın ürünü olarak oluşabildikleri gibi; organizmanın, iyonize radyasyona, oksitleyici ajanlara ve yabancı maddelere maruz kaldığı durumlarda da ortaya çıkabilir (27). Bu sebepten dolayı serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen serbest radikal kaynakları olmak üzere iki ana başlık altında incelenir (Tablo 2.2) (32, 71).

Tablo 2.2. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest Radikal Kaynakları	
Eksojen Serbest Radikal Kaynakları	Endojen Serbest Radikal Kaynakları
Aktive Olmuş Fagositler	Küçük Moleküllerin Oksidasyonu
Anti Neoplastik Ajanlar	Enzimler ve Proteinler
Radyasyon	Mitokondriyal Elektron Transportu
Alışkanlık Yapan Maddeler	Endoplazmik Retikulum Elektron Transportu
Çevresel Ajanlar	Nükleer Membran Elektron Transportu
Stres	Peroksizomlar
	Plazma Membranı

2.2.1.3 Serbest Radikallerin Biyokimyasal Etkileri

Serbest radikallerin en önemli hedefleri lipidler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Serbest radikallerin genellikle karşılaştıkları ilk yapı hücre veya zarların lipid bileşenleridir (76). Ayrıca in vivo ve in vitro yapılan çalışmalarda serbest radikallerin proteinlere, karbonhidratlara, lipidlere ve DNA ya zarar verdiği belirtilmiştir (27, 33, 71).

2.2.1.3.1 Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri: Lipid Peroksidasyonu

Hücre zarları çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengindir. Çoklu doymamış yağ asitleri, oksitleyici radikaller için kolay hedefirler. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve zincirleme olarak kendiliğinden süren bir reaksiyondur (32, 45).

Bir proton ve bir elektrona sahip olan hidrojen atomu radikal özellik gösterir. Biyolojik bir molekülden bir hidrojen atomu ayrıldığında geride kalan molekülde eşleşmemiş bir elektron bırakır. Hidroksi radikali gibi etkili olan radikaller, bir hidrojen kopararak biyolojik molekül ile etkileşime girerler. Bu lipid peroksidasyonunu başlatan bir reaksiyondur. Bu reaksiyonlar dört basamakta oluşur (8, 29, 58). Bunlar:

1. Başlama basamağı: HO• radikali, bir yağ asidinin(LH) metilen kısmından bir hidrojen atomu (H) kopararak lipid radikali oluşturur.

2. İlerleme basamağı: Zincir reaksiyonu, oluşan lipid radikaline O₂ ilavesi ile devam eder ve lipid peroksi radikali (LOO•) ile lipid hidroperoksidi (LOOH) oluşur.

3. Yıkım basamağı: Tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipid parçalanması ile sonuçlanır. Bu oluşan ürünlerden birisi, malondialdehittir (MDA). Kan ve idrarda saptanabilir.

4. Sonlanma basamağı: Zincir reaksiyonu, antioksidanlar tarafından ayrıca radikallerin birbiri ile tepkime vermesiyle sonlandırılabilir.

Lipid peroksidasyonunun, zar lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile zar işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına sebep olduğu düşünülmektedir (1, 9, 58).

MDA

Test malzemelerinin etkisini değerlendirmek amacıyla lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonu ürünlerinden birisi olan malondialdehit (MDA) konsantrasyonu tiyobarbitürik asit (TBA) metodu kullanarak plazma ve karaciğer homojenatında

belirlenmektedir. Yöntem TBA ile MDA ve diğer peroksidede lipid yıkım ürünleri reaksiyonu ile oluşan kırmızı kromoforun 532 nm’de absorpsiyonunun ölçülmesi esasına dayanmaktadır (6, 8).

2.2.1.3.2 Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler, serbest radikallerden, çoklu doymamış yağ asitlerine göre daha az etkilenirler. Radikaller çok yoğun olmadığı takdirde proteinlere çok hasar verici değildir. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asit bileşimlerine bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren moleküllerin serbest radikallere ilgisi yüksek olduğundan, triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu amino asitlerin oksidasyonu proteinlerin parçalanmasına, çapraz bağ oluşumuna, proteinlerin proteolitik parçalanmaya yatkın hale gelmesine sebep olmaktadır (8, 76).

2.2.1.3.3 Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Fizyolojik pH ve ısıda, glikoz gibi monosakkaritlerin oto-oksidasyonu ile H₂O₂, peroksitler ve okzalaldehitler oluşabilir. Bunlar, diyabet ve sigara kullanımı ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde de önemli rol oynarlar.

Okzalaldehidler; DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliklerinden dolayı proteinlerin serbest radikal saldırısına duyarlılığını artırır ve antimitotik etki gösterirler. Kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar.

Poliansatüre yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glyoksal’ın hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir.

2.2.1.3.4 Serbest Radikallerin DNA' ya Etkileri

Sağlığa zararlı oksijen metabolitlerinden doğrudan nükleik asitler de etkilenerak baz hidroksilasyonu, DNA iplikçiklerinin çapraz bağlanması veya kırılmasına yol açabilir. Bu da hücre ölümü veya mutasyonla sonuçlanır. Sitotoksisite, büyük oranda nükleik asit baz değişimlerinden ileri gelen kromozom değişikliklerine veya DNA' nın yapısındaki diğer bozukluklara bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar (8).

Hasar, doğrudan veya dolaylı olabilir. Doğrudan hasar, H₂O₂' den oluşan hidroksil radikalinin DNA' ya çok yakın bir yerde oluşması ve onu kırması şeklinindedir. Dolaylı olarak ise hücre içi sıvıda serbest Ca⁺², nin artışı proteazları aktive edebilir. Bunun sonucunda hücre iskeleti bozulur. Nkleazların aktivasyonu sonucu DNA kırılması gerçekleşir. Serbest radikaller ve özellikle malondialdehit, hücre çekirdeğinde başlıca DNA ile tepkimeye girmektedir. Nükleik asit yapısındaki baz değişimleri veya DNA zincir kopması sonucu kromozomal yapıda değişiklikler oluşturarak sitotoksitesiye neden olmaktadır. Bugüne kadar oksidatif olarak değişmiş yaklaşık 20 tip DNA saptanmıştır. Sonuçta mutajenik ve kanserojenik etkiler gözlenmektedir (22, 32).

Lipid peroksidasyonu ve kükürt içeren proteinlerin oksidasyonu sonucu zar geçirgenliğinin artması ile zar enzimlerinin aktivitesi azalmakta ve hücreye Ca⁺² girişi artmaktadır. Hücre içi serbest Ca⁺² artışına bağlı olarak artan fosfolipaz aktivitesi fosfolipid kaybının artmasına, zar geçirgenliğinde değişiklik ve potansiyel farkındaki azalmaya bağlı olarak sağlığa zararlı etkide artışa, proteaz aktivasyonu ile proteolitik etkilerin artmasına, katabolik enzimlerin aktivitesinde artışa ve endonükleaz aktivitesi ile DNA yıkımlarına yol açmaktadır (8, 22).

2.2.2 ANTIOKSİDAN SİSTEM

2.2.2.1 Antioksidan Sistem Tanımı ve Etki Tipleri

Organizmada sürekli biçimde serbest radikal niteliğinde bileşikler oluşmaktadır. Ancak bu radikallerin organizmaya zarar vermesi güçlü bir savunma sisteminin varlığı nedeniyle engellenmektedir. Bu nedenle serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızının dengede tutulması son derece önemlidir. Bu denge bozulduğu zaman, serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkmakta ve çeşitli organ ve sistemler olumsuz etkilenmektedir (29, 59, 103).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için organizmada birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” ya da kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. *In vivo* ve *in vitro* deneyler antioksidanların serbest radikallere karşı koruyucu rol oynadığını göstermektedir (9, 24, 54).

Antioksidan etki tipleri dört başlık altında toplanabilir (104).

1. Toplayıcı etki (scavenging)
2. Baskılayıcı etki (guencher)
3. Zincir kırıcı etki (chain breaking)
4. Onarıcı etki (repairing)

Radikallerin aşırı reaktif yapılarına bağlı olarak, hücresel bileşenlerdeki karbonhidrat, protein ve lipidlerin oksidasyonu ile sonuçlanacak zararın önlenmesi antioksidanların görevidir (68, 83). Serbest oksijen radikallerini etkileyerek, onları

tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki”; serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale dönüştürme işlemine “baskılayıcı etki”; serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran etkiye “zincir kırıcı etki” ve tamir fonksiyonuna da “onarıcı etki” denir (55, 91).

2.2.2.2 Antioksidan Etki Mekanizması

Antioksidanlar etkilerini, şimdiye kadar tespit edilebilen altı değişik mekanizma ile gösterirler. Bu mekanizmalar, birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler (55, 86). Bu mekanizmalar:

1. Antioksidan maddeler, oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak dokudaki oksijen konsantrasyonunu azaltabilir.
2. Hidroksil (OH•) radikali yapısında yer alan hidrojen atomu ve bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri ortadan temizleyerek, peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.
3. Hücre zarı lipidlerini direk etkileyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni baskılayabilir ya da temizleyebilirler.
4. Metal iyonları ile reaksiyona girip, reaktif grupların lipid peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler.
5. Peroksitler ile reaksiyona girerek, radikal olmayan ürünlere dönüştürebilirler. Örneğin; GPx, peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
6. Zincir reaksiyon oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilir ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilir ve böylece zincir reaksiyonları kırabilirler

2.2.2.3 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidan sistem; enzimleri, suda ve yağda çözünen radikal tutucularını ve metal iyonlarını bağlayan proteinleri kapsamaktadır. Antioksidanlar genel olarak, endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana grupta toplanır (29, 55, 65). Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar primer savunma sistemleri, lipolitik enzimler, proteolitik enzimler ve DNA tamir edici enzimler ise sekonder savunma sistemleri olarak adlandırılır (103).

2.2.2.3.1 Endojen Antioksidanlar

Hücrede oksijenin metabolize edildiği bölümlerde serbest oksijen radikalleri azaltmak için hızlı ve spesifik olarak çalışırlar (1, 65). Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılırlar (**Tablo2.3**).

2.2.2.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi redoks döngüsünde yer alan enzimler enzimatik antioksidanları oluştururlar. Hücre içindeki primer korunma sistemini meydana getirirler (29, 33). Enzimatik antioksidanlar serbest radikal zincir tepkimesinin başlaması için gerekli olan serbest radikal miktarını azaltılmasını sağladıkları için primer antioksidanlar olarak da tanımlanırlar. Genel olarak enzimatik savunma sistemleri suda çözünerek, sitoplazmadaki zararlı oksijen türevlerini ortadan kaldırırlar.

Tablo 2.3. Endojen Antioksidanlar

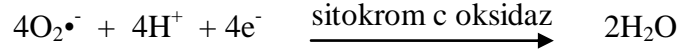
Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar	
	Lipid Faz	Sıvı Faz
Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi	α -tokoferol	Askorbik Asit
Süperoksit Dismutaz (SOD)	β-karoten	Melatonin
Katalaz (CAT)		Ürat
Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)		Sistein
Fosfolipid Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz (PLGSH-Px)		Seruloplazmin
Glutasyon S-transferaz (GST)		Trasferrin
Glutasyon redüktaz		Miyogloblin
NADH peroksidaz		Hemoglobin
		Metionin
		Ferritin
		Albümin
		Bilirübin
		Glutasyon

2.2.2.3.1.1.1 Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz Sistemi

Oksidazlar hidrojen alıcısı olarak oksijeni kullanarak bir substrattan hidrojenin ayrılmasını kataliz eder. Reaksiyon ürünü olarak su veya hidrojen peroksit oluşturur. Moleküler oksijen elektron alıcısı olup, oksijen atomları okside ürün yapısında yer almaz.

Sitokrom oksidaz, bakır içeren oksidaz olarak tanımlanır. Birçok dokuda yaygın olarak bulunan bir hemoprotein prostetik grup olan Hem' leri (hem a ve hem a₃) ve 2CuA/CuB içerir. Mitokondri iç membranında yer alan elektron transport zincirinin

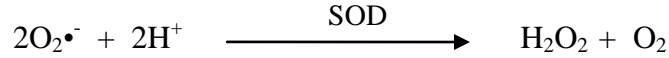
(solunum zinciri) son üyesidir. Substrat moleküllerinin dehidrogenazlarla oksidasyonu sonucunda ortaya çıkan elektronları, son alıcıları olan oksijene aktarılması reaksiyonunu kataliz eder (97).



Enzim CO, CN⁻ ve H₂S tarafından inhibe edilir.

2.2.2.3.1.1.2 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler.



Süperoksit radikalinin ortamdan temizlendiği tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu tepkime SOD enzimi tarafından iki süperoksit radikali kendi aralarında etkileşerek H₂O₂ ve O₂ oluşur. Bu lipid peroksidasyonunu engeller (29, 65). Hücre içerisindeki bölümlerde süperoksit düzeylerini kontrol etmede rol oynar. Mitokondrilerde bulunan sitokrom sistemi, hücre içi sitoplazmik yapıları oksidanların zararlı etkilerinden korur. Fakat bu sistemin yetersiz kaldığı ve oksidatif stresin arttığı durumlarda, SOD ve diğer doğal enzimler devreye girip, organizmada aktivitelerini artırarak koruyucu etkinliklerini sürdürürler (29).

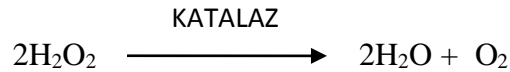
SOD' un iki tipi bulunmaktadır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn bulunduran izomer Cu, Zn-SOD ile mitokondride bulunan tetramerik Mn bulunduran izomer Mn-SOD' dur. Cu, Zn-SOD ile Mn-SOD' un etki mekanizması aynıdır. İki enzim arasındaki temel fark, pH' ın aktiviteleri üzerine etkisidir. Her ikisi de pH 7' de aktiftir. Fakat Cu, Zn-SOD' un aktivitesi pH 5,5-10 aralığında değişiklik göstermezken,

Mn-SOD pH 7' nin üzerine çıktığında aktivitesini kaybeder. Her iki SOD' un katalizlediği reaksiyon aynıdır.

SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Ayrıca doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmaktadır. Bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde de rol oynar.

2.2.2.3.1.1.3 Katalaz (KAT)

Yüksek dönüşüm hızlarından birine sahip olan katalaz, hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Peroksizomlarda lokalize olmuştur ve hücre dışında bulunmaz. Kan, kemik iliği, böbrek ve karaciğer hücrelerinde bulunur. Katalaz enzimi, lipid hidroperoksitlere değil hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki ederek oksidazların etkisi ile oluşan toksik H₂O₂'nin direk olarak suya çevrilmesini sağlar.



Böylece ikinci derecede sentezlenen toksik hidroksil radikallerinin temizlenmesini sağlayarak, H₂O₂' nin vücutta birikimini engelleyerek makromolekülleri H₂O₂' nun yıkıcı etkisinden korur (29, 64). Düşük H₂O₂ konsantrasyonlarında diğer peroksidaz enzimleri görev alır. Ayrıca kanser, diyabet, retinopati, arteroskleroz, iskemik-reperfüzyon hasarı, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanma gibi birçok çok patolojik olayda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada katalaz antioksidan sistemin öncelikli enzimidir (21).

2.2.2.3.1.1.3 Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz, tetramerik ve 4 selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzim olup, hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Birbirine kenetli enzim sistemi GSH-Px ve GSH-Rd glutatyon harcayarak H_2O_2 ' nin redüksiyonunu katalizler (21).

2.2.2.3.1.2. Enzimatik Olmayan antioksidanlar

Hücrelerde birçok enzimatik olmayan antioksidanlar bulunmaktadır. Bu sistem enzimatik antioksidan sistemlerinin aktivitesini tamamlayıcı şekilde görev yaparlar. Böylece ortamda aşırı oluşan reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi ve enzimlerin *in vivo* ortamda modülasyonunu sağlayarak oluşan hücreleri oksidatif stresten korurlar (3). Bu antioksidanlar kendi aralarında lipid fazda bulunan ve sıvı fazda bulunan antioksidanlar olarak iki kısımda incelenir.

Lipid faz antioksidanlarından olan α -tokoferol, dokudaki major E vitamini formu olup, E vitamininin % 80 - % 90' ını oluşturmaktadır. Yağda çözünen ve zincir kırıcı bir antioksidandır (29, 53). α -tokoferol, hücre tarafından kullanılan zara bağımlı olan en önemli antioksidanlardan birisidir. En önemli görevi oksijen serbest radikallerinin ataklarına karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır (33). Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Bir diğer lipid faz antioksidanı olan β -karoten, A vitamininin öncü maddesi olup, triplet molekülleri ve singlet oksijeni süpürerek, serbest radikalleri inhibe ederek hücreyi oksidatif stresten korur.

Sıvı faz antioksidanlarından askorbik asit, suda çözünen en güçlü antioksidan molekül olup, lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipidleri oksidasyona karşı korur (29, 64). Melatonin sıvı faz antioksidanlarından olup, $OH\cdot$ radikalini ortadan kaldıran lipofilik yapıya sahip olan çok güçlü bir antioksidandır.

Bu nedenden dolayı kan beyin bariyerini kolayca geçerek antioksidan aktivite gösterir. Melatonin yüksek dozlarda ve uzun süre kullanımda toksik etkisi bulunmamaktadır. Prooksidan aktiviteye sahip değildir (29). Melatonin fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezini azaltabilir. Buna ek olarak, melatonin dolaylı glutatyon peroksidaz (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon (GSH) gibi potansiyel antioksidan düzeylerini artırarak da etkisini gösterir (90). Ürat sıvı faz antioksidanlarındandır. Lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Normal plazma konsantrasyonunda süperoksit, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler. C vitamini oksidasyonunu engelleyici etkisi de bulunmaktadır (29). Sistein, süperoksit ve hidroksi radikali toplayıcısıdır (29). Seruloplazmin, ferooksidaz aktivitesine sahip olup, 2 değerlikli ferro demiri, 3 değerlikli ferri demire okside eder. Seruloplazminin ferooksidaz aktivitesi, demir iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu engeller (29). Transferrin, plazmada bulunan demiri bağlayan bir glikoprotein olup; serbest demiri bağlayarak, demirin lipid peroksidasyon tepkimelerini başlatmasını önlemektedir (29). Ferritin, dokudaki demiri bağlar (29). Albümin, vücutta birçok fonksiyonuna ek olarak bakır iyonunu bağlama yeteneğine de sahiptir ve böylece bakır iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder (29). Bilirübin, süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır (29). Glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek, hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Proteinlerde –SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. İşlevsel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı bileşiklerin deoksifikasyonunu ve amino asitlerin membrandan taşınmasını sağlar (29).

2.2.2.3.1.2 Ekzojen Antioksidanlar

Eksojen kaynaklı antioksidanlar, endojen antioksidanlar gibi primer savunma sistemini oluştururlar (26). Ekzojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılırlar (**Tablo 2.4**).

Tablo 2.4. Ekzojen Antioksidanlar

EKZOJEN ANTİOKSİDANLAR			
Vitamin Eksojen Antioksidanlar	İlaç Eksojen Antioksidanlar	Gıda Eksojen Antioksidanlar	Bitki Kökenli Antioksidanlar
α -tokoferol	Ksantin oksidaz inhibitörleri	Butillendirilmiş Hidroksitoluen	Askorbik Asit
β -karoten	NADPH oksidaz inhibitörleri	Butillendirilmiş Hidroksianizol	E Vitamini
Askorbik asit	Rekombinant süperoksit dismutaz	Sodyum Benzoat,	Fenolik Asit
Folik asit	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar	Fe-Süperoksit Dismutaz	Kateşin
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri		Flavonoidler
	Nötrofil adezyon inhibitörleri		Karotenoitler
	Sitokinler		
	Barbitüratlar		
	Demir şelatörleri		

2.2.3 OKSİDATİF STRES

Serbest radikal molekülleri, antioksidan savunma gücü ile dinamik bir denge içinde bulunduğu sürece organizma için yararlıdır. Örneğin; fagositik hücreler tarafından mikroorganizmaların öldürülmesinin ana mekanizması serbest radikal üretimidir. Serbest radikaller apoptozun tetikleyicisi, habercisi ve efektörü olarak görev yaparlar. Bu şekilde; aşırı hücre proliferasyonunu önleyerek homeostazide yer alırlar. Serbest radikaller ikinci haberci olup, transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. Hücreler arası haberleşmede görev alırlar. Hücrenin büyümesini sağlayan olayları düzenlerler. Sitolizde ve mitokondride üretilen serbest oksijen radikali, protein sistein

kalıntılarının redoksunu düzenleyerek proteinlerin yapı ve işlevinin düzenlenmesinde rol oynarlar (8, 49).

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemleri bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır ya da bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulup serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır.

Serbest radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren veya azaltan endojen antioksidan enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma etkilenmez. Ancak bu denge bozulursa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve oksidatif stres olarak etkilerini gösterirler (8, 37, 46, 56, 66).

2.2.3.1 Oksidatif Stresin Etkileri

1. Hücre organelleri ve zarındaki lipid ve protein yapısını bozarlar.
2. Hücre içi yararlı enzimleri etkisiz hale getirirler.
3. DNA yapısını bozarlar.
4. Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar.
5. Elastaz, proteaz, fosfolipaz, ksantin oksidaz gibi litik enzimleri aktive eder.
6. Hücrenin potasyum kaybını artırır.
7. Trombosit kümelenmesini artırır.
8. Dokulara fagosit toplanmasını artırır.

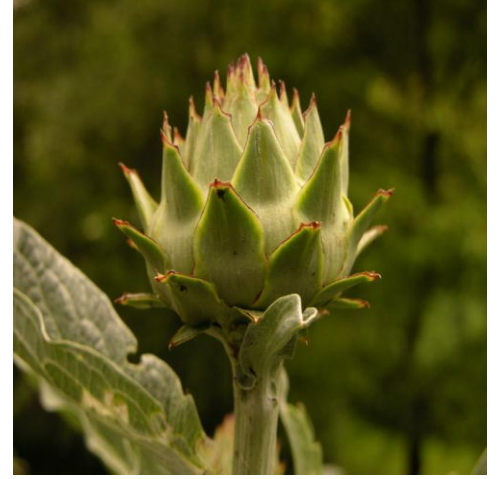
9. Hücre dışındaki kollajen doku parçalarını, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar.

10. Mikro ve makromolekülleri etkileyerek kapiller geçirgenliği bozarlar.

2.3 *Cynara scolymus* L (Enginar)

Bilimsel sınıflandırma

Alem	: Bitkiler
Bölüm	: Kapalı tohumlular
Sınıf	: İki çenekliler
Takım	: Asterales
Familiya	: Asteraceae (Papatyagiller)
Alt familya	: Carduoideae
Oymak	: Cynareae
Cins	: <i>Cynara</i>
Tür	: <i>C. scolymus</i>
Binominal adı	: <i>Cynara scolymus</i> L.



Şekil 2.2. *Cynara scolymus* L

Cynara scolymus, Papatyagiller familyasından mavi-mor renkli çiçekler açan, 50-150 cm boyunda çok senelik otsu bir bitkidir. A ve C vitaminlerinin yanında kalsiyum, potasyum, demir, manganez ve fosfor gibi çeşitli mineralleri orta seviyede bulunduran *Cynara scolymus* L.' nin ülkemizdeki üretimi Ege ve Marmara bölgelerinde yoğunlaşmıştır (6, 55).

2.3.1. *Cynara scolymus* L KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Cynara scolymus L yaprağı Avrupa Farmakopesi' nde kayıtlıdır. Yapracağının birleşiminde, % 1,7 - 4,2 oranında hidroksisinamik asit bulunmaktadır. Hidroksi sinamik asit, kafeilkinik asit türevleri olan sinarin, kafeik asit, klorojenik asit, neoklorojenik asit, kriptoklorojenik asitleri bulundurur. Yaprakta ayrıca flavonoidler (luteolin, rutin), seskiterpen laktonlar (sinaropikrin, dehidrosinaropikrin, grosheimin, sinatriol), tanen, inulin bulunmaktadır. Seskiterpen laktonların oranı %1-4 arasında olup en önemlileri; % 50 - 90 oranında sinaropikrin ve az miktarda grosheimin, dehidrosinaropikrin ve sinatriol'den oluşur. Flavonitler % 0,5 civarında olup en önemlileri; cynarosid (luteolin-7-o-glukozit), scolymosid (luteolin-7-o-rutinosid), rutin, luteolin ve cynarotriosid'dir. Ayrıca tanen, inulin, zank, B vitamini, C vitamini ve provitamin A içerir (55, 98).

2.5.2. *Cynara scolymus* L. YAPRAK EKSTRAKTININ GÜNLÜK HAYATTA KULLANIM YERLERİ

Cynara scolymus L. yaprak ekstraktı uzun yıllardır halk arasında alternatif tedavi amacıyla kullanılmaktadır (26, 37, 55, 56, 71, 86). Halk arasında antimikrobiyal, antioksidan, anti inflamatuvar, safra uyarıcı, karaciğer koruyucu, kolesterol düşürücü, idrar söktürücü ve şeker düşürücü olarak kullanılmaktadır.

2.5.2. *Cynara scolymus* L YAPRAĞI ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Wang ve arkadaşlarının *Cynara scolymus* L. yaprağı üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda bitki yaprak ekstraktının fenolik bileşikler ve antioksidanlar için iyi bir kaynak olduğu belirlenmiştir (98).

Perez-Garcia ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, kafeik asit, klorojenik asit, sinarin ve lutein bulunan *Cynara scolymus* L ekstraktının insan lölosit kültürü üzerine antioksidatif etkisi olduğu bildirilmiştir (72).

Cynara scolymus L. yaprak ekstraktının kültüre sıçan hepositlerinde hidroperoksit ile indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu ve antioksidatif etki gösterdiği bildirilmiştir (26).

Benzer şekilde CCl₄ ile indüklenmiş karaciğer hasarı öncesi *Cynara scolymus* L. ekstraktı kullanımının, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu üzerine olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (26, 55, 72, 86).

Kültüre sıçan hepatositleri ve insan hepatoma hücrelerinde yapılan bir çalışmada, *Cynara scolymus* L. ekstraktı, hepG2 hücrelerinde kaspaz 3 bağımlı olarak apoptozu indüklemiştir (56). Ayrıca bu çalışma sonucunda *Cynara scolymus* L. ekstraktının kanser önlenmesi ve tedavisinde kullanabileceği bildirilmiştir (56).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunda 03.03.2011 tarih ve 34 no.' lu toplantı ve 195 karar no.' lu onay alınarak yapıldı. Çalışmanın tüm aşamalarında hayvan hakları evrensel bildirgesi kurallarına uyuldu.

3.1 GEREÇ

3.1.1 Deney Hayvanları

Bu çalışmada; 4 aylık, 42 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında yetiştirilen deney hayvanlarının, gruplarına uyum sağlamaları açısından, gruplar deneye başlanılmadan 1 hafta önce oluşturuldu. Deney hayvanları deney süresince 12; 12 aydınlık / karanlık ışıklandırması olan, ortalama 22 ± 2 °C ısı ve % 45- 50 nem koşullarında yaşatıldı. Deney sürecinde tüm deney hayvanları kafeslerde, standart sıçan pellet yemi ile (Oğuzlar Yem Sanayi) ad libidum beslendi ve her gün taze çeşme suyu verildi.

3.1.2 Kimyasal Maddeler

- % 10 Nötral formalin
- % 70 - 80 - 90 - 96 alkol serileri
- %30 H₂O₂ (Sigma)
- 1.1.3.3 Tetraetoksiprane (Sigma)

PDF Eraser Free

- 2- Merkaptoethanol (Sigma)
- Absolü Alkol
- Absolü kloroform
- Amonyum molibdat ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O) (Sigma)
- Karbon tetraklorid (CCl₄) (Sigma)
- *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı (Kale Natural)
- Distile su
- Entellan
- Eozin
- Fosforik asit (H₂PO₄) (Merck)
- Hidroklorik Asit (HCl) (Merck)
- Hematoksilen
- Heparin
- Potasyum Klorür (KCl)(Merck)
- Potasyum Fosfat (KH₂PO₄) (Merck)
- Ksilol (Merck)
- Sodyum dihidrojenfosfat (Na₂HPO₄) (Merck)
- n-Bütanol (Sigma)
- Amonyak (NH₃) (Laborsan)
- Parafin
- Serum fizyolojik
- Sodyum Karbonat (Na₂CO₃) (Merck)

PDF Eraser Free

- Superoksit Dismutaz Ölçüm Kiti (Fluka 19160)
- tiyobarbitürik asit (TBA) (Merck)
- Total Protein Kiti (Human, Total Protein Liquicolor)
- Zeytin Yağ (Komili)

3.1.3 Aygıtlar

- Buz makinesi
- Buzdolabı (+4)
- Çeker ocak
- Derin dondurucu (-20)
- Derin dondurucu (-80)
- Distile su cihazı
- Enjektör (10 ml)
- Etüv (Nüve NT 715)
- Fotoğraf filmi (Kodak)
- Fotoğraf makinesi (Olympus DP-70)
- Hassas terazi (Precisa-125A)
- Hayvan kafesi
- Hemoglobin pipeti (20 µl)
- Homojenizatör (IKA-Ultra –Turrax T25)
- Homojenizatör ucu (IKA-T25, S25N 10G)

PDF Eraser Free

- Kronometre
- Lab. saati
- Manyetik karıştırıcı (Nüve)
- Mikroskop (Olympus BH-2)
- Mikrotom (Reichert Jung 820)
- Operasyon takımı
- Otomatik pipetler
- Parafilm
- pH metre
- Pipet (10 ml)
- Santrifüj tüpleri
- Soğutmalı santrifüj (Heraeus Megafuge 1.0. R)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-1601)
- Spektrofotometre tüpleri (1 ml, 2 ml)
- Su banyosu (Nüve)
- Vorteks mikser (Restch)

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Deney Grupları ve Doz Miktarları

Çalışmada 4 aylık, 42 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları arasından rastgele seçimle her biri 7 sıçandan oluşan 6 grup deneye başlanmadan 1 hafta önce oluşturuldu. Deney hayvanlarının ağırlıkları her gün aynı saatte ölçüldü. Oluşturulan deney grupları, deney gruplarına uygulanan maddeler , miktarları ile birlikte **Tablo 3.1'** de belirtilmektedir.

Tablo 3.1 Deney grupları, deney gruplarına uygulanan maddeler, miktarları ve uygulamalar

GRUPLAR	Grup Hayvan Sayısı	İlk 10 Gün	10 Gün Sonrası
Kontrol Grubu	7	-----	-----
Zeytin Yağ Grubu	7	0,2 ml/kg zeytin yağ i.p.	-----
CCl₄ Grubu	7	0,2 ml/kg CCl ₄ + 0,2 ml/kg zeytin yağ i.p.	10. gün sonunda deney sonlandırıldı
<i>Cynara scolymus L.</i> Yaprağı Grubu	7	-----	1,5 g/kg <i>Cynara scolymus L</i>
CCl₄ Doğal İyileşme Grubu	7	0,2 ml/kg CCl ₄ + 0,2 ml/kg zeytin yağ i.p.	-----
Küratif Grup	7	0,2 ml/kg CCl ₄ + 0,2 ml/kg zeytin yağ i.p.	1,5 g/kg <i>Cynara scolymus L</i>

Çalışmanın ilk 10 gününde, CCl₄, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grupta bulunan deney hayvanlarına 10 gün boyunca günde iki uygulama olarak 0,2 ml/kg CCl₄ zeytin yağında 1:1 oranında çözündürülerek intraperitoneal (i.p.) verildi (46, 76).

CCl₄ doğal iyileşme grubunda bulunan deney hayvanlarına, 10. günden sonra bir işlem uygulanmadı.

Küratif gruptaki deney hayvanlarına ön uygulamayı takip eden 14 gün boyunca intragastrik olarak gavaj yöntemi ile 1,5 g/kg lık *Cynara scolymus L* yaprak ekstraktı distile suda çözündürülerek verildi (48, 55, 86).

Zeytin yağ grubunda bulun deney hayvanlarına i.p. olarak 0,2 ml/kg zeytinyağı 10 gün uygulandı.

Cynara scolymus L. yaprak grubunda bulunan deney hayvanlarına intragastrik olarak gavaj yöntemi ile 1,5 g/kg *Cynara scolymus L* ekstraktı su içerisinde çözdürülerek 14 gün uygulandı (48, 55, 86).

3.2.2 Deney Hayvanlarından Çalışılacak Örneklerin Alınması

CCl₄ Grubu sıçanlardan 10. gün sonunda, diğer deney gruplarımızdaki sıçanlardan ise çalışmanın 24. gününde, etik kurallara uygun olarak anestezi altında, uygun teknikler kullanılarak kalp kanı ve karaciğer doku örnekleri alındı.

Deney hayvanlarının kalp kanı, yapılacak işleme göre, normal, EDTA' lı tüplere ve hemoglobin pipetlerine alındı. Hemoglobin pipetlerine alınan kanlarda hemoglobin değerleri belirlendi. Alınan kan örneklerinin serumlarında ise, alkalen fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotranferaz (AST) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim değerleri otoanalizörde (Roche/Hitachi, Japan) konvansiyonel prosedürlere uygun olarak analizleri yapıldı. EDTA' lı tüplere alınan kan örneklerinden

protokole uygun hemolizatlar hazırlanarak, her bir gruba ait malondialdehit (MDA) düzeyi, katalaz (KAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Alınan karaciğer doku örneklerinden hazırlanan homojenatta; malondialdehid (MDA) düzeyi, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ve katalaz (KAT) aktivitesi, spektrofotometrik olarak ölçüldü. Karaciğer dokusunda DNA fragmantasyonu ölçümü spektrofotometrik olarak yapıldı.

Histolojik değerlendirme için tüm sıçanlardan total karaciğeri kapsayacak örnekler alınarak, %10 tamponlanmış nötral formaline konuldu. Bu örneklerden rutin histolojik preparat hazırlama yöntemi ile karaciğer doku preparatları hazırlandı, ışık mikroskopunda değerlendirilip fotoğraflandı.

3.2.3 Serum Ölçümleri

Serum Eldesi

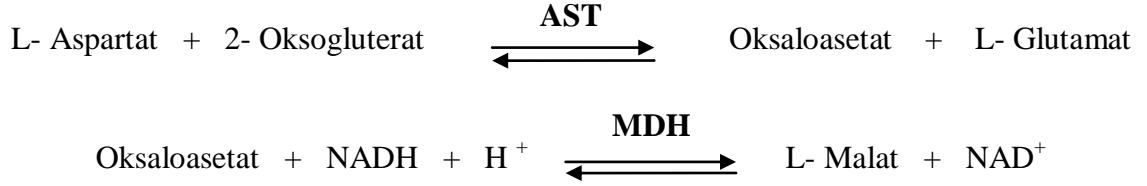
İntrakardiyak yolla kalpten alınan kan örnekleri; +4°C, 10 dakika 3000 rpm devirde santrifüjlenerek serumlar elde edildi. Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80°C derin dondurucuda saklandı. Bu serum örneklerinde alkalen fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotranferaz (AST) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim değerleri ölçüldü.

Aspartat aminotransferaz (AST)

Serumda AST düzeyi Roche marka ticari kit kullanılarak, Roche/Hitachi MODULAR P otoanalizator ile belirlendi.

Ölçüm Prensipleri:

Metod *Karmen* ve *Al* tarafından geliştirilmiş daha sonra *Henry* ve *Al* tarafından optimize edilmiştir. Serumda AST enzimi, reaksiyon sonunda meydana gelen oksaloasetatın NADH varlığında L-Malata dönüşmesi esnasında, NADH'ın NAD⁺'ye okside olması ile absorbansta meydana gelen azalmanın ölçümüne dayanan metoda göre hazırlanmış ticari kitler ile spektrofotometrede 340 nm de absorbanları ölçülerek tayin edildi. Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir:



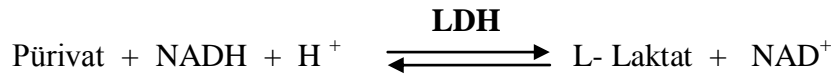
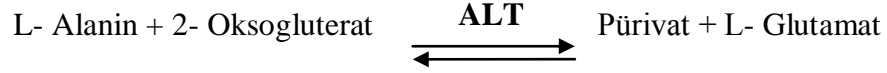
Alanin aminotransferaz (ALT)

Serumda ALT düzeyi Roche marka ticari kit kullanılarak, Roche/Hitachi MODULAR P otoanalizator ile belirlendi.

Ölçüm Prensipleri:

Metod *Wroblewski* ve *LaDue* tarafından geliştirilmiş daha sonra *Henry* ve *Bergmeyer* tarafından optimize edilmiştir. Serumda ALT enzimi, reaksiyon sonunda meydana gelen piruvat'ın, NADH varlığında laktata dönüşmesi esnasında, NADH'ın

NAD⁺ ye okside olması ile absorbansta meydana gelen azalmanın ölçümüne dayanan metoda göre hazırlanmış ticari kitler ile spektrofotometrede 340 nm de, absorbanları ölçülerek tayin edildi Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir:



Alkalen fosfataz (ALP)

Serumda ALP düzeyi Roche marka ticari kit kullanılarak, Roche/Hitachi MODULAR P otoanalizator ile belirlendi.

Ölçüm Prensibi:

Method *Lowry*, *Bessey* ve *Brock* tarafından geliştirilmiş, daha sonra *Hausamen* ve *arkadaşları* tarafından düzeltilmiştir. Magnezyum ve çinko iyonları varlığında; p-nitrofenil fosfat, fosfat ve p-nitrofenol oluşturmak için fosfatazlar tarafından hidrolize edilir. Bu süreçte AMP geçici fosfat alıcısıdır. Renkli p-nitrofenol serbest bırakılması ALP aktivitesi ile orantılıdır. spektrofotometrik olarak ölçüldü (405 nm).



Laktat dehidrogenaz (LDH)

Serumda AST düzeyi Roche marka ticari kit kullanılarak, Roche/Hitachi MODULAR P otoanalizatör ile belirlendi.

Ölçüm Prensibi:

Metod *Henry* ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Örnekteki LDH aktivite oranı ve NADH⁺ ın NAD⁺ a dönüşmesinden dolayı oluşan absorbanstaki azalma 340 nm’ de ölçüldü.



3.2.4 Kan Ölçümleri

Hemoglobin Düzeyinin Ölçülmesi

TANYER G. “Hematoloji ve Laboratuar -1985” kitabında oksihemoglobin metodu yöntemi ile ölçüldü (96).

a. Çözeltiler

% 0.1 Sodyum karbonat çözeltisi: 100 mg sodyum karbonat cam mezura konarak 100 ml ye tamamlandı.

b. Spektrofotometrede Okuma

1. Hemoglobin pipetine 20 µl kan çekildi.
2. Örnek sayısı kadar tüpe 3,5 ml sodyum karbonat çözeltisi kondu ve üzerine 20 µl. kan eklendi.
3. Örnekler, distile suya karşılık 540 nm’de spektrometrede okundu.

c. Sonuçların Hesaplanması

Okunan değerler, TANYER G. (96) tarafından **Tablo 3.2**’ de verilen “optik dansiteler ve hemoglobin g/dl tablosundan g/dl olarak belirlendi.

Tablo 3.2. Örneklerin optik dansiteleri ve hemoglobin g/dl değerleri (TANYER G., 1985)

Numune O.D	Hb g/dl	Numune O.D	Hb g/dl	Numune O.D	Hb g/dl	Numune O.D	Hb g/dl
0,05	2,0	0,18	7,4	0,38	15,4	0,58	23,6
0,10	4,0	0,19	7,8	0,39	15,9	0,59	24,1
0,11	4,4	0,20	8,2	0,43	17,5	0,60	24,5
0,12	4,9	0,21	8,6	0,50	20,4	0,61	24,9
0,13	5,4	0,22	9,0	0,51	20,8	0,62	25,3
0,14	5,7	0,23	9,4	0,54	22,0	0,63	25,7
0,15	6,1	0,24	9,8	0,55	22,4	0,64	26,2
0,16	6,5	0,25	10,2	0,56	22,8	0,65	26,6
0,17	7,0	0,26	10,6	0,57	23,2	0,66	27,0

Eritrosit Hemolizatlarının Hazırlanması

Eritrosit hemolizati hazırlanması için YI-SUN, LARRY, W. OBERLEY ve YING LI, 1988 metodu kullanıldı (96).

1. 2 cc lik EDTA'lı CBC tüpüne 2 ml kan alındı.
2. +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
3. Plazma ve lökosit ayrıldı. Tüpte eritrosit peleti bırakıldı.
4. Eritrosit peleti kadar serum fizyolojik eklendi.
5. +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
6. Supernatant atıldı.
7. Geride kalan pelet hacmi kadar serum fizyolojik eklendi.
8. +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
9. Supernatant atıldı.
10. Geride kalan pelet hacmi kadar serum fizyolojik eklendi.
11. +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
12. Supernatant atıldı.
13. Geride kalan pelet hacmi kadar distile su eklendi.
14. +4°C de 5000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi.
15. Supernatant alındı ve SOD, MDA ve katalaz ölçümü yapılanaya kadar -70°C' de muhafaza edildi.

3.2.5 Karaciğer Dokusundan Homojenat Hazırlanması

1. Örnek sayısı kadar tüp alındı ve numaralandı.
2. Her hayvandan ortalama 1 g. kadar karaciğer dokusu alındı.
3. Alınan doku parçası 0,16 mg/ml heparin içeren %0,9 NaCl solüsyonunda yıkandı.
4. Alınan doku miktarı kadar serum fizyolojik ilave edildi.
5. Tüpler buz dolu bir kap içinde homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
6. Homojenizasyon sonrası 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildi.
7. Santrifüj sonrası süpernatant ayrıldı.
8. Ayrı bir test tüpüne süpernatant'ın 250 µl' si ve buzda soğutulmuş ekstraksiyon reagent' inin 400 µl' si ilave edildi.
9. 30 saniye vortekslendi.
10. +4°C'de 3000xg' de 10 dakika santrifüj edildi.
11. Üstte toplanan süpernatant bir viale alındı. Aynı gün içinde ölçüm yapılacaksa +4°C' de, daha sonra ölçüm yapılacaksa -86°C derin dondurucuda saklandı.

3.2.6 Karaciğer Dokusunda Total Protein Ölçümü

Dokuların total protein miktarı Biüret yöntemine göre hazırlanmış total protein kiti (Human, Total Protein Liquicolor 10570) kullanılarak spektrofotometrede ölçüldü.

Ölçüm Prensipleri:

Peptid, polipeptid ve proteinler için Biüret reaksiyonu spesifiktir. İki değerlikli bakır iyonu, alkali ortamda peptid bağları ile mor renkli bir kompleks oluşturur.

Spektrofotometre' de ölçüm

Örnekler spektrofotometrede reaktif körüne karşı okundu. Ölçüm için;

1. Bir kör tüpü, bir standart tüpü ve örnek sayısı kadar da test tüpü hazırlandı ve numaralandırıldı.
2. Kör tüpüne; 1000 µl reaktif. Standart tüpüne; 20 µl standart ve 1000 µl reaktif. Test tüpüne; 20 µl örnek ve 1000 µl reaktif ilave edildi.
3. Tüpler karıştırıldı ve 20 - 25 °C' de 5 dakika beklendi.
4. 546 nm' de absorbans değerleri ölçüldü.
5. Örneklerin total protein konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$C_{\text{örnek}} = \frac{A_{\text{örnek}}}{A_{\text{standart}}} \times C_{\text{standart}} \text{ (g/dl)}$$

Bu ölçüm değerleri homojenatta, KAT aktivitesi ile MDA düzeyi hesaplanmasında kullanıldı.

3.2.7. Hemolizat ve Homojenat Enzim Aktivitelerinin Ölçümü

SOD Aktivitesi Ölçümü

SOD aktivitesi, DOJINDO'nun geliştirdiği WST (water-soluble tetrazolium salt) reaksiyonuna dayanan FLUKA SOD Determination Kit (Cat. No:19160) ile belirlendi.

a. Ölçüm Prensipleri:

Süperoksit anyonları (O_2^-), Ksantin/Ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulup kromojen solüsyon kullanılarak ölçümü yapıldı.

b. Ölçüm Yöntemi

1. Kit'te verilen çalışma solüsyonu hazırlandı.
2. Kit'te verilen enzim çalışma solüsyonu hazırlandı.
3. Aşağıdaki gösterildiği gibi 96'lık mikropate kuyularına örnek ve diğerleri konuldu.

	Kör 1	Kör 2	Kör 3	Örnek
Örnek	-----	20 µl	-----	20 µl
De iyonize su	20 µl	-----	20 µl	-----
Çalışma Solüsyonu	200 µl	200 µl	-----	200 µl
Enzim Çalışma Solüsyonu	20 µl	-----	-----	20 µl

4. Plate 37°C’de 20 dakika inkübe edildi.
5. Elisa ile 490 nm’de ölçüm yapıldı.

c. Sonucun Hesaplanması

Aşağıdaki formüle göre % inhibisyon olarak hesaplandı.

$$SOD\ Aktivitesi\ (\% \text{ İnhibisyon}) = \frac{(Kör1 - Kör3) - (Örnek - Kör2)}{Kör1 - Kör3} \times 100$$

Ü/ml/protein olan SOD değeri, TANYER G tarafından **Tablo 3.2.**’de verilen “optik dansiteler ve hemoglobin g/dl ” tablosundan belirlenen hemoglobin (g/dl) değerine göre SOD değeri U/g Hb olarak hesaplandı.

Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçümü

a. Ölçüm Prensipleri:

Katalaz aktivitesi, amonyum molibdatla stabil bir kompleks oluşturan hidrojen peroksitin spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi temeline dayanılarak ölçümler gerçekleştirildi (GOTH L., 1991)(96).

a. Örnek Hazırlanması

Homojenat Hazırlanması:

1. Örnek sayısı kadar tüp alınarak numaralandı.
2. Yaklaşık 0,4 g ağırlığında karaciğer doku örnekleri alındı.
3. Alınan örnekler SF ile yıkandı.
4. Buz dolu bir kap içinde tüpe geçirildi.
5. Daha sonra tüp içindeki örnekler, sodyum-potasyum-fosfat tamponu ile homojenize edildi.

Sodyum-Potasyum-Fosfat Tamponu:

- a. KH_2PO_4 ' den 9,08 g alındı ve 1 litre distile su içinde çözüldü (A).
 - b. Na_2HPO_4 'den 11,88 g alındı ve 1 litre distile su içinde çözüldü (B).
 - c. Daha sonra 3,3 ml A çözeltilisinden alınarak B çözeltilisi ile 100 ml' ye tamamlandı ve pH = 8 olacak şekilde pH metrede ayarlandı.
6. Buz dolu bir kap içindeki tüpte bulunan örnek, homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
 7. Daha sonra soğutmalı santrifüjde $+4^\circ\text{C}$ ' de 4000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi.
 8. Üstte toplanan süpernatant ayrı bir vial e alınarak ölçümde kullanıldı. Aynı gün içinde ölçüm yapılacaksa $+4^\circ\text{C}$ ' de, daha sonra ölçüm yapılacaksa -86°C derin dondurucuda saklandı.

b. Çözeltiler

- 1) **Substrat çözeltisi:** %30 H₂O₂' den 8,11 ml alınıp, fosfat tamponu ile 1000 ml ye tamamlanıp pH 7,4 ayarlandı.
- 2) **32,4 mmol/l amonyum molibdat ((NH₄)₆Mo₇O₂₄ 4H₂O) çözeltisi:** Bunun için, 8 g amonyum molibdat 200 ml distile suda çözülerek hazırlandı. Her zaman taze olarak kullanıldı ve kısa süreli beklemelemlerde çökelti oluşmuşsa ölçüm yapılmadan önce çözelti vortekslendi.
- 3) **Tampon çözeltisi:**
 - A) 4,08 g KH₂PO₄ alınarak 500 ml distile suda çözüldü.
 - B) 8,04 g Na₂HPO₄ alınarak 500 ml distile suda çözüldü.

Daha sonra (A) çözeltisinden 3,3 ml alınarak (B) çözeltisi ile 100 ml' ye tamamlandı ve pH=7,4' e ayarlandı.

c. Spektrofotometrede Ölçüm

1. Her bir örnek tüpü için bir blank tüpü (blank 1, B₁) hazırlandı ve tüpler numaralandı.
2. Blank (B₁) tüplerine; 37°C' de su banyosu içinde 1 ml substrat ve 0,2 ml örnek ilave edilerek başlatılan reaksiyon, anında 1 ml amonyum molibdat çözeltisi ilavesiyle reaksiyon durduruldu.
3. Örnek tüplerine ise; 1 ml substrat ve 0,2 ml örnek konularak, 37°C' de 60 saniyelik inkübasyon süresince devam eden reaksiyon yine 1 ml amonyum molibdat çözeltisi ilavesiyle durduruldu.

4. Örnek tüplerinin inkübasyonu için 60 saniyelik bekleme süresi içinde blank 2 (B₂) ve blank 3 (B₃) tüpleri hazırlandı.
5. Blank 2 tüpüne; 1 ml substrat, 1 ml molibdat ve 0,2 ml tampon ilave edildi.
6. Blank 3 tüpüne; 1 ml tampon, 1 ml molibdat ve 0,2 ml tampon, ilave edildi.
7. Spektrofotometre 405 nm' de distile suyla sıfırlandıktan sonra B₂ ve B₃ tüplerindeki çözeltilerin absorbans değerleri okundu, sonra blank (B₁) tüpleri ve arkasından örnek tüplerinin absorbansları okundu.

d. Sonucun Hesaplanması

Spektrofotometrede okunan değerler, aşağıdaki formüle uygulandı ve sonuçlar; homojenatta kU/g protein olarak bulundu.

$$Katalaz\ Aktivitesi = \frac{\text{Örnek} - \text{Blank1}(B_1)}{\text{Blank2}(B_2) - \text{Blank3}(B_3)} \times 271$$

Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü

Yöntemin amacı; lipid peroksidasyonu son ürünlerinden bir tanesi olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır (UCHIAMA ve MIHARA 1978) (96).

a. Çözeltiler

- 1) **% 1 Fosforik asit çözeltisi:** 1 ml fosforik asit, distile su ile 100 ml ye tamamlandı.
- 2) **% 0,6 TBA (Tiyobarbitürik Asit) çözeltisi:** 6 g TBA 1000 ml suda çözüldürüldü.

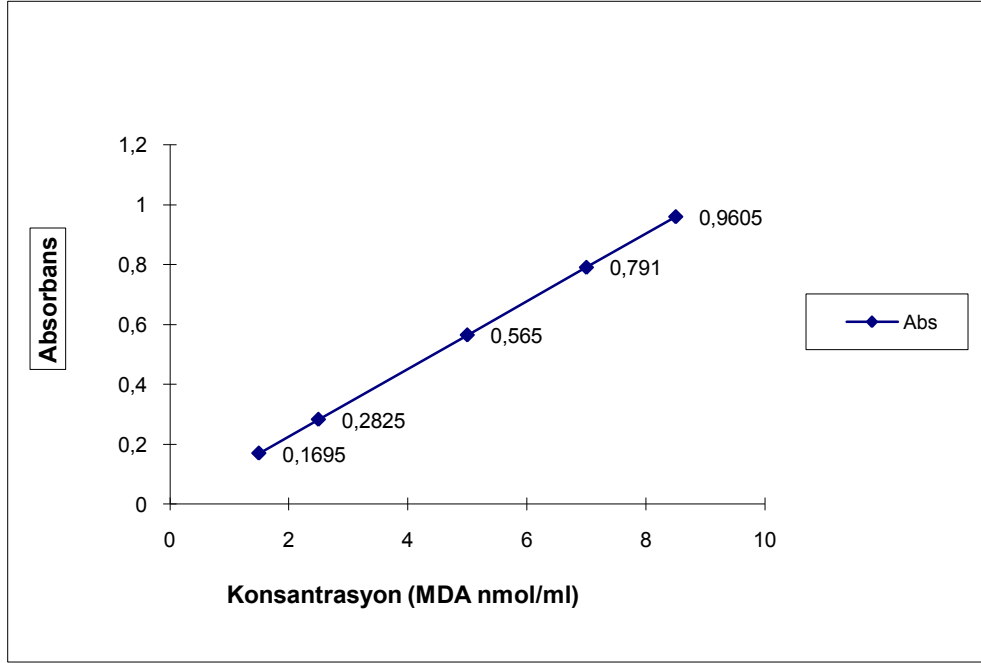
b. Spektrofotometrede Okuma

1. Her ölçümde bir kör ve örnek tüpleri hazırlandı.
2. Kör tüpüne; 0,5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi, örnek tüpüne; 0,5 ml h örnek, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi.
3. Kör ve örnek tüpleri bir beherde su içinde 45 dakika kaynatıldı.
4. Tüpler soğuduktan sonra içlerine 4 ml butanol ilave edildi.
5. 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
6. Ölçüm için süpernatant alındı
7. Spektrofotometre 532 nm' de distile su ile sıfırlandıktan sonra kör ve örnek tüplerinin absorbansları okundu.

c. Sonucun Hesaplanması

1. Konsantrasyonların belirlenebilmesi için; lipid peroksit standard (1.1.3.3. tetraetoksipropan) 1, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/ml de hazırlandı (**Şekil 3.1**).
2. Standart eğrisinin hazırlanması:

- K r tüpüne; 0,5 ml distile su, 3 ml fosforik asit  zeltisi, 1 ml TBA  zeltisi konuldu.
- Standart tüplerine; 0,5 ml farklı konsantrasyonlarda standart, 3 ml fosforik asit  zeltisi, 1 ml TBA  zeltisi ilave edildi ve absorbanslar okundu. Okunan absorbanslarla, konsantrasyon değerleri milimetrik kağıt üzerinde karşılaştırılarak standart eğrisi çizildi (**Şekil 3.1**).
- Standart eğrisinde, spektrofotometreden okunan absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyon değerleri okundu.



Şekil 3.1. MDA standart eğrisi

Grafikten belirlenen değerler homojenatta nmol/g yaş doku olarak hesaplandı. Hemolizatta MDA değerleri kU/gHb olarak hesaplandı.

3.2.8. Karaciğer Dokusunda DNA Fragmentasyonu Ölçümü

DNA fragmentasyonu ölçümünde spektrofotometrik bir ölçüm metoduna dayanan difenilamin reaksiyonu kullanılmıştır (84, 88).

Ölçüm Prensipleri

Temel olarak DNA'nın hidrolizi esasına dayanır. Açığa çıkan 2-deoksi-riboz' lar dehidrasyon ile aldehite dönüştüğünde, ortama eklenen difenilamin ile mavi renkli bileşikler oluşur. DNA konsantrasyonu arttıkça mavi renk koyulaşır (84, 88).

Örnek Hazırlanması

a. Doku homojenatının hazırlanması

1. Dokular -80 °C derin dondurucudan çıkarıldı ve her biri 0,3 gram tartıldı.
2. Üzerlerine 2,7 ml Lizis buffer (5 mM Tris-HCl, 20 mM EDTA, % 0,5 Triton X- 100, pH8) eklenerek homojenize edildi.
3. Homojenat, +4 °C' de, 26 000xg' de 25 dakika santrifüj edildi.
4. Fragmente DNA içeren kısım olan süpernatant dikkatlice alındı ve başka bir tüpe aktarıldı. pellet ise intact DNA içeren kısımdır.
5. Süpernatantın ve pelletin DNA içerikleri difenilamin reaksiyonu kullanılarak ölçüldü.

b. Çözeltiler

- **0,5 N Perklorik Asit:** 43ml perklorik asit alındı ve distile su ile son hacim olan 1000 ml.'ye tamamlandı.
- **Solüsyon A:** 1,5 gram difenilamin, 100ml glasiyel asetik asitte çözüldü. Üzerine 1,5 ml sülfürik asit eklendi (bu solüsyon karanlıkta saklanır).
- **Solüsyon B:** 50 ml deiyonize su ile 1 ml asetaldehit karıştırılarak hazırlandı (bu solüsyon taze kullanılır).

c. Spektrofotometrik ölçüm

1. Süpernatantların DNA içeriğinin ölçümü

- Numaralandırılan örnek tüplerine 1917µl süpernatant alındı.
- Üzerlerine 86 µl konsantre perklorik asit eklendi.
- Kör olarak 0,5 N perklorik asit kullanıldı
- Kör ve örnek tüpleri 90°C' de 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası 1500 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatanttan 0,75 ml alındı, 0,75 ml solüsyon A ve 3,75µl solüsyon B eklendi.
- Oda ısısında 18 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası, örneklerin absorbanları 600 nm' de köre karşı okundu.

2. Pelletlerin DNA içeriğinin ölçümü

- Numaralandırılan pelletlerin üzerine 6ml 0,5 N perklorik asit eklendi.
- Kör olarak 0,5 N perklorik asit kullanıldı
- Kör ve pellet tüpleri 90°C' de 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası 1500 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatanttan 0,75 ml alındı, 0,75 ml solüsyon A ve 3,75µl solüsyon B eklendi.
- Oda ısısında 18 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası, örneklerin absorbansları 600 nm' de köre karşı okundu.

d. Sonucun hesaplanması

Örneklerin absorbansları 600 nm' de spektrofotometrik olarak ölçüldükten sonra, DNA fragmentasyon sonuçları % olarak, aşağıda verilen formüle göre hesaplandı:

$$\text{DNA FRAGMENTASYONU(\%)} = \frac{\text{Süpernatant Absorbansı}}{\text{Süpernatant Absorbansı} + \text{Pellet Absorbansı}} \times 100$$

3.2.9. Karaciğer Örneklerinden Histolojik Preparatların Hazırlanması

Deney gruplarını oluşturan tüm sıçanlardan, karaciğer örnekleri alındı. Alınan karaciğer örneklerinin % 10' luk formalin fiksatifinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70' lik, %80' lik, %90'lık ve %96' lık alkol serilerinde 45' er dakika bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'şer dakika ksilolde bekletildi. Karaciğer örnekleri şeffaflanmalarının ardından etüv içinde 65°C' de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi. Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutulurken, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45°C' de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında Hematoksilin-Eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilin ile 2 dakika ve Eosin ile 10 dakika boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dakika tutularak şeffaflaştırıldı ve şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapıldı ve karaciğer ve böbrek örneklerini içeren tüm preparatların Olympus DP-70 dijital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.2.10 İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenlerin (alkalen fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotranferaz (AST) , laktat dehidrogenaz (LDH), katalaz (KAT) ve

süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA) düzeyi, hemoglobin, deney hayvanlarının ilk ve son ağırlıkları, ağırlık farkları) normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arasındaki karşılaştırılmaları tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile yapıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Least Significant Difference testi (LSD) kullanıldı. Deney öncesi ve sonrası eş gözlemlerin karşılaştırılmasında eşleştirilmiş t testi kullanıldı. Histoloji sonuçlarının gruplar arasındaki karşılaştırılmaları exact ki-kare analizi ile gerçekleştirildi. Analizlerde $p < 0,05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Tüm analizler SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmanın 1. gününde ve 24. gün sonunda sıçan ağırlıkları (CCl₄ grubu ağırlığı 10. gün sonunda) ölçülerek kaydedildi. Çalışma sonunda sıçanlardan alınan kan ve doku örnekleri kullanılarak aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalin fosfataz (ALP), ve laktat dehidrogenaz (LDH), hemoglobin, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA) düzeyi ve DNA fragmantasyonu yüzdesi belirlendi. Ayrıca karaciğer doku örnekleri H&E boyama yöntemi ile incelenerek, patolojik değişiklikler değerlendirildi.

4.1 SIÇAN VÜCUT AĞIRLIKLARI

4.1.1 Sıçan Vücut Ağırlıklarının Grup İçerisinde İlk ve Son Ağırlıklarının Karşılaştırılması

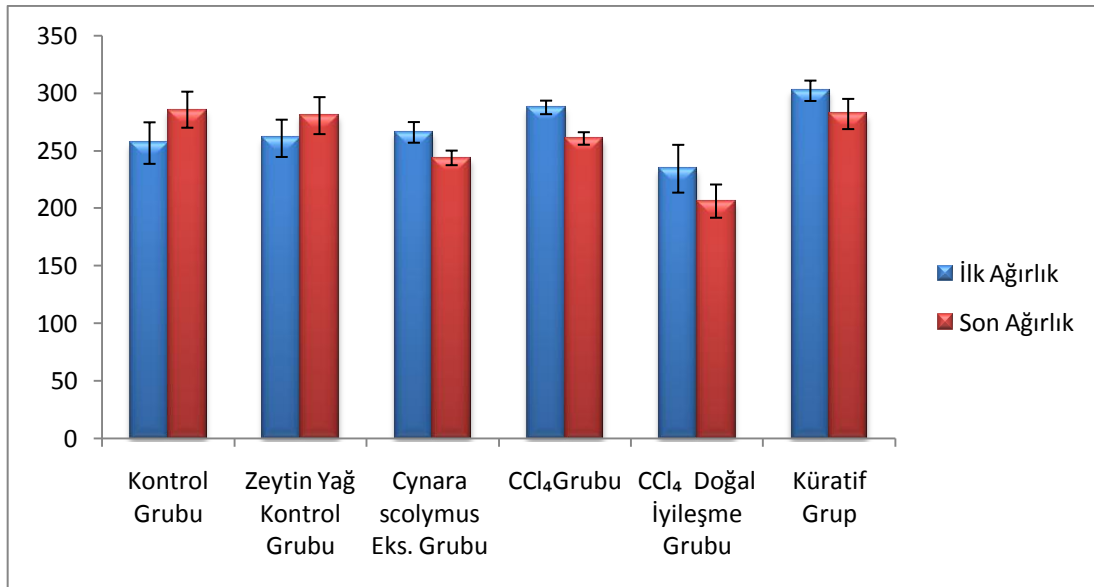
İstatistiksel olarak, kontrol grubu 1. gün ($256,57 \pm 18,05$ g) ile 24. gün sıçan ağırlıkları ($285,57 \pm 15,67$ g) ve zeytin yağ kontrol grubu 1. gün ($260,71 \pm 16,20$ g) ile 24. gün sıçan ağırlıklarında ($280,43 \pm 16,07$ g) çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) artış bulundu. *Cynara scolymus* L. Yaprak ekstraktı grubu 1. gün ($265,86 \pm 8,99$ g.) ile 24. gün sıçan ağırlıkları ($243,71 \pm 6,34$ g) karşılaştırıldığında ise sıçan ağırlıklarında çok önemli düzeyde $p < 0,001$) azalma bulundu. CCl₄ grubu 1. gün ($287,57 \pm 5,88$ g) ile 10. gün ağırlığı ($260,57 \pm 5,44$ g) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak sıçanların ağırlıklarında çok önemli düzeyde azalma ($p < 0,001$) bulundu. CCl₄ doğal iyileşme grubu sıçan ağırlıklarının 1. gün ($234,28 \pm 20,77$ g) ile 24. gün ($206,14 \pm 14,44$ g) değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak sıçan ağırlıklarında çok önemli düzeyde azalma ($p < 0,001$) bulundu. Küratif grupta 1. gün ($302,00 \pm 8,85$ g) ile 24. gün sıçan ağırlıkları ($281,85 \pm 13,12$ g) karşılaştırıldığında sıçan ağırlıklarında önemli düzeyde ($p < 0,01$) azalma bulundu. Gruplara ait vücut ağırlıkları **Tablo 4.1** ve **Şekil 4.1'** de verilmiştir.

Tablo 4.1. Kontrol ve deney gruplarının grup içerisinde ilk ve son ağırlıkları ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	N	1. Gün Ağırlık(g) Ortalama ± Standart sapma	24. Gün Ağırlık (g) Ortalama ± Standart sapma	p
1	Kontrol Grubu	7	256,57 ± 18,05	285,57 ± 15,67	0,000***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	260,71 ± 16,20	280,43 ± 16,07	0,000***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	265,86 ± 8,99	243,71 ± 6,34	0,000***
4	CCl ₄ Grubu	7	287,57 ± 5,88	^a 260,57 ± 5,44	0,000***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	234,28 ± 20,77	206,14 ± 14,44	0,000***
6	Küratif Grup	7	302,00 ± 8,85	281,85 ± 13,12	0,001**

* p< 0,05 ** p<0,01 ***p<0,001

^a CCl₄ Grubu Ağırlığı 10. gün sonunda ölçüldü



Şekil 4.1. Kontrol ve deney gruplarının grup içerisinde ilk ve son ağırlıkları

4.1.2 Sıçan Vücut Ağırlık Farklarının Gruplar Arası Karşılaştırılması

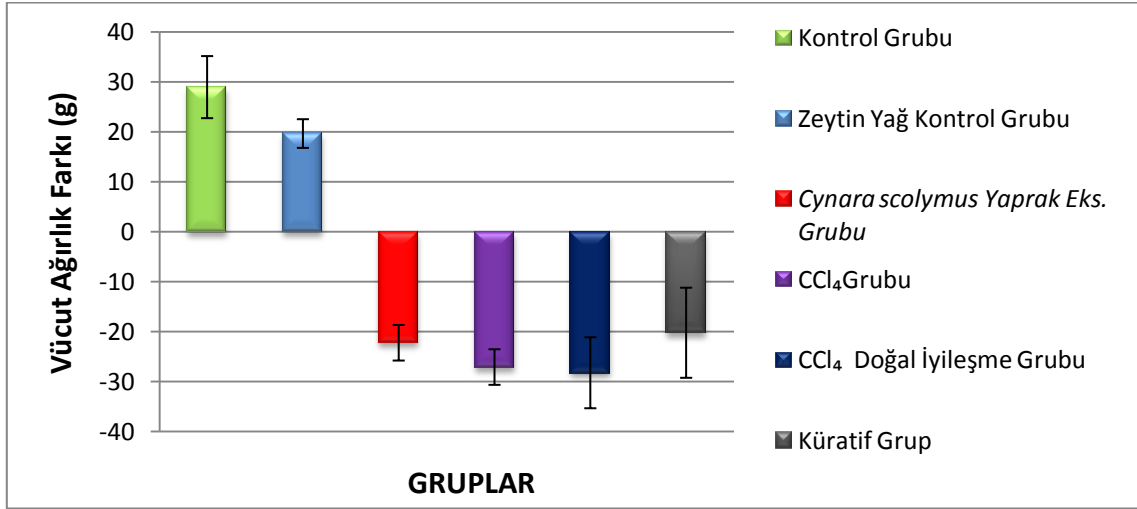
Deneyin 1. günü ile 24. günü arasındaki sıçan ağırlıklarının farkları, kontrol grubu ($29,00 \pm 6,21$ g), zeytin yağ kontrol grubu ($19,71 \pm 2,87$ g), *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubu ($-22,14 \pm 3,56$ g), CCl_4 doğal iyileşme grubu ($-28,14 \pm 7,10$ g) ve küratif grubunda ($-20,14 \pm 9,01$ g) hesaplandı. CCl_4 grubunda sıçan ağırlık farkı ($-27,00 \pm 3,56$ g) deneyin 1. günü ile 10. günü arasındaki ağırlık farkı kullanılarak hesaplandı.

Deney süresince deney hayvanlarının vücut ağırlıklarının değişimi istatistiksel olarak incelendiğinde; kontrol grubuna göre, zeytin yağ kontrol grubunda ($p > 0,05$) bir fark bulunmazken; CCl_4 , CCl_4 doğal iyileşme, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve küratif grup sıçan vücut ağırlık farklarında çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) azalma bulundu.

Tablo 4.2. Kontrol ve deney gruplarının vücut ağırlıkları farkı ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	Vücut Ağırlık Farkı (g) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	$29,00 \pm 6,21$	33,42	0,000		ns	***	***	***	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	$19,71 \pm 2,87$			ns		***	***	***	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	$-22,14 \pm 3,56$			***	***		ns	ns	ns
4	CCl_4 Grubu	7	$-27,00 \pm 3,56$			***	***	ns		ns	ns
5	CCl_4 Doğal İyileşme Grubu	7	$-28,14 \pm 7,10$			***	***	ns	ns		ns
6	Küratif Grup	7	$-20,14 \pm 9,01$			***	***	ns	ns	ns	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.2. Kontrol ve deney gruplarının grup içerisinde ilk ve son ağırlıkları

4.2 SERUM DEĞERLERİNE AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

4.2.1 Serum Aspartat Amino Transferaz (AST) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme

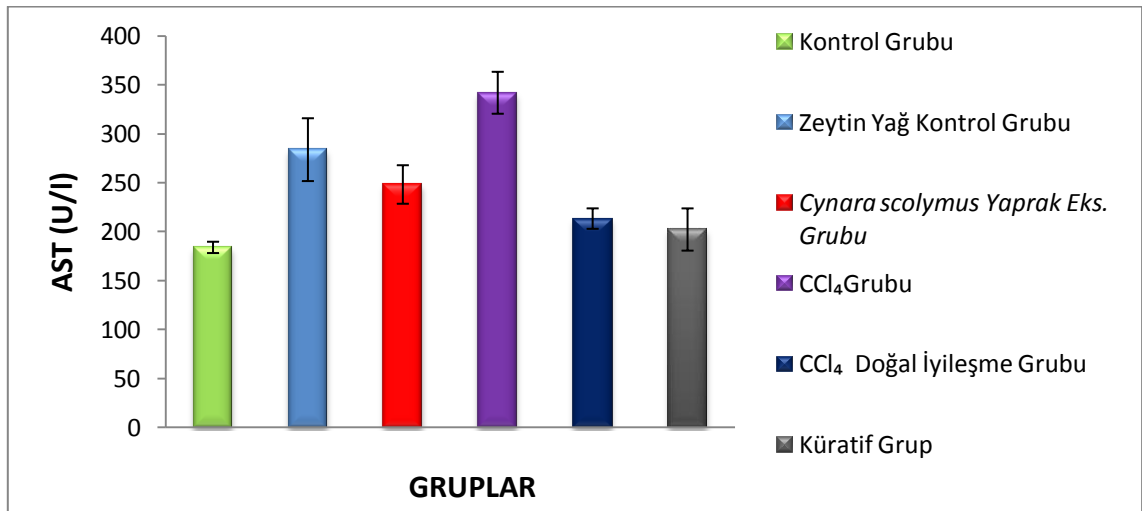
Serum AST düzeyi, kontrol grubunda $184,14 \pm 5,78$ U/l, zeytin yağ kontrol grubunda $284,00 \pm 32,10$ U/l, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $248,42 \pm 19,68$ U/l, CCl₄ grubunda $342,14 \pm 21,42$ U/l, CCl₄ doğal iyileşme grubunda $213,57 \pm 10,45$ U/l ve küratif grupta $202,42 \pm 21,57$ U/l bulundu.

Serum AST düzeyleri istatistiksel olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; zeytin yağ kontrol, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve CCl₄ gruplarında çok önemli düzeyde ($p < 0,001$), CCl₄ doğal iyileşme grubunda $p < 0,05$ düzeyinde artış bulunurken küratif grupta ($p > 0,05$) fark bulunmadı (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

Tablo 4.3. Kontrol ve deney gruplarının serum aspartat amino transferaz (AST) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	AST(U/l) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	184,14 ± 5,78	36,22	0,000		***	***	***	*	ns
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	284,00 ± 32,10			***		**	***	***	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	248,42 ± 19,68			***	**		***	**	**
4	CCl ₄ Grubu	7	342,14 ± 21,42			***	***	***		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	213,57 ± 10,45			*	***	**	***		ns
6	Küratif Grup	7	202,42 ± 21,57			ns	***	**	***	ns	

* p< 0,05 ** p<0,01 ***p<0,001



Şekil 4.3. Kontrol ve deney gruplarının serum aspartat amino transferaz (AST) değerleri

4.2.2 Serum Alanin Amino Transferaz (ALT) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme

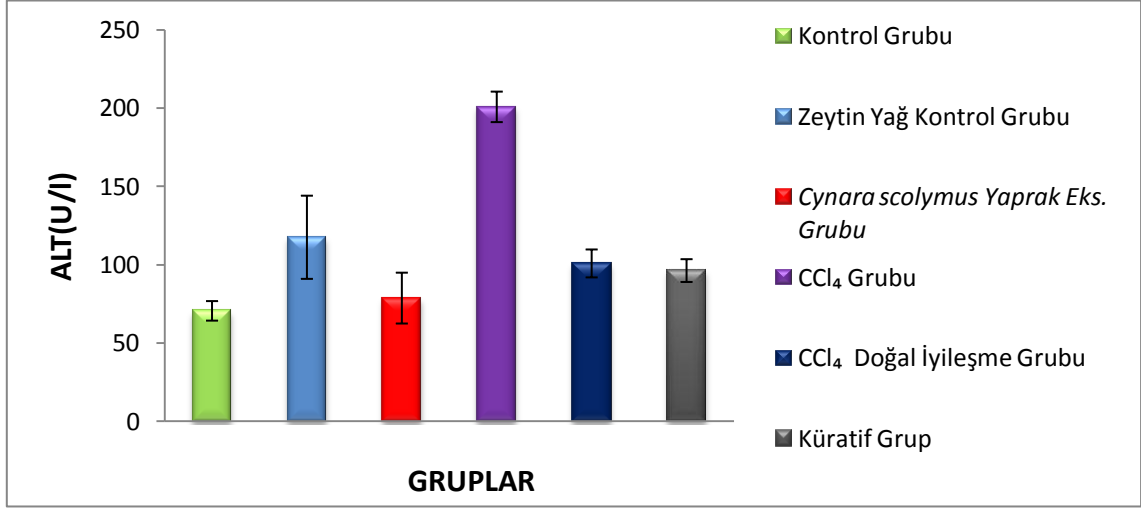
Serum ALT düzeyi, kontrol grubunda $70,71 \pm 6,24$ U/l, zeytin yağ kontrol grubunda $117,71 \pm 26,56$ U/l, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $78,86 \pm 16,23$ U/L, CCl₄ grubunda $201,00 \pm 9,74$ U/l, CCl₄ doğal iyileşme grubunda $101,00 \pm 8,92$ U/l ve küratif grupta $96,43 \pm 7,28$ U/l bulundu.

Serum ALT düzeyleri istatistiksel olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; zeytin yağ kontrol grubu, CCl₄ grubu, CCl₄ doğal iyileşme grubu ve küratif grupta çok önemli düzeyde artış ($p < 0,001$) bulunurken, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 4.4, Şekil 4.4).

Tablo 4.4. Kontrol ve deney gruplarının serum alanin amino transferaz (ALT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	ALT (U/l) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	70,71 ± 6,24	78,78	0,000		***	ns	***	***	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	117,71 ± 26,56			***		***	***	*	**
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	78,86 ± 16,23			ns	***		***	**	*
4	CCl ₄ Grubu	7	201,00 ± 9,74			***	***	***		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	101,00 ± 8,92			***	*	**	***		ns
6	Küratif Grup	7	96,43 ± 7,28			***	**	*	***	ns	

*p< 0,05 **p<0,01 ***p<0,001



Şekil 4.4. Kontrol ve deney gruplarının serum alanin amino transferaz (ALT) değerleri

4.2.3 Serum Alkalen Fosfataz (ALP) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular Ve İstatistiksel Değerlendirme

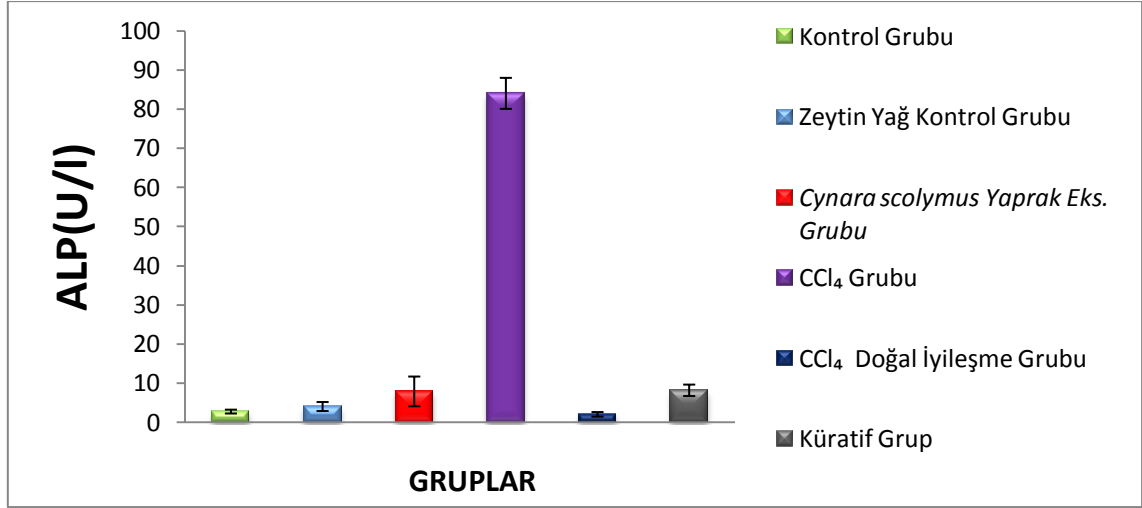
Serum ALP düzeyi, kontrol grubunda $2,71 \pm 0,49$ U/l, zeytin yağ kontrol grubunda $4,00 \pm 1,15$ U/l, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $7,86 \pm 3,80$ U/l, CCl₄ grubunda $84,00 \pm 3,96$ U/l, CCl₄ doğal iyileşme grubunda $2,00 \pm 0,58$ U/l ve küratif grupta $8,14 \pm 1,46$ U/l bulundu.

Serum ALP düzeyleri bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda zeytin yağ kontrol ve CCl₄ doğal iyileşme grubunda fark bulunmazken ($p > 0,05$); *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı, CCl₄ ve küratif gruplarında çok önemli düzeyde artış ($p < 0,001$) bulundu (Tablo 4.5, Şekil 4.5).

Tablo 4.5. Kontrol ve deney gruplarının serum alkaleen fosfataz (ALP) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	ALP(U/l) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	2,71 ± 0,49	1182	0,000		ns	***	***	ns	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	4,00 ± 1,15			ns		**	***	ns	**
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	7,86 ± 3,80			***	**		***	***	ns
4	CCl ₄ Grubu	7	84,00 ± 3,96			***	***	***		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	2,00 ± 0,58			ns	ns	***	***		***
6	Küratif Grup	7	8,14 ± 1,46			***	**	ns	***	***	

* p<0,05 ** p<0,01 ***p<0,001



Şekil 4.5. Kontrol ve deney gruplarının serum alkaleen fosfataz (ALP) değerleri

4.2.4 Serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme

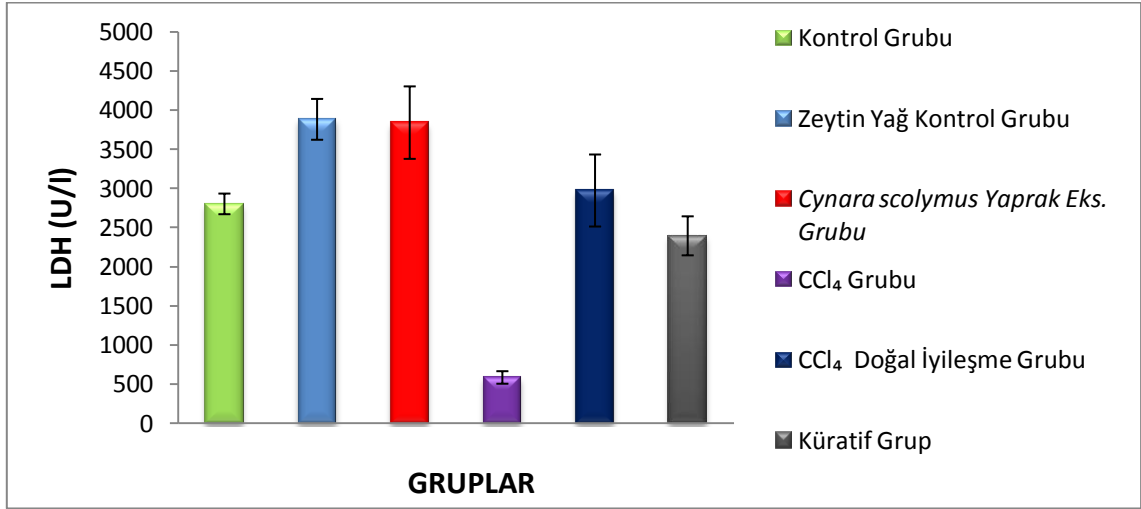
Serum LDH düzeyi, kontrol grubunda 2806 ± 132 U/l, zeytin yağ kontrol grubu'nda 3886 ± 261 U/l, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda 3844 ± 463 U/l, CCl₄ grubunda 589 ± 80 U/l, CCl₄ doğal iyileşme grubunda 2977 ± 460 U/l ve küratif grupta 2398 ± 249 U/l bulundu.

Serum LDH düzeyleri bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda zeytin yağ kontrol ve *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda çok önemli düzeyde ($p < 0,001$), küratif grupta $p < 0,05$ düzeyinde artma ve CCl₄ grubunda çok önemli düzeyde azalma ($p < 0,001$) bulunurken CCl₄ doğal iyileşme grubunda fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 4.6, Şekil 4.6).

Tablo 4.6. Kontrol ve deney gruplarının serum laktat dehidrojenaz (LDH) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	LDH (U/l) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	2806 ± 132	80,85	0,000		***	***	***	ns	*
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	3886 ± 261			***		ns	***	***	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	3844 ± 463			***	ns		***	***	***
4	CCl ₄ Grubu	7	589 ± 80			***	***	***		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	2977 ± 460			ns	***	***	***		**
6	Küratif Grup	7	2398 ± 249			*	***	***	***	**	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4.6. Kontrol ve deney gruplarının serum laktat dehidrojenaz (LDH) değerleri

4.3 KAN DEĞERLERİNE AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

4.3.1 Hemoglobin

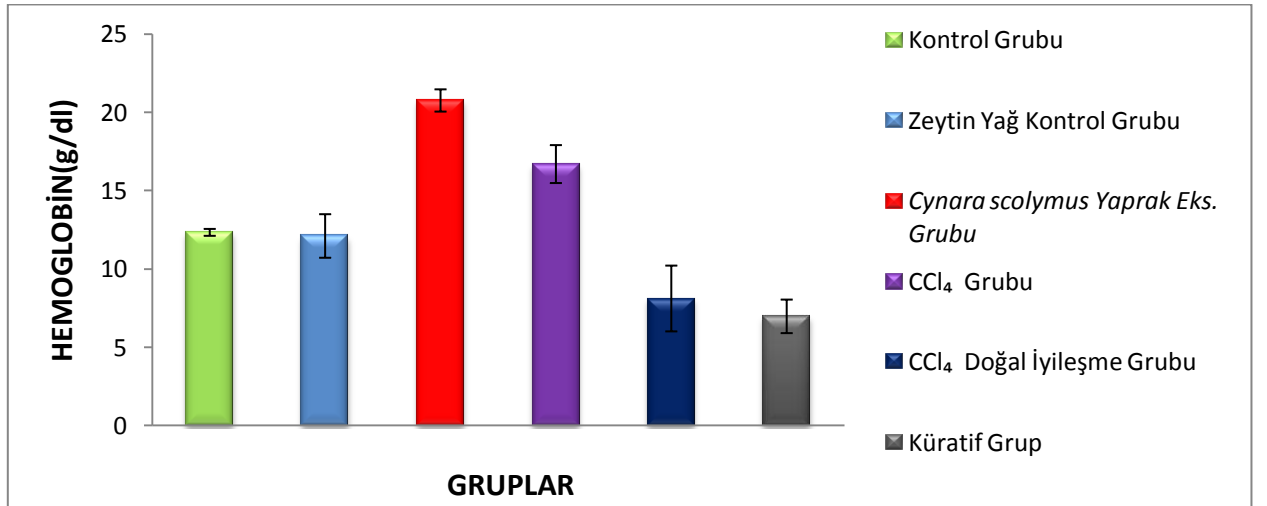
Kan hemoglobin düzeyi, kontrol grubunda $12,34 \pm 0,22$ g/dl, zeytin yağ kontrol grubunda $12,11 \pm 1,39$ g/dl, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $20,76 \pm 0,71$ g/dl, CCl₄ grubunda $16,70 \pm 1,21$ g/dl, CCl₄ doğal iyileşme grubunda $8,12 \pm 2,10$ g/dl ve küratif grupta $6,98 \pm 1,07$ g/dl bulundu.

Hemoglobin düzeyi bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda zeytin yağ grubunda fark bulunmazken ($p > 0,05$), *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve CCl₄ grubunda çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) artış bulundu. CCl₄ doğal iyileşme grubu ve küratif grup hemoglobin değerlerinin kontrol grubuna göre çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) azaldığı bulundu (Tablo 4.6, Şekil 4.6).

Tablo 4.7. Kontrol ve deney gruplarının hemoglobin değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup no	Gruplar	n	HEMOGLOBİN (g/dl) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	12,34 ± 0,22	140,52	0,000		ns	***	***	***	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	12,11 ± 1,39			ns		***	***	***	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	20,76 ± 0,71			***	***		***	***	***
4	CCl ₄ Grubu	7	16,70 ± 1,21			***	***	***		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	8,12 ± 2,10			***	***	***	***		ns
6	Küratif Grup	7	6,98 ± 1,07			***	***	***	***	ns	

* p< 0,05 ** p<0,01 ***p<0,001



Şekil 4. 7. Kontrol ve deney gruplarının hemoglobin değerleri

4.4 HEMOLİZATA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

4.4.1 Hemolizatta SOD Aktivitesi

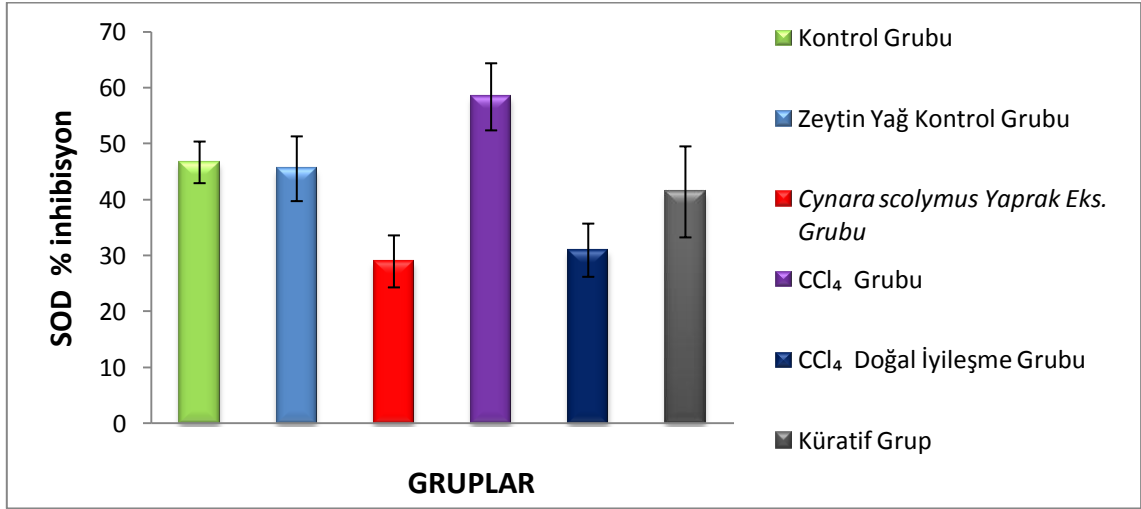
SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda $46,71 \pm 3,72$, zeytin yağ kontrol grubunda $45,57 \pm 5,79$, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $29,00 \pm 4,65$, CCl_4 grubunda $58,43 \pm 6,00$, CCl_4 doğal iyileşme grubunda $31,00 \pm 4,76$ ve küratif grupta $41,43 \pm 8,14$ bulundu.

SOD % inhibisyonu bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda zeytin yağ kontrol ve küratif grupta önemli bir fark bulunmazken ($p > 0,05$), *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve CCl_4 doğal iyileşme grubunda çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) azalma, CCl_4 grubunda çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) artma bulundu (Tablo 4.8, Şekil 4.8).

Tablo 4.8. Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta SOD % inhibisyonu ve bunların istatistiksel değerlendirmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD (%) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	$46,71 \pm 3,72$	32,76	0,000		ns	***	***	***	ns
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	$45,57 \pm 5,79$			ns		***	***	***	ns
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	$29,00 \pm 4,65$			***	***		***	ns	***
4	CCl_4 Grubu	7	$58,43 \pm 6,00$			***	***	***		***	***
5	CCl_4 Doğal İyileşme Grubu	7	$31,00 \pm 4,76$			***	***	ns	***		***
6	Küratif Grup	7	$41,43 \pm 8,14$			ns	ns	***	***	***	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4. 8. Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta SOD % inhibisyonu

4.4.2 Hemolizatta KAT Aktivitesi

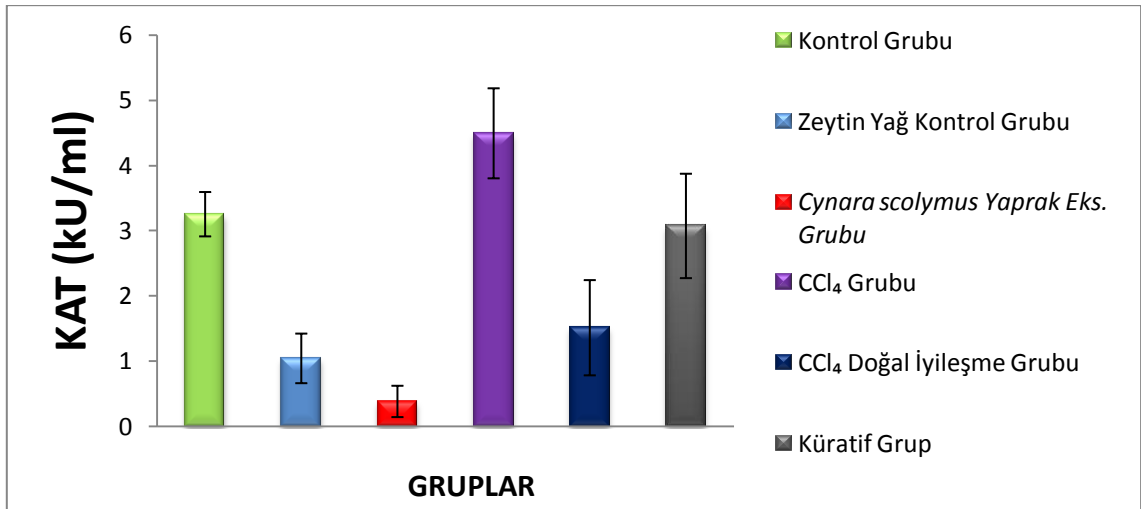
Hemolizatta KAT aktivitesi, kontrol grubunda $3,25 \pm 0,34$ kU/ml, zeytin yağ kontrol grubunda $1,04 \pm 0,38$ kU/ml, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $0,38 \pm 0,24$ kU/ml, CCl₄ grubunda $4,49 \pm 0,69$ kU/ml, CCl₄ doğal iyileşme grubunda $1,51 \pm 0,73$ kU/ml ve küratif grupta $3,07 \pm 0,80$ kU/ml bulundu.

Katalaz aktivitesi bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda küratif grupta fark bulunmazken ($p > 0,05$), zeytin yağ kontrol, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve CCl₄ doğal iyileşme grubu katalaz aktivitelerinde çok önemli düzeyde azalma ($p < 0,001$), CCl₄ grubu katalaz aktivitesinde ise çok önemli düzeyde artma ($p < 0,001$) belirlendi (Tablo 4.9, Şekil 4.9).

Tablo 4.9. Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta katalaz aktivitesi değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (kU/ml) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	3,25± 0,34	43,60	0,000		***	***	***	***	ns
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	1,04 ± 0,38			***		*	***	ns	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	0,38 ± 0,24			***	*		***	**	***
4	CCl ₄ Grubu	7	4,49 ± 0,69			***	***	***		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	1,51± 0,73			***	ns	**	***		***
6	Küratif Grup	7	3,07 ± 0,80			ns	***	***	***	***	

* p< 0,05 ** p<0,01 ***p<0,001



Şekil 4. 9. Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta katalaz aktivitesi değerleri

4.4.3 Hemolizatta MDA Düzeyi

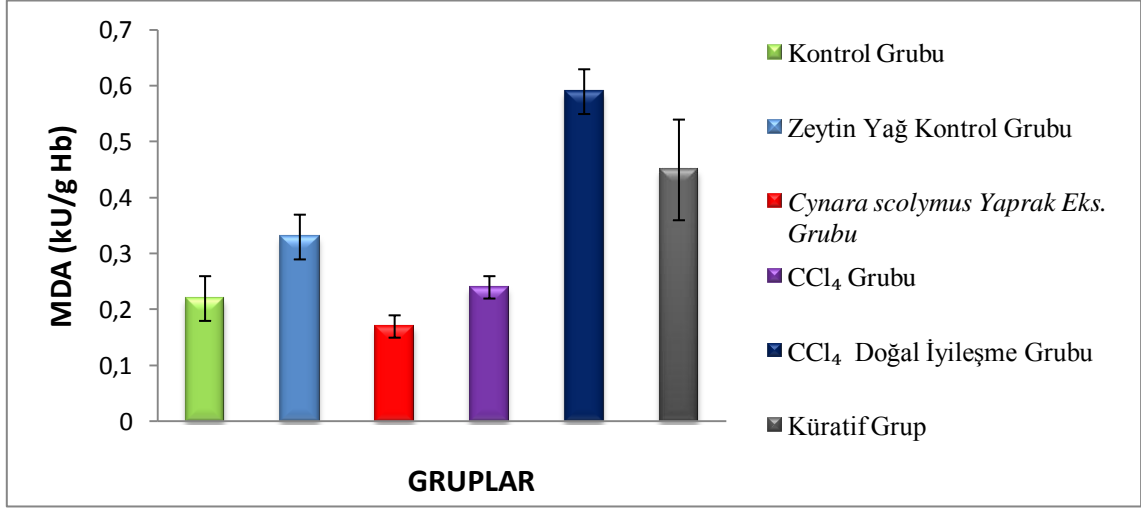
Hemolizatta MDA düzeyi, kontrol grubunda $0,22 \pm 0,04$ kU/g Hb, zeytin yağ kontrol grubunda $0,33 \pm 0,04$ kU/g Hb, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $0,17 \pm 0,02$ kU/g Hb, CCl₄ grubunda $0,24 \pm 0,02$ kU/g Hb, CCl₄ doğal iyileşme grubunda $0,59 \pm 0,04$ kU/g Hb ve küratif grupta $0,45 \pm 0,09$ kU/g Hb bulundu.

MDA düzeyleri bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda CCl₄ grubunda fark bulunmazken ($p > 0,05$), zeytin yağ kontrol, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grupta çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) artış bulundu. *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda ise $p < 0,05$ düzeyinde azalma bulundu (Tablo 4.10, Şekil 4.10).

Tablo 4.10. Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (kU/g Hb) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	$0,22 \pm 0,04$	62,23	0,000		***	*	ns	***	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	$0,33 \pm 0,04$			***		***	**	***	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	$0,17 \pm 0,02$			*	***		**	***	***
4	CCl ₄ Grubu	7	$0,24 \pm 0,02$			ns	**	**		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	$0,59 \pm 0,04$			***	***	***	***		**
6	Küratif Grup	7	$0,45 \pm 0,09$			***	***	***	***	**	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4. 10. Kontrol ve deney gruplarının hemolizatta MDA değerleri

4.5 KARACİĞER HOMOJENATINA AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

4.5.1 Karaciğer Homojenatında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

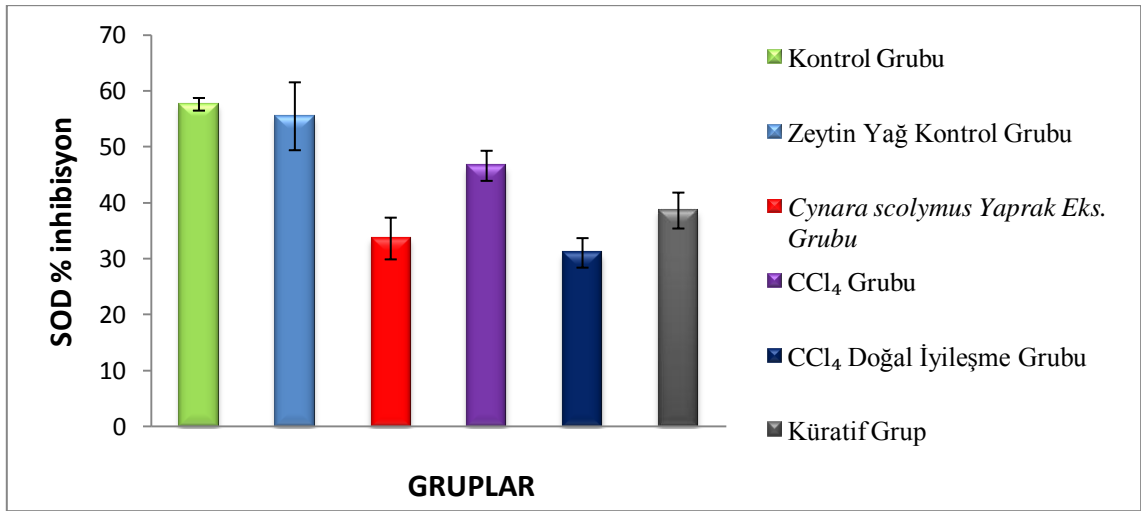
SOD % inhibisyonu, kontrol grubunda $57,57 \pm 1,13$, zeytin yağ kontrol grubunda $55,43 \pm 6,07$, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $33,57 \pm 3,73$, CCl₄ grubunda $46,57 \pm 2,69$, CCl₄ doğal iyileşme grubunda $31,00 \pm 2,64$ ve küratif grupta $38,57 \pm 3,21$ bulundu.

SOD % inhibisyonu bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda zeytin yağ kontrol grubunda fark bulunmazken ($p > 0,05$) diğer gruplarda çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) azalma bulundu (Tablo 4.11, Şekil 4.11).

Tablo 4.11. Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	SOD % inhibisyon Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	57,57 ± 1,13	71,66	0,000		ns	***	***	***	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	55,43 ± 6,07			ns		***	***	***	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	33,57 ± 3,73			***	***		***	ns	*
4	CCl ₄ Grubu	7	46,57 ± 2,69			***	***	***		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	31,00 ± 2,64			***	***	ns	***		***
6	Küratif Grup	7	38,57 ± 3,21			***	***	*	***	***	

* p< 0,05 ** p<0,01 ***p<0,001



Şekil 4. 11. Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında SOD % inhibisyon değerleri

4.5.2 Karaciğer Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesi

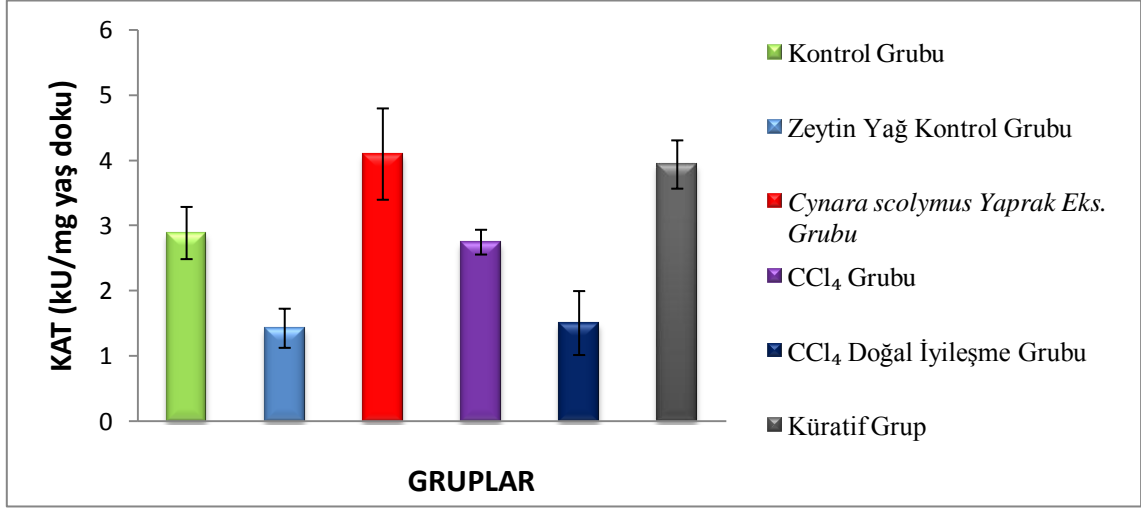
Karaciğer homojenatında KAT aktivitesi, kontrol grubunda $2,89 \pm 0,40$ kU/mg yaş doku, zeytin yağ kontrol grubunda $1,43 \pm 0,30$ kU/mg yaş doku, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $4,10 \pm 0,70$ kU/mg yaş doku, CCl_4 grubunda $2,75 \pm 0,19$ kU/mg yaş doku, CCl_4 doğal iyileşme grubunda $1,51 \pm 0,49$ kU/mg yaş doku ve küratif grupta $3,94 \pm 0,37$ kU/mg yaş doku olarak bulundu.

Katalaz aktivitesi bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda zeytin yağ kontrol ve CCl_4 doğal iyileşme grubunda çok önemli düzeyde azalma ($p < 0,001$) bulunurken, küratif grupta çok önemli ($p < 0,001$) ve *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda önemli düzeyde ($p < 0,01$) artma bulundu. CCl_4 grubunda fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 4.12, Şekil 4.12).

Tablo 4.12. Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında katalaz (KAT) değerleri ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	KAT (kU/mg yaş doku) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	$2,89 \pm 0,40$	53,07	0,000		***	**	ns	***	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	$1,43 \pm 0,30$			***		***	***	ns	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	$4,10 \pm 0,70$			***	***		***	***	ns
4	CCl_4 Grubu	7	$2,75 \pm 0,19$			ns	***	***		***	***
5	CCl_4 Doğal İyileşme Grubu	7	$1,51 \pm 0,49$			***	ns	***	***		***
6	Küratif Grup	7	$3,94 \pm 0,37$			***	***	ns	***	***	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



Şekil 4. 12. Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında Katalaz (KAT) değerleri

4.5.3 Karaciğer Homojenatında Malondialdehit (MDA) Düzeyi

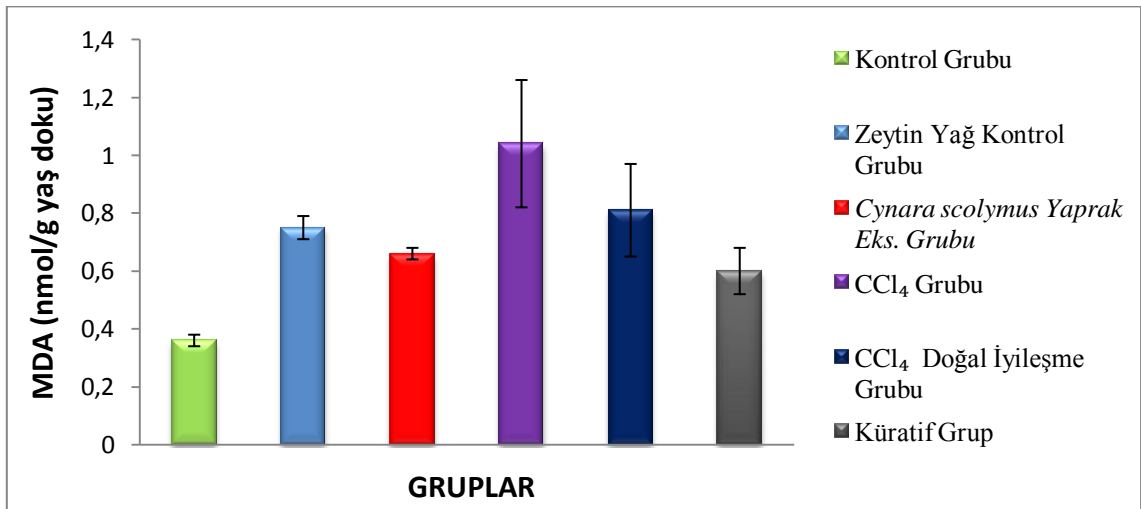
Karaciğer homojenatında MDA düzeyi, kontrol grubunda $00,36 \pm 0,02$ nmol/g yaş doku, zeytin yağ kontrol grubunda $0,75 \pm 0,04$ nmol/g yaş doku, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $0,66 \pm 0,02$ nmol/g yaş doku, CCl₄ grubunda $1,04 \pm 0,22$ nmol/g yaş doku, CCl₄ doğal iyileşme grubunda $0,81 \pm 0,16$ nmol/g yaş doku ve küratif grupta $0,60 \pm 0,08$ nmol/g yaş doku olarak bulundu.

MDA düzeyi bakımında grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda tüm gruplarda çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) artış bulundu (Tablo 4.13, Şekil 4.13).

Tablo 4.13 Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında malondialdehit (MDA) düzeyi ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	MDA (nmol/g yaş doku) Ortalama ± Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	0,36 ± 0,02	30,00	0,000		***	***	***	***	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	0,75 ± 0,04			***		ns	***	ns	*
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	0,66 ± 0,02			***	ns		***	*	ns
4	CCl ₄ Grubu	7	1,04 ± 0,22			***	***	***		***	***
5	CCl ₄ Doğal İyileşme Grubu	7	0,81 ± 0,16			***	ns	*	***		**
6	Küratif Grup	7	0,60 ± 0,08			***	*	ns	***	**	

* p< 0,05 ** p<0,01 ***p<0,001



Şekil 4.13 Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında Malondialdehit (MDA) Düzeyi

4.6 DNA FRAGMENTASYONU

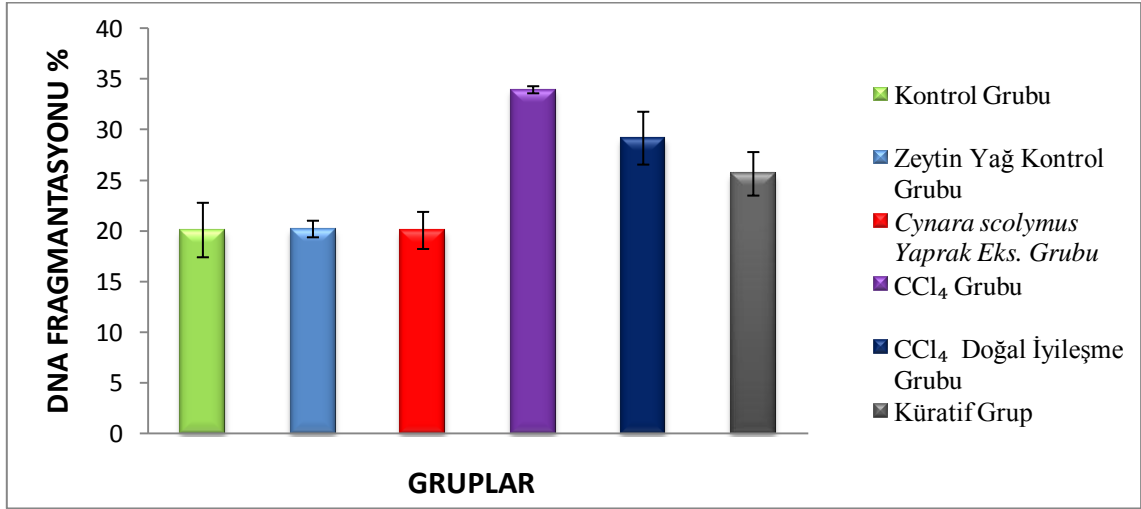
Karaciğer dokusunda ölçülen DNA fragmentasyonu yüzdesi, kontrol grubunda $20,11 \pm 2,69$, zeytin yağ kontrol grubunda $20,21 \pm 0,82$, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda $20,07 \pm 1,83$, CCl_4 grubunda $33,96 \pm 0,35$, CCl_4 doğal iyileşme grubunda $29,18 \pm 2,61$ ve küratif grupta $25,66 \pm 2,15$ olarak bulundu.

DNA fragmentasyonu %' si bakımında grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda zeytin yağ kontrol ve *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda fark bulunmazken ($p > 0,05$); CCl_4 , CCl_4 doğal iyileşme ve küratif grupta çok önemli düzeyde ($p < 0,001$) artış bulundu (**Tablo 4.14, Şekil 4.14**).

Tablo 4.14. Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında DNA fragmentasyonu yüzdesi ve bunların istatistiksel değerlendirilmeleri

Grup no	Gruplar	n	DNA fragmentasyonu (%) Ortalama \pm Standart sapma	F	p	Çoklu Karşılaştırma					
						1	2	3	4	5	6
1	Kontrol Grubu	7	$20,11 \pm 2,69$	53,40	0,000		ns	ns	***	***	***
2	Zeytin Yağ Kontrol Grubu	7	$20,21 \pm 0,82$			ns		ns	***	***	***
3	<i>Cynara scolymus</i> Yaprak Eks. Grubu	7	$20,07 \pm 1,83$			ns	ns		***	***	**
4	CCl_4 Grubu	7	$33,96 \pm 0,35$			***	***	***		***	***
5	CCl_4 Doğal İyileşme Grubu	7	$29,18 \pm 2,61$			***	***	***	***		**
6	Küratif Grup	7	$25,66 \pm 2,15$			***	***	***	***	**	

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$



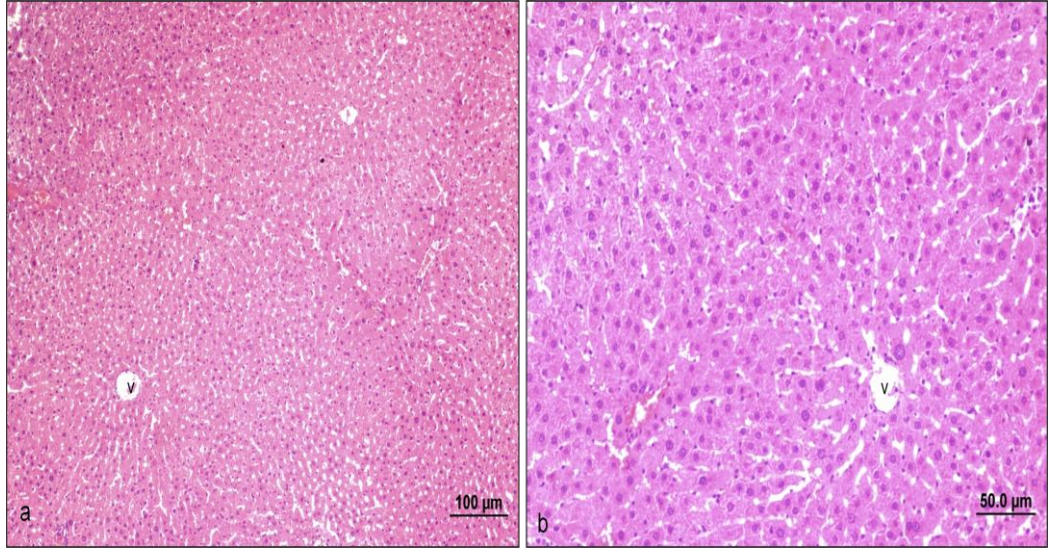
Şekil 4. 14. Kontrol ve deney gruplarının karaciğer homojenatında DNA fragmentasyonu yüzdesi

4.7 KARACİĞERDE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Çalışmamızdaki karaciğer doku örnekleri H&E boyama yöntemi ile incelenerek, patolojik değişiklikler 1 / 2 / 3 pozitif (+ / ++ / +++) olarak değerlendirildi.

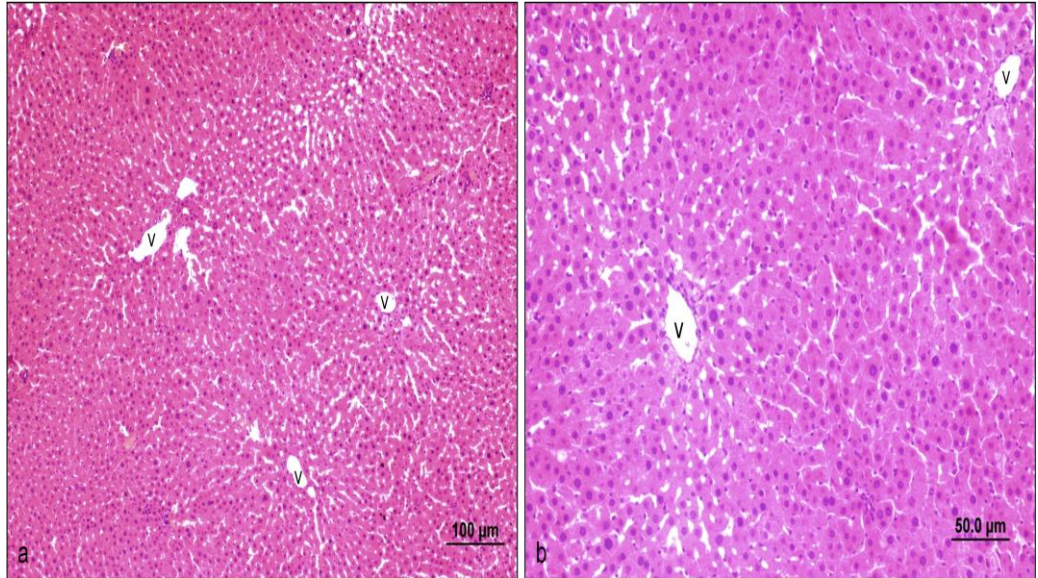
Çalışmamızda tüm gruplar, nekroz, sinüzoidal dilatasyon, konjesyon, inflamasyon, hücresel hasar, vakuolizasyon, hipertrofik hücreler ve hücre nükleusları oluşumu bakımından değerlendirilmiştir.

Kontrol grubuna ait karaciğer örnekleri nekroz, sinüzoidal dilatasyon, konjesyon, inflamasyon, hücresel hasar, vakuolizasyon, hipertrofik hücreler ve hücre nükleusları oluşumu bakımından değerlendirilmiş olup, karaciğerlerde hasar tespit edilmemiştir. Karaciğerlerde normal parankimal yapı gözlenmiştir. Hepatositler vena sentralis çevresinde olup, portal alanlarda ve terminal venlerde değişimler bulunmamaktadır(Şekil 4.15).

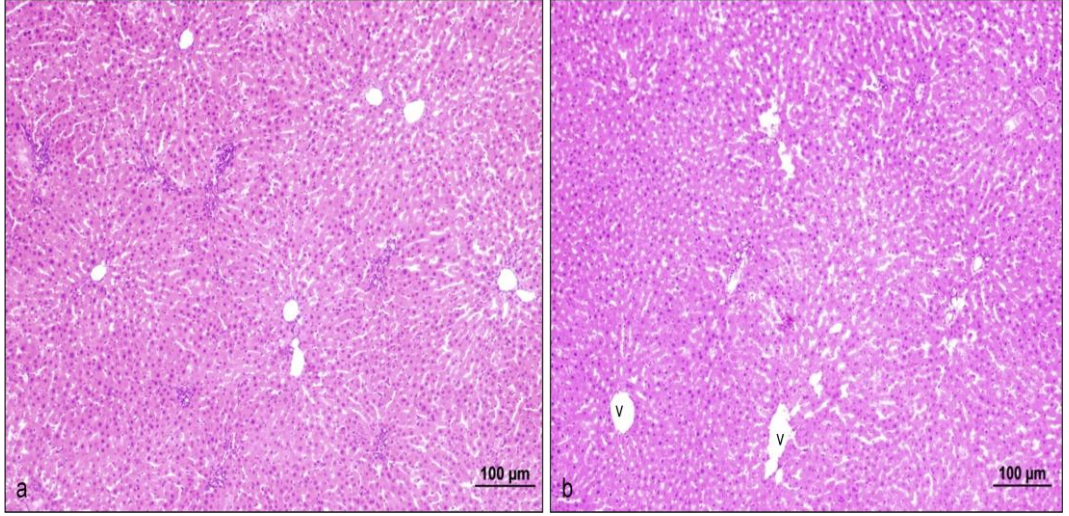


Şekil 4. 15. Kontrol grubuna ait normal görünüme sahip karaciğer yapısı görülmektedir (v; vena sentralis, HE, a X10, b X20).

Zeytin yağ kontrol ve *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı gruplarının karaciğer kesitlerinde kontrol grubuna benzer bulgular bulundu (**Şekil 4.16** **şekil 4.17**).



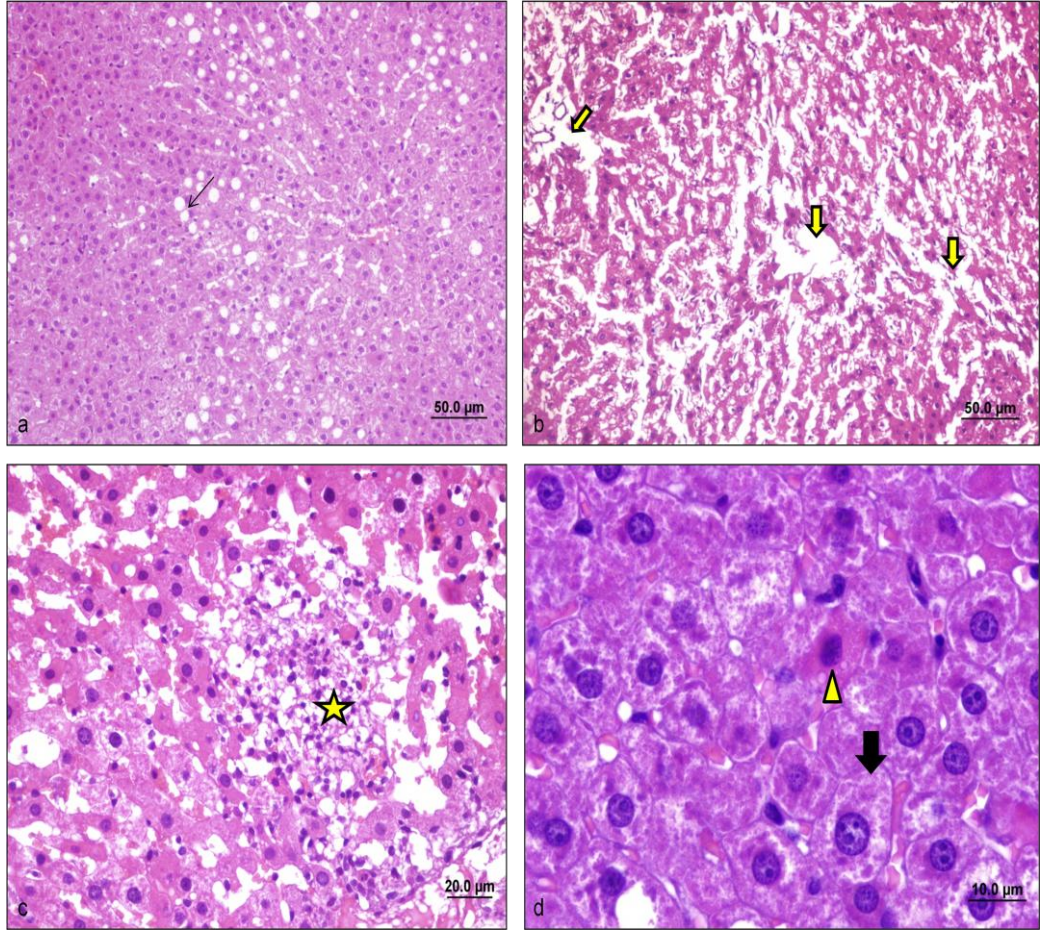
Şekil 4.16. Zeytin Yağ Grubu'na ait normal görünüme sahip karaciğer yapısı görülmektedir (v; vena sentralis, HE, ,a X10, b X20)



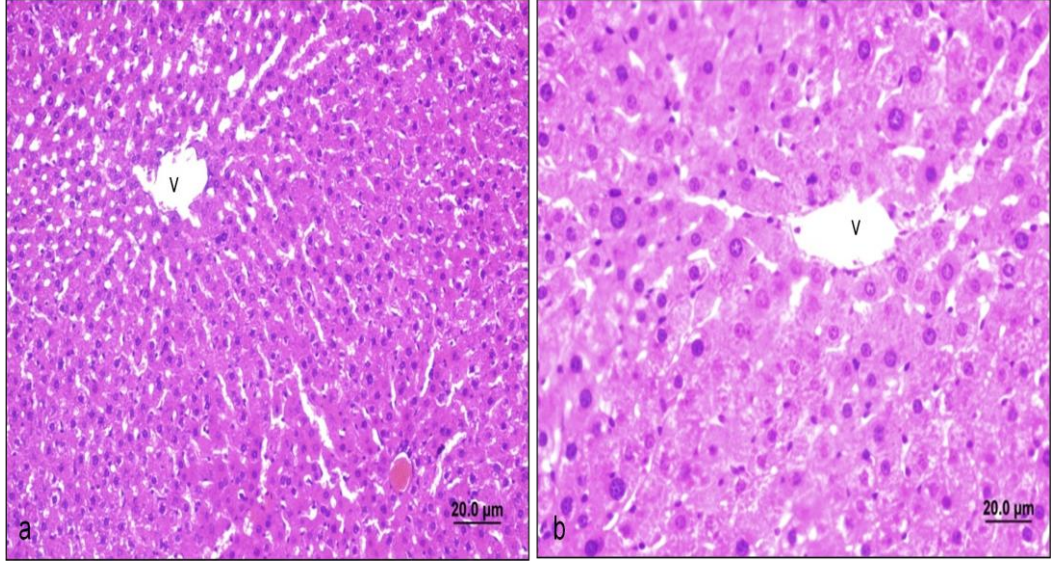
Şekil 4.17. *Cynara scolymus* yaprak ekstrakt grubuna ait vena sentralis yapısı (v), portal alanları ve hepatosit hücreleriyle birlikte normal görünümlü karaciğer yapısı görülmektedir (a,b) (HE, X10).

CCl₄ kontrol grubunda çok önemli karaciğer hasarı gözlenmiştir. Parankimal yapıda düzensizlik gözlenmiş olup, klasik lobül yapısı ayırt edilememektedir. Hepatosit hücrelerinde sinüzoidal dilatasyon (++), konjesyon (+), inflamasyon (++), yoğun dejenerasyon, vakuolizasyon, nodüler tarzda hücresel hasar, eozinofilik sitoplazmalı, piknotik nükleuslu nekrotik hücreler ve hipertrofik hücre yapıları (++++) gözlenmektedir (**Şekil 4.18**).

CCl₄ doğal iyileşme grubunda sinüzoidal dilatasyon (+), inflamasyon (+) konjesyon (+) ve hücresel hasar (+) gözlenmiştir (**Şekil 4.19**).

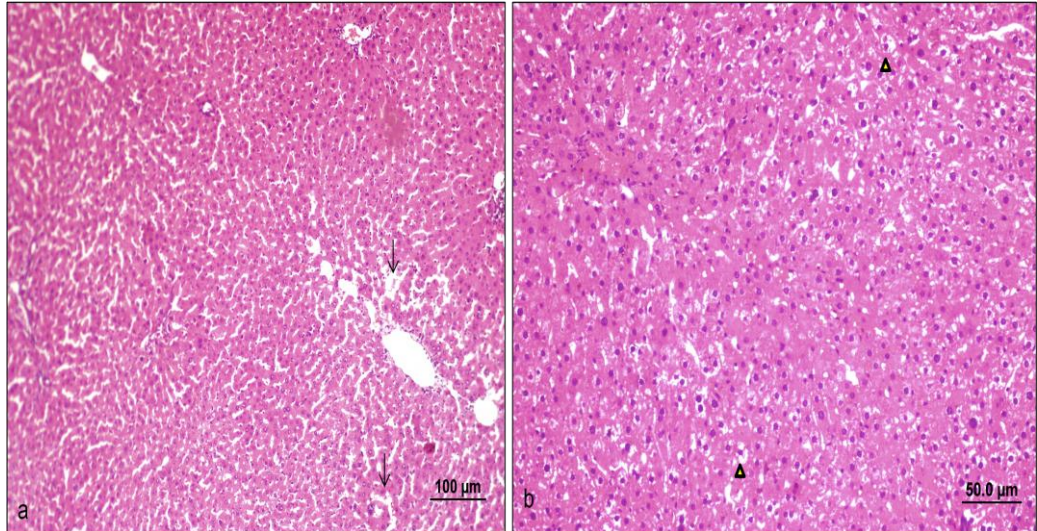


Şekil 4.18. CCl_4 grubuna ait karaciğerde hepatosit hücrelerinde gözlenen vakuolizasyon (ince ok) (a) (HE, X20)sinüzoidal dilatasyon (sarı ok) (b,c) ve remark hücre kordonlarında yoğun dejenerasyon, nodüler tarzda hüresel hasar (*) (c) ve eozinofilik sitoplazmalı, piknotik nükleuslu nekrotik hücreler (ok başı) ve hipertrofik hücre yapıları (siyah ok) (d) görülmektedir (HE, X40,100).



Şekil 4.19. CCl₄ Doğal İyileşme Grubu'na ait normale yakın karaciğer yapısı görülmektedir (a,b) (v; vena sentralis, HE, a X20, b X40).

Küratif Grup hepatosit hücrelerinde kısmi dejenerasyon (+), konjesyon (+) ve perisentral alanda sinüzoidal dilatasyon (+) görülmektedir (**Şekil 4.20**).



Şekil 4.20. Küratif Gruba ait karaciğer hepatosit hücrelerinde kısmi dejenerasyon (ok başı) ve perisentral alanda sinüzoidal dilatasyon (ok) görülmektedir (a,b) (HE, a X10,b X20).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, CCl₄ hasarı oluşturulan sıçanlarda *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının vücut ağırlıkları, aspartat aminotransferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), hemoglobin, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA) düzeyi, DNA fragmentasyonu yüzdesi ve H&E boyama yöntemi ile incelenen karaciğer doku örneklerinde patolojik değişiklikler olansinüzoidal dilatasyon, konjesyon, inflamasyon, hücresel hasar, vakuolizasyon, hücre nükleuslarına ve nekroza olan etkileri sırasıyla karşılaştırılıp, tartışılacaktır.

5.1 SIÇAN VÜCUT AĞIRLIKLARI

5.1.1 Sıçan Vücut Ağırlıkları

Kontrol ve zeytin yağ kontrol grubundaki sıçan vücut ağırlıkları süreye paralel olarak çok önemli düzeyde artmıştır. Bununla birlikte *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı, CCl₄, ve CCl₄ doğal iyileşme grubu sıçan vücut ağırlıkları süreye bağlı olarak çok önemli düzeyde azalırken küratif grup sıçan vücut ağırlıklarında da önemli düzeyde azalma belirlenmiştir. Sonuç olarak, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı tedavisinin CCl₄ ile indüklenen karaciğer hasarında sıçan vücut ağırlıkları üzerine etkisinin olduğu ve ağırlık kaybının bu tedavi kullanılması sonucunda daha az olduğu belirlendi. Ayrıca, *Cynara scolymus* L. yaprağı ekstraktı grubundaki vücut ağırlığındaki düşüşün idrar söktürücü özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda, CCl₄ ile indüklenen karaciğer hasarına sahip sıçanların vücut ağırlıklarında azalma olduğu belirtilmiştir (1, 97). Adewole S.O ve arkadaşlarının karbon tetraklorid ile indüklenmiş böbrek hasarı üzerine melatonin in etkisinin araştırıldığı çalışmada CCl₄ uygulamasının sıçanlarda ağırlık kaybına sebep olduğu belirtilmiştir (1). Bu sonuçlar bizim bulgularımızla uygunluk göstermektedir.

5.1.2 Sıçan Vücut Ağırlıkları Farkı

Kontrol grupları diğer gruplarla karşılaştırıldığında zeytin yağ kontrol grubunda bir fark bulunmazken; CCl₄, CCl₄ doğal iyileşme, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve küratif grup sıçan vücut ağırlık farklarında çok önemli düzeyde azalma bulunmuştur. Sıçanlarda CCl₄ ile oluşturulmuş karaciğer hasarında yüksek oranlara varan ağırlık kayıpları belirlenmiştir (1, 97). Elde ettiğimiz sonuçlar literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir. *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının karaciğer hasarı tedavi edici özelliğinin vücut ağırlıkları üzerine etkileri ile ilgili literatüre rastlanmamıştır.

5.2 SERUM DEĞERLERİNE AİT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

Karaciğer fonksiyon bozukluğu karaciğer fonksiyon testleri ile belirlenmektedir. Birçok enzimin ölçümü ile gerçekleştirilen bu değerlendirme karaciğerdeki hücre hasarı ve kolestaz hakkında da bilgi vermektedir. Karaciğer hastalıklarını değerlendirmekte kullanılan bu testler karaciğer hastalığını, hastalığın tedavisini takip etmek ve karaciğer rezervini ölçmek için de kullanılabilir. Çalışmamızda, karaciğer fonksiyonları; ALT, AST, LDH ve ALP ile değerlendirilmiştir.

5.2.1 Serum AST Enzim Aktivitesi

Kontrol Grubu ile karşılaştırıldığında zeytin yağ kontrol, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve CCl₄ gruplarında AST enzim aktivitesinde çok önemli düzeyde artış bulunurken, küratif grupta fark bulunmadı. CCl₄ doğal iyileşme grubu AST enzim aktivitesinde diğer grup AST enzim aktivitelerinden daha az olmakla birlikte artış belirlendi. Küratif grupta AST enzim aktivitesinde kontrol grubu ile fark bulunmaması ve CCl₄ grubuna göre çok anlamlı bir şekilde düşük olması doku hasarının bu grupta daha az olduğunu göstermektedir. Serum AST aktiviteleri bakımından yapılan çalışmalarda

dokuların hasar görmesi sonucunda AST' nin sistemik dolaşıma katıldığı ve serum aktivitelerinde artış olduğu belirtilmektedir. Ayrıca CCl₄ uygulanmış sıçanlarla yapılan deneylerde bu grupların AST enzim aktivitelerinin kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (27, 36, 62, 65, 95). CCl₄ ile indüklenen karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda *Cynara scolymus* yaprak ekstraktının karaciğer üzerine koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada, tek başına yaprak ekstraktının kullanımının AST aktivitesinde değişikliğe sebep olmadığı, CCl₄ uygulaması sonrasında AST seviyesinde 63 kat artış olduğu; CCl₄ uygulaması öncesinde *Cynara* ekstraktı kullanımının AST aktivitesinde azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir (55). Benzer şekilde, Göker ve Özmen' in (2007) sıçanlarda ısırgan otu (*Urtica dioica* L.) yaprağı ile beslenmenin akut karbon tetraklorid uygulamasına bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisinin olduğu ve AST enzim aktivitesinin CCl₄ uygulanan grupta anlamlı şekilde yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (27). Ayrıca bu çalışmada ısırgan otunun kullanılmasının AST aktivitesini anlamlı şekilde düşürdüğü belirtilmiştir (27). Aynı şekilde Xu ve arkadaşlarının (2009) yaptığı bir çalışmada da CCl₄ uygulamasının AST aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir. Yine bu çalışmada, CCl₄'ün CCl₃• serbest radikaline dönüşmesi sonucunda CCl₃• hücre zarı yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlattığı ve zar yapısının bozulması nedeni ile AST, ALT gibi enzimlerin sistemik dolaşıma katıldığı ve bu durumlarda serum aktivitelerinde artma görüldüğü belirtilmiştir(101). Bu sonuçlar bizim bulgularımızla uygunluk göstermektedir.

5.2.2 Serum ALT Enzim Aktivitesi

Çalışmamızda serum ALT enzim aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; zeytin yağ kontrol grubu, CCl₄ grubu, CCl₄ doğal iyileşme grubu ve küratif grupta çok önemli düzeyde artış bulunurken, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda fark bulunmadı. Sonuç olarak *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının kullanıldığı küratif grupta ALT enzim aktivitesinde CCl₄ grubuna göre çok anlamlı bir şekilde düşük olması doku hasarının bu grupta daha az olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda; CCl₄ kullanılarak oluşturulmuş karaciğer hasarında serum ALT aktivitelerinin arttığı ve artan

serum ALT aktivitesinin karaciğer hasarına karşı daha spesifik olduğu belirtilmiştir (24, 27, 34, 62, 97, 101). Farklı doz ve yöntemlerin karşılaştırılması için yapılan bir çalışmada, CCl₄' ün intraperitonel olarak uygulanmasının serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinde artışa sebep olduğu belirtilmiştir (36). CCl₄ ile indüklenen karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda *Cynara scolymus* yaprak ekstraktının karaciğer üzerine koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada, tek başına yaprak ekstraktının kullanımının ALT aktivitesinde değişikliğe sebep olmadığı, CCl₄ uygulaması sonrasında ALT aktivitesinde 32 kat artış olduğu; CCl₄ uygulaması öncesinde *Cynara* ekstraktı kullanımının ALT aktivitelerinde azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir (55). Aynı şekilde Speroni E. ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları çalışmada CCl₄ uygulaması öncesinde *Cynara* ekstraktı kullanımının AST ve ALT aktivitelerindeki artışı azaltarak normal seviyede tuttukları belirtilmiştir (86). Bu sonuçlar, çalışmamızda tespit ettiğimiz ALT aktivitesinde artışı ile paralellik göstermektedir. Karaciğer hasarını tedavi edilmesi amacı ile *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı kullanımının ALT düzeyine olan etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlayamadığımızdan bunlarla ilgili karşılaştırma yapılamamıştır.

5.2.3 Serum ALP Enzim Aktivitesi

Çalışmamızda ALP aktivite düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, zeytin yağ kontrol ve CCl₄ doğal iyileşme grubunda fark bulunmazken; *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı, CCl₄ ve küratif gruplarında çok önemli düzeyde artış bulundu. CCl₄ grubu ile doğal iyileşme grubu ve küratif grup karşılaştırıldığında ise ALP aktivitelerinin çok önemli düzeyde azalma tespit edildi. Bu bulgular ALP aktivitesinin karaciğer hasarı onarımının başlaması ile kontrol seviyesine döndüğünü göstermektedir. Yapılan çalışmalarda CCl₄ kullanılarak oluşturulmuş karaciğer hasarında serum alkalin fosfataz (ALP) aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (24, 27,36, 62, 65, 97, 101). Verilen bu bilgiler bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

5.2.4 Serum LDH Enzim Aktivitesi

Çalışmamızda LDH aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında zeytin yağ kontrol ve *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda çok önemli düzeyde artma bulunurken, CCl₄ grubunda çok anlamlı düzeyde azalma bulundu. CCl₄ doğal iyileşme grubunda fark bulunmazken, küratif grupta artma tespit edildi. CCl₄ grubu ile CCl₄ Doğal İyileşme ve küratif gruplar karşılaştırıldığında ise LDH aktivitesinde istatistiksel anlamda çok ileri düzeyde artış bulundu. Laktat dehidrogenaz (LDH) karaciğer biyokimya çalışmalarında sıklıkla kullanılan sitoplazmik bir enzimdir. LDH aktivitesinde belirgin artış, hepatosellüler nekrozda, kanserde veya hemoliz ile birlikte olan karaciğer hastalıklarında saptanabilmektedir (31). Yapılan çalışmalarda karaciğer hasarının serum AST, ALT, ALP ve LDH aktivitelerini yükselttiği belirtilmektedir (4, 31). Noyan ve arkadaşları (2006) CCl₄ uygulanmasının serum LDH seviyesini arttırdığını, melatonin ve pentoksifilin tedavisinin LDH seviyesini düşürdüğünü belirtmişlerdir (61). Bu bilgiler bizim sonuçlarımızla paralellik göstermemektedir. *Cynara scolymus* L. Yaprığı Ekstraktının LDH üzerine etkisi ile ilgili literatüre rastlanmamıştır.

5.3 Kan Değerlerine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

5.3.1 Hemoglobin

Çalışmamızda, hemoglobin değerlerinde kontrol grubuna göre, zeytin yağ grubunda fark bulunmazken, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve CCl₄ grubunda çok önemli düzeyde artış bulundu. CCl₄ doğal iyileşme grubu ve küratif grup hemoglobin değerlerinin kontrol grubuna göre çok önemli düzeyde azaldığı bulundu. CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarı ve bu hasarın *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktın tedavisinin hemoglobin üzerine etkisi ile ilgili literatüre rastlanmamıştır.

5.4 Hemolizata Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

5.4.1 Hemolizatta SOD Aktivitesi

Çalışmamızda, hemolizatta SOD % inhibisyonu bakımından grupların kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda zeytin yağ kontrol ve küratif grupta önemli bir fark bulunmazken *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve CCl₄ doğal iyileşme grubunda çok önemli düzeyde azalma, CCl₄ grubunda çok önemli düzeyde artma bulundu. CCl₄ grubuna göre CCl₄ doğal iyileştirme ve küratif grup SOD % inhibisyonunda anlamlı düzeyde azalma belirlendi. CCl₄ doğal iyileştirme grubu SOD % inhibisyonunda çok önemli düzeyde artışın bulunup, küratif grupta fark bulunmaması bu grupta aşırı miktarda serbest oksijen radikallerinin üretilmesi ve sonuç olarak CCl₄ uygulaması sonrasında tedavi edici bir antioksidan ortamda bulunmaması nedeniyle endojen antioksidan olan SOD seviyesinin azalması olarak açıklanabilir. Yapılan çalışmalarda CCl₄ uygulamasının homojenatta SOD düzeyini azalttığı bildirilmektedir (3, 15, 33, 60, 65). Ajiboye (2011) ile Cuciureanu ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışmalarda CCl₄ uygulamasının antioksidan sistemini olumsuz yönde etkileyerek, SOD düzeyini azalttığı belirtilmiştir (3, 15). Bu bilgiler sonuçlarımızla paralellik göstermemektedir. *Cynara scolymus* L. yaprağı ekstraktının SOD üzerine etkisi ile ilgili literatüre rastlanmamıştır.

5.4.2 Hemolizatta KAT Aktivitesi

Çalışmamızda, katalaz aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre, küratif grupta fark bulunmazken, zeytin yağ kontrol, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı ve CCl₄ doğal iyileşme grubu katalaz aktivitelerinde çok önemli düzeyde azalma, CCl₄ grubu katalaz aktivitesinde ise çok önemli düzeyde artma bulundu. CCl₄ grubuna göre, küratif grup ve CCl₄ doğal iyileştirme grubu katalaz aktivitesinde anlamlı düzeyde azalma tespit edildi. Bu azalma CCl₄ doğal iyileştirme grubunda daha fazla olup, küratif grupta kontrol grubu katalaz aktivitesine yakın sonuç elde edildi. Bu, CCl₄ uygulaması sonrasında tedavi edici bir antioksidanın ortamda bulunmaması nedeni ile endojen

antioksidan olan katalaz seviyesinin zamanla azaldığı ve *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının endojen bir antioksidan özellik gösterdiği şeklinde açıklanabilir. Fahmy, S.R. ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, yüksek dönüşüm hızlarından birine sahip olan katalazın, hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağladığını; lipid hidroperoksitlere etki etmeyerek, hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki ettiklerini ve bunun sonucunda da ikinci derecede sentezlenen toksik hidroksil radikallerinin temizlenmesini sağlayarak, H₂O₂'nin vücutta birikimini engellediğini belirtilmiştir (21). Ayrıca Cuciureanu ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışmada CCl₄ uygulamasının antioksidan sistemini olumsuz yönde etkileyerek, hemolizat KAT düzeyini azalttığı belirtilmiştir (15). Bu bilgiler, elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumlu değildir.

5.4.3 Hemolizatta MDA Düzeyi

Hemolizat MDA düzeyi bakımından, kontrol grubuna göre, CCl₄ grubunda fark bulunmazken, zeytin yağ kontrol, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grupta çok önemli düzeyde artış bulundu. *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda ise düzeyinde azalma bulundu CCl₄ grubuna göre, CCl₄ doğal iyileşme grubu ile küratif grupta çok önemli düzeyde artış belirlendi. Ayrıca CCl₄ doğal iyileşme grubu ile küratif grup MDA düzeyi karşılaştırıldığında *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı kullanılan küratif grup MDA düzeyinde anlamlı bir azalma tespit edildi. MDA seviyesindeki bu farklılığın sebebi küratif grupta kullanılan *Cynara scolymus* yaprak ekstraktının oluşan serbest radikalleri ortadan uzaklaştırması olarak açıklanabilir. Cuciureanu, M. ve arkadaşlarının (2009) CCl₄ karaciğer hepatoksisitesi üzerine yaptıkları çalışmada, hemolizat MDA düzeyinin arttığı bildirilmiştir (15). Devi R. ve arkadaşlarının (2010) yaptığı çalışmada da CCl₄ uygulanan gruplarda hem homojenat hem de hemolizat MDA seviyesinin arttığı ve CCl₄ uygulamasından önce gündüz sefası (*Ipomoea hederacea*) kullanımının MDA seviyesini azalttığı belirtilmiştir(18). Aktay G. ve arkadaşlarının halk arasında kullanılan ilaçların karaciğer koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada CCl₄ uygulamasından öncesinde *Cynara scolymus* yaprak Ekstraktı kullanımının lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini ve MDA düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir (6). Bu

sonuçlar, çalışmamızda tespit ettiğimiz MDA düzeyinin artışı ile paralellik göstermektedir. Karaciğer hasarını tedavi edilmesi amacı ile *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı kullanımının MDA düzeyine olan etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığından bunlarla ilgili karşılaştırma yapılamamıştır.

5.5 KARACIĞER HOMOJENATINA AIT BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELELER

5.5.1 Homojenat SOD Düzeyi

Homojenat SOD % inhibisyonu bakımından, kontrol grubu ile zeytin yağ kontrol grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı. Buna karşılık, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı, CCl₄, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grupta çok önemli düzeyde azalma belirlendi. Kontrole göre bu gruplarda SOD % inhibisyonundaki azalmanın nedeni, SOD enzim aktivitesinin ortamda aşırı miktarlarda oluşan lipid peroksitler ve reaktif oksijen türleri tarafından inhibe edilmesi gösterilebilir. Ayrıca *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı kullanımı, SOD % inhibisyonu bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığındaki azalmanın daha az olduğu belirlendi. Bu sonuç *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının CCl₄ sonucu oluşan reaktif serbest radikallerin ortamda azalmasını sağladığını düşündürmektedir. Hsiao G. ve arkadaşlarının(2001) yaptığı çalışmada süperoksit dismutaz'ın karaciğer hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (süperoksit), hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen önemli bir enzim olduğu bildirilmiştir (33). Ayrıca SOD enziminin lipid peroksitler veya reaktif oksijen türleri tarafından kolayca inaktive olduğu belirtilmiştir (33). Ajiboye T.O. (2011) ile Cuciureanu M. ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışmalarda CCl₄ uygulamasının antioksidan sistemini olumsuz yönde etkileyerek, SOD düzeyini azalttığı belirtilmiştir (3, 15). Bu bilgiler bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz SOD % inhibisyon azalması ile ilgili bulgularımızla paralellik göstermektedir. Karaciğer hasarı zerine *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının tedavi edici etkisinin daha önceden çalışılmaması nedeni ile herhangi bir karşılaştırma yapılamamıştır.

5.5.2 Homojenat KAT Düzeyi

Çalışmamızda, katalaz aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre, zeytin yağ kontrol ve CCl₄ doğal iyileşme grubunda çok önemli düzeyde azalma bulunurken, küratif grupta çok önemli ve *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı grubunda önemli düzeyde artma bulundu. CCl₄ grubunda fark bulunmadı. CCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında CCl₄ doğal iyileşme grubu katalaz aktivitesinde çok önemli düzeyde azalma bulunurken, küratif grup katalaz aktivitesinde çok önemli düzeyde artış belirlendi. Böylece, küratif grupta karaciğer hasarını tedavi edici olarak kullanılan *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının ortamdaki serbest radikallerin uzaklaştırarak ya da metabolize ederek katalaz enziminin bu radikallerden etkilenmesini azalttığı ve endojen antioksidan sistemi güçlendirdiği bu çalışma sonucunda ortaya konmuştur. Hsiao G. ve arkadaşlarının (2001) yaptığı çalışmada, katalazın karaciğer hücrelerinde hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağladığı ve bu enzimin karaciğer dokularında ksenobiyotiklerin redoks sürecinde üretilen reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasında önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (33). Ayrıca, Cuciureanu M. ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışmalarda CCl₄ uygulamasının antioksidan sistemini olumsuz yönde etkileyerek, KAT düzeyini azalttığı belirtilmiştir (15). Natarajan, S.K ve arkadaşlarının oksidatif stres ile karaciğer sirozu gelişiminde iki farklı deneysel modelin karşılaştırılmasını yaptıkları çalışmada; CCl₄ uygulamasının peroksizomlarda lipid ve protein peroksidasyonu parametrelerinde kademeli artışa sebep olurken, peroksizomlara lokalize katalaz aktivitesinde azalma olduğunu belirtmişlerdir (60). Bu sonuçlar, bizim sonucumuz ile uyumlu değildir. Ayrıca, CCl₄ ile oluşturulmuş karaciğer hasarında, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının homojenat KAT düzeyine olan etkisi ile ilgili bir literatüre rastlanmamıştır.

5.5.3 Homojenat MDA Düzeyi

Karaciğer homojenat MDA düzeyinde, kontrol grubuna göre zeytin yağ kontrol, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı, CCl₄, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grupta çok önemli düzeyde artış bulunandı. Ayrıca, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grup MDA

düzeylerinin CCl₄ grubu MDA düzeyine göre düşük olduğu belirlendi. Küratif gruptaki MDA düzeyinin CCl₄ doğal iyileşme grubu MDA düzeyine göre düşük olduğu bulundu. Bu bulgulara göre yaptığımız çalışmada; CCl₄ uygulanmasının hem CCl₄ hem de CCl₄ doğal iyileşme grubunda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyini arttırdığı belirlendi. Ayrıca küratif gruba tedavi edici olarak verilen *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının MDA seviyesinin anlamlı olarak azaltması lipid peroksidasyon düzeyinin azaldığını göstermektedir. Bu azalma, kullanılan *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının antioksidan etkisini göstererek, CCl₄'ün lipid peroksidasyonunu azaltıcı yönde etki ettiğini göstermektedir. Üstündağ B. ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışmada, CCl₄ uygulanmasının karaciğer dokusunda lipid peroksidi arttırdığı ve soy izoflavon uygulanmış grupta artmış MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü gözlenmiştir (95). Öztürk İ.Ç. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada CCl₄ uygulamasının MDA düzeyini anlamlı olarak arttırdığını, askorbik asidin karaciğer tedavi edici olarak güçlü bir antioksidan olduğu bildirilmiştir (65). Devi R. ve arkadaşlarının (2010) yaptığı çalışmada da CCl₄ uygulanan gruplarda homojenat MDA seviyesinin arttığı ve CCl₄ uygulamasından önce *Ipomoea hederacea* kullanımının MDA seviyesini azalttığı belirtilmiştir(18). Mehmetçik ve arkadaşlarının CCl₄ ile indüklenen karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının karaciğer üzerine koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada, CCl₄ uygulamasının karaciğer MDA seviyesini artırdığı; CCl₄ uygulaması öncesinde *Cynara* ekstraktı kullanımının MDA seviyesinde CCl₄ uygulanan gruba göre anlamlı bir şekilde azaldığı belirtilmiştir (55). Yapılan çalışmalarda CCl₄ ile oluşan hepatotoksisite oluşumunda, CCl₄ metabolizması sitokrom p 450 monooksijenaz sistemi ile katalizlenerek triklorometil (CCl₃•) ve Cl• radikalleri oluşturduğu ve bunun hidroksil radikallerde olduğu gibi lipid peroksidasyonunu başlattığı ve gruplarda lipid peroksidasyon artışının belirlenmesinde lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyi kullanıldığı ve CCl₄ uygulamasının MDA düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (3, 60, 102). *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının kültüre sıçan hepatositlerinde hidroperoksit ile indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu ve antioksidatif etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada da, homojenat MDA seviyesinde yaprak ekstraktı dozuna bağlı olarak azalma oluşturulduğu bildirilmiştir (26). *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının farklı preperatlarının kullanıldığı bir çalışmada da MDA seviyesinin CCl₄ uygulaması sonrasında arttığı fakat

bu uygulama öncesinde ekstrakt kullanımının MDA seviyesindeki artışı düşürdüğü bildirilmektedir (86). Yapılan tüm bu çalışmalar CCl_4 kontrol grubu bulgularımızla paralellik göstermektedir. CCl_4 karaciğer hasarında, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının MDA düzeyine ait bulgularımızı karşılaştırabilecek bir literatüre rastlayamadık.

5.6 DNA Fragmentasyonu

Çalışmamızda DNA fragmentasyonu % değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; CCl_4 , CCl_4 doğal iyileşme ve küratif grupta çok önemli düzeyde artış bulunmuştur. Zeytin yağ kontrol ve *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı grubunda ise fark bulunmadı. CCl_4 grubu ile yapılan karşılaştırmada, CCl_4 doğal iyileşme ve küratif grup DA fragmentasyon % değerlerinin anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi. Ayrıca CCl_4 doğal iyileşme grubuna göre küratif grupta DNA fragmentasyon % değerinin daha az olduğu bulundu. Bu grupta DNA fragmentasyon % değerinin daha az olması karaciğer hasarını tedavi edici olarak kullanılan *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının DNA fragmentasyonunu azaltıcı etki gösterdiğini düşündürmektedir. CCl_4 'ün reaktif ara ürünlere metabolize edilmesi ve bu metabolik ürünlerin DNA ile kovalent olarak bağlanması, tümör promotörlerinin bağlanmasına aracılık eder. Tümör promotörü, bir süperoksit anyonu indükleyicisi olarak görev yaparak reaktif oksijen molekülleri ve hidrojen peroksit oluşumunu sağlar. Bunun sonucunda süperoksit ve hidrojen peroksit birikimi gerçekleşir. Bu birikim, koruyucu antioksidan mekanizmanın azalmasını ve yüksek oranda reaktif hidroksil radikali oluşumunu sağlar. Bu olaylar zincirinde oluşan hidroksil radikalleri deoksiribozda parçalanmalara sebep olarak, DNA'nın oksidasyonunu başlatır (49). DNA kırıkları oluşur. Bu sebepten dolayı CCl_4 uygulanmış sıçanlarda DNA fragmentasyonu % 'sinin kontrol gruplarına kıyasla arttığı bildirilmiştir (57, 49, 84, 96). Lavanya, G. ve arkadaşlarının (2009) ile Mir A. ve arkadaşlarının (2010) yaptıkları çalışmalarda, karaciğer hasarı oluşturmak için kullanılan CCl_4 'ün DNA hasarına yol açtığı bildirilmiştir (49, 57). Bu sonuçlar CCl_4 uygulanmış sıçanlarda elde ettiğimiz sonuçlarla uyumludur. Sonuç olarak, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının DNA fragmentasyonu azaltıcı etkisi belirlenmiştir. *Cynara scolymus* L.

yaprağı ekstraktının CCl₄ tarafından oluşturulan karaciğer hasarı sonucu oluşan DNA fragmantasyonu düzeyine olan etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlayamadığımızdan, bunlarla ilgili karşılaştırma yapılamamıştır.

5.7 KARACİĞERDE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Histolojik yönden incelendiğinde, kontrol grubuna ait karaciğer örneklerinde normal parankimal yapı gözlenmiş olup hepatositler vena sentralis çevresinde düzenlenmiştir. Zeytin yağ kontrol ve *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı gruplarının karaciğer kesitlerinde kontrol grubuna benzer görünüm gözlenmiştir. CCl₄ verilen grupta çok önemli düzeyde karaciğer hasarı gözlenmiştir. Bu hasarda hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon, inflamasyon, balonlaşma ve yağlı dejenerasyon (steatoz), periportalde diffuz sentrilobüler nekroz ve parankimal yapıda düzensizlik gözlenmiş olup klasik lobül yapısı ayırt edilememektedir. Küratif grup hepatosit hücrelerinde kısmi dejenerasyon, fokal inflamasyon, konjesyon ve nodüler yapılar görülmektedir. Soy izoflavonların karbon tetraklorid'e bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, CCl₄ uygulanmış grupta yağlanma (steatozis) derecelerine bakıldığında sadece CCl₄ verilmiş gruptaki steatozisin, soy izoflavon uygulamasıyla anlamlı olarak gerilediği belirtilmiştir. Ayrıca, CCl₄ uygulanmış grup inflamasyon ve nekroz açısından değerlendirildiğinde artmış olan inflamasyon ve nekrozun, CCl₄ ile birlikte soy izoflavon verilen grupta anlamlı olarak azaldığı ve CCl₄ uygulanmış gruptaki fibrozisinde soy izoflavon uygulaması ile anlamlı olarak gerilediği belirtilmiştir (95). Lima C. ve arkadaşlarının (2007) yaptıkları çalışmada CCl₄ uygulamasının dejenerasyon ve nekroza sebep olduğu; morfolojik değişimler, histolojik çalışmalar ve plazma transaminaz sonuçlarının birbirleri ile tutarlı olduklarını belirtilmiştir (52). Yapılan bu çalışmalar, elde ettiğimiz CCl₄ uygulaması sonrasındaki karaciğer bulgularımızla örtüşmektedir. CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarının *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı kullanımı sonucunda azaldığı belirlenmiştir. Bulgularımızı karşılaştırabilecek bir literatüre rastlanılamaması nedeni ile bunlarla ilgili karşılaştırma yapılamamıştır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda karaciğerde hasara sebep olan karbon tetrakloridin (CCl_4) neden olduğu oksidatif stres ve karaciğer hasarı üzerine *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının etkilerine ait sonuçlar aşağıda belirtilmiştir.

1. Sıçan vücut ağırlıkları

CCl_4 ile karaciğer hasarı oluşturulduktan sonra *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı verilen küratif grupta sıçan vücut ağırlık kaybının daha az olduğu belirlendi.

2. Serum enzim aktiviteleri:

CCl_4 uygulaması sonrasında karaciğer hasarını tedavi etmek için *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı kullanılan küratif grup serum AST enzim aktivitesinin çok önemli düzeyde kontrole yaklaştığı belirlendi. Ayrıca küratif grupta serum ALT ve ALP enzim aktivitesinin CCl_4 grubuna göre çok anlamlı bir şekilde düşük olduğu belirlendi. LDH aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CCl_4 grubunda çok anlamlı düzeyde azalma, küratif grupta ise artma tespit edildi.

3. Hemogloblin düzeyi

CCl_4 doğal iyileşme grubu ve küratif grup hemogloblin değerlerinin kontrol grubuna göre çok önemli düzeyde azaldığı belirlendi.

4. Hemolizatta KAT, SOD aktivitesi ve MDA düzeyi

Grupların kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda küratif grup SOD % inhibisyonu ve katalaz aktivitesinin önemli düzeyde kontrole yaklaştığı belirlendi. CCl_4 doğal iyileşme grubuna göre küratif grup MDA düzeyinin önemli düzeyde azaldığı belirlendi.

5. Karaciğer homojenatında KAT, SOD aktivitesi ve MDA düzeyi

Karaciğer homojenatında CCl₄, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grup SOD % inhibisyonunda çok önemli düzeyde azalma bulundu. *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı kullanılan küratif grupta SOD % inhibisyonunda azalmanın daha az olduğu belirlendi. Karaciğer homojenatında küratif grup katalaz aktivitesinde çok önemli düzeyde artış belirlendi. Karaciğer homojenatında küratif gruptaki MDA düzeyinin CCl₄ doğal iyileşme grubu MDA düzeyine göre düşük olduğu belirlendi.

6. DNA fragmentasyonu %' si: DNA fragmentasyonu % değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; CCl₄, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grupta çok önemli düzeyde artış belirlendi. CCl₄ grubu ile yapılan karşılaştırmada, CCl₄ doğal iyileşme ve küratif grup DNA fragmentasyon % değerlerinin anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi. Ayrıca CCl₄ doğal iyileşme grubuna göre küratif grupta DNA fragmentasyon % değerinin daha az olduğu belirlendi. *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının DNA fragmentasyonu azaltıcı etkisi olduğu belirlenmiştir.

7. Histolojik olarak: Histolojik yönden incelendiğinde; CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarının *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı kullanımı sonucunda azaldığı belirlendi.

Sonuç olarak, karaciğerde hasara sebep olan karbon tetrakloridin neden olduğu oksidatif stres ve karaciğer hasarı üzerine *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının önemli ölçüde hasarı azaltma yönünde etkili olduğu ortaya kondu. Karaciğer hasarının ilerlemiş safhalarında *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının bitkisel antioksidan olarak destekleyici ve tedavi edici etkinliklerinin belirlenmesi amacı ile yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Adewole, S.O., Salako A.A., Doherty, O. W., Naicker, T., 2007, Effect of melatonin on carbon tetrachloride- induced kidney injury in wistar rats, *African Journal of Biomedical Research*, 10, 153-164 p.
2. Adewusi, E.A. and Afolayan, A.J.A., 2010, Review of natural products with hepatoprotective activity, *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 13, 1318-1334 p.
3. Ajiboye, T.O., 2011, In vivo antioxidant potentials of *Piliostigma thonningii* (Schum) leaves: Studies on hepatic marker enzyme, antioxidant system, drug detoxifying enzyme and lipid peroxidation, *Human and Experimental Toxicology*, 30, 1, 55-62 p.
4. Akarca, U.S., 2007, Karaciğer Fonksiyon Testi Yuksekliğine Tanısal Yaklaşım, 9. Ulusal İç Hastalıkları kongresi, 147- 149 s.
5. Aktan, T.M., Canbilen, A, Keklikoğlu, N., 2003, Kupffer Hücresi, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 34, 110-111 s.
6. Aktay, G., Deliorman, D., Ergun, E., Ergun, F., Yeşilada, E., Çevik, C., 2000, Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury, *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 121-129 p.
7. Alric, L., Orfila, C., Carrere, N., Beraud, M., Carrera, G., Lepert, J.C., Duffaut, M., Pipy, B., Vinel, J.P., 2000, Reactive oxygen intermediates and eicosanoid production by kupffer cells and infiltrated macrophages in acute and chronic liver injury induced in rats by CCl₄, *Inflammation Research*, 49, 12, 700-707 p.
8. Aruoma, O.I., 1998, Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75,2 ,199-212 p.
9. Basu, S., 2003, Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients, *Toxicology* , 189, 113-127 p.
10. Brodie, B.B., Reid, W.D., Cho, A.K., Sipes, G., Krishna, G., Gillette, J.R., 1971, Possible mechanism of liver necrosis caused by aromatic organic compounds, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68, 1, 160-164 p.
11. Burroughs, A.K., Seong, N.H., Dojcinov, D.M., Scheuer, P. J and Sherlock, S.V.P., 1982, Idiopathic acute fatty liver of pregnancy in 12 patients, *QJM-An International Journal Of Medicine*, 51, 4, 481-497 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

12. Cheng, C.C., Lin, N.N., Lee, Y.F., Wu, L.Y., Hsu, H.P., Lee, W.J., Tung K.C., and Chiu, Y.T., 2010, Effects of Shugan-Huayu powder, a traditional chinese medicine, on hepatic fibrosis in rat model , Chinese Journal of Physiology, 53, 4, 223-233 p.
13. Chisari, F., 1997, Cytotoxic T-cells and viral hepatitis, Journal of Clinical Investigation, 99, 1472-1477 p.
14. Chisari, F.V. and Ferrari, C., 1995, Hepatitis B virus immunopathogenesis, Annual Review of Immunology, 13, 29-60 p.
15. Cuciureanua, M., Caruntu, I.D., Paduraruc, O., Stoicac, B., Jercac, L., Crauciucu, E., Nechifor, M., 2009, The protective effect of montelukast sodium on carbon tetrachloride induced hepatopathy in rat, Prostaglandins & Other Lipid Mediators, 88, 82-88 p.
16. Çınar, A., Yörük, M., Meral, İ., Kılıçalp, D., Koç, A., Ertekin, A., 1999, Karbon tetraklorür (CCl₄) ile tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan akut ve kronik intoksikasyonun karaciğerin histolojik yapısına, bazı hematolojik değerlere ve elektrokardiyogram üzerine etkileri, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23, 235-242 p.
17. Dang, S.S., Wang, B.F., Cheng, Y.A., Song, P., Liu, Z.G., Li, Z.F., 2007, Inhibitory effects of saikosaponin-d on CCl₄-induced hepatic fibrogenesis in rats, World Journal Of Gastroenterology, 13, 4, 557-563 p.
18. Devi, M.R., Sivasubramanian, N., Gupta, V.R.M., Sree, G.PB., Telrandhe, U.B., 2010, Hepatoprotective activity of *Ficus mollis* (Vahl) leaf extract on CCl₄ induced hepatic damage in Wistar albino rats, Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 1, 4, 338-343 p.
19. Doh, K.O, 2008, Effects of TGF-β1 Ribbon Antisense on CCl₄-induced liver fibrosis, The Korean Journal of Physicology & Pharmacology, 12, 1-6 p.
20. Domitrović, R., Jakovac, H., Tomac, J., Šain, I., 2009, Liver fibrosis in mice induced by carbon tetrachloride and its reversion by luteolin, Toxicology and Applied Pharmacology, 241, 311-321 p.
21. Fahmy, S.R., Hamdi S.A.H., Abdel-Salam, H.A, 2009, Curative effect of dietary freshwater and marine crustacean extracts on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity, Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3, 3, 2118-2129 p.
22. Fausto, N., 2000, Liver regeneration, Journal Of Hepatology, 32, 19-31 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

23. Fu ,Y., Zheng, S., Lin, J., Ryerse, J., Chen, A., 2008, Curcumin Protects the Rat Liver from CCl₄- Caused Injury and Fibrogenesis by Attenuating Oxidative Stress and Suppressing Inflammation , Molecular Pharmacology, 73,399-409 p.
24. Galati, E.M., Mondello, M.R., Lauriano, E.R., Taviano, M.F., Galluzzo, M., Miceli, N., 2005, Opuntia ficus indica (L.) Mill. fruit juice protects liver from carbon tetrachloride-induced injury, Phytotherapy Research, 19, 796-800 p.
25. Ganeshsunder, D.N. and Nympha, B.D., 1988, Hepatic Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis rats, Biochemical Medicine and Metabolic Biology, 40, 42-45 p.
26. Gebhardt, R., 1997, Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus L.*) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes, Toxicology And Applied Pharmacology, 144, 279-286 p.
27. Göker, B., Özmen, R., 2009, Sıçanlarda ısırgan otu (*Urtica dioica L.*) yaprağı ile beslenmenin akut karbon tetraklorür uygulamasına bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 23, 2, 77-80 s.
28. Guicciardi, M.E., Gores, G.J., 2010, Apoptosis as a mechanism for liver disease progression, Seminars In Liver Disease, 30,4, 402- 410 p.
29. Gutteridge, J.M.C., 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, Clinical Chemistry, 41,12, 1819-1828 p.
30. Guyton, A.C. and Hall, E.C, 2007, Tıbbi Fizyoloji (Çev:Çavuşoğlu H., Yeğen B.Ç), Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 859 – 864 s.
31. Günşar, F., 2003, Karaciğer enzim profilindeki değişikliklerde yaklaşımlar, Güncel Gastroentetoloji, 7, 3, 192-203 s.
32. Halliwell, B., and Gutteridge J.M.C., 1984, Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease, Biochemical Journal, 219, 1-14 p.
33. Hsiao, G., Lin, Y.H., Lin C.H., Chou D.S., Lin W.C., Sheu J.R., 2001, The Protective Effects of PMC against Chronic Carbon Tetrachloride- Induced Hepatotoxicity in Vivo, Biological & Pharmaceutical Bulletin, 24,11, 1271-1276 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

34. Ilanchezhian, R. and Roshy, J.C, 2010, Hepatoprotective and hepatocurative activity of the traditional medicine ketaki (*Pandanus odoratissimus* Roxb.) - An experimental evaluation, *Asian Journal Of Traditional Medicines*, 5, 6, 212-218 p.
35. Jaeschke, H., Gores, G.J., Cederbaum, A.I., Hinson, J.A., Pessayre, D., Lemasters, J.J., 2002, Mechanisms of hepatotoxicity, *Toxicological Sciences*, 65, 2,166- 176 p.
36. Janakat, S., and Al-Merie H., 2002, Optimization of the dose and route of injection, and characterisation of the time course of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 48, 41- 44 p.
37. Jimeñez-Escrig, A., Dragsted L.O., Daneshvar, B., Pulido, R., Saura-Calixto, F., 2003, In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5540-5545 p.
38. Junqueira, L.C., Carneiro, J., *Temel Histoloji* 2006, (Çev.: Aytekin, Y. ve Solakoğlu, S.). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 332-344 s.
39. Kaplan, L.A., Pesce, J.A., Kazmierce, S.C., 2003, *Clinical Chemistry, Theory, Analysis, Correlation*, Mosby, Vincinatti , 493-497 p.
40. Karadeniz, A., Yıldırım, A., Çelebi, F., 2007, Protective effect of Panax ginseng against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative brain injury in rats, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2, 3, 117- 121 p.
41. Katz, M.A., 1986, The expanding role of oxygen freeradicals in clinical medicine , *The Western Journal of Medicine*, 144, 441-446 p.
42. Kose, N., Yamamoto, K., Sai, Y., Isawa M., Suwa, T., Nakashima, E., 2005, Prediction of theophylline clearance in CCl₄ - treated rats using in vivo CYP1A2 and CYP3A2 contents assesses with the PKCYP Test, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 20, 3, 168-176 p.
43. Kömüroglu, U., Noyan T., Sekeroglu M.R., 2007, Comparison of the effects of melatonin and pentoxifylline on the serum lipids of mice with carbon tetrachloride-induced liver toxicity, *Türkiye Klinikleri Journal of Cardiovascular Sciences*, 19, 21-26 p.
44. Kujawska, M., Ignatowicz, E., Ewertowska, M., Oszmianski, J., Jodynys-Liebert J., 2010, Protective effect of chokeberry on chemical-induced oxidative stress in rat ,*Human and Experimental Toxicology*, 30, 3,199-208 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

45. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milosa, M., 2004, Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, Food Chemistry, 85, 4, 633-640 p.
46. Kurt, H., Başaran, A., Aral, E., 2005, Sıçanlarda karbon tetraklorit' in oluşturduğu oksidatif stresin likopen ile önlenmesi, Türkiye Klinikleri Journal of Medical science, 25, 167-173 s
47. Kutlu, T., 2006, Neonatal kolestaz tanımı ve etyopatogenezi, Güncel Pediatri 4, 1, 119-121 p.
48. Küskü-Kiraz, Z., Mehmetçik, G., Dogru-Abbasoglu, S., Uysal, M., 2010, Artichoke leaf extract reduces oxidative stress and lipoprotein dyshomeostasis in rats fed on high cholesterol diet, Phytotherapy Research, 24, 4, 565-70 p.
49. Lavanya, G., Sivajyothi, R., Manjunath, M., Parthasarathy, P.R., 2009, Fate of biomolecules during carbon tetrachloride induced oxidative stress and protective nature of *Ammoniac baccifera* Linn.: A natural antioxidant, International Journal of Green Pharmacy, 3,300-305 p.
50. Lee, H.S., Jung, K.H., Hong S.W., Park I.S., Lee, C., Han H.K., Lee, D.H., Hong, S.S., 2008, Morin protects acute liver damage by carbon tetrachloride (CCl₄) in rat, Archives of Pharmacal Research, 31,9, 1160-1165 p.
51. Li, D., Friedman, S.L., 1999, Liver fibrogenesis and the role of stellate cells : New insights and prospects for therapy, Journal of Gastroenterology and Hepatology, 14, 618-633 p.
52. Lima, C.F., Fernandes-Ferreira, M., Pereira-Wilson, C., 2007, Drinking of *Salvia officinalis* tea increases CCl₄-induced hepatotoxicity in mice, Food and Chemical Toxicology 45, 3, 456-464 p.
53. Lodge, J.K., 2005, Vitamin E bioavailability in humans, Journal of Plant Physiology, 162, 790-796 p.
54. López-Reyes, A.G., Arroyo-Curras, N., Cano, B.G., Lara-Díaz, V.J., Guajardo-Salinas, G.E., Islas, J.F., Morales-Oyarvide, V., Morales-Garza, L.A., Galvez-Gastelum, F.J., Grijalva, G., Moreno-Cuevas. J.E., 2008, Black bean extract ameliorates liver fibrosis in rats with CCl₄-induced injury, Annals of Hepatology, 7, 2,130-135 p.
55. Mehmetçik, G.,Özdemirler, G., Koçak-Toker N., Çevikbaş, U., Uysal M., 2008, Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride- induced liver injury and oxidative stres, Experimental and Toxicologic Pathology, 60, 475-480 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

56. Miccadei, S., Venere D.D., Cardinali, A., Romano, F., Durazzo, A., Foddai, M.S., Fraioli, R., Mobarhan S., Maiani, G., 2008, Antioxidative And Apoptotic Properties Of Polyphenolic Extracts From Edible Part Of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) on Cultured Rat Hepatocytes And On Human Hepatoma Cells, *Nutrition and Cancer*, 60, 2, 276-283 p.
57. Mir, A., Anjum, F., Riaz, N., Iqbal, H., Wahedi, H. M., Khattak, J. Z. K., Khan, M. A., Malik S. A., 2010, Carbon Tetrachloride (CCl₄) - induced hepatotoxicity in rats: Curative role of *Solanum nigrum*, *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 23, 2525-2532 p.
58. Nakano, H., Yamaguchi, M., Kaneshiro, Y., Yoshida, K., Kigawa, G., Nagasaki, H., Fujiwara, Y., Matsumoto, F., Kitamura, N., Sasaki, J., Kuzume, M., Takeuchi, S., Kumada, K., 1998, S-Adenosyl-L-Methionine attenuates ischemia-reperfusion injury of steatotic livers, *Transplantation Proceedings*, 30, 3735-3736 p.
59. Nakbi, A., Wafa, T., Samia, D., Manel I., Grissa, A.K., Nabil A., Mohamed H., 2010, Dietary olive oil effect on antioxidant status and fatty acid profile in the erythrocyte of 2,4-Dexposed rats, *Lipids in Health and Disease*, 9, 89, 1-10 p.
60. Natarajan, S.K., Thomas, S., Ramamoorthy, P., Basivireddy, J., Pulimood, A.B., Ramachandran, A., Balasubramanian, K.A., 2006, Oxidative stress in the development of liver cirrhosis: A comparison of two different experimental models, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 21, 947-957 p.
61. Noyan, T., K m roglu, U., Bayram, İ., Sekeroglu, M.R., 2006, Comparison of the effects of melatonin and pentoxifylline on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in mice. *Cell Biology and Toxicology*, 22, 381-391 p.
62. Oh, W.Y., Pyo, S., Lee, K.R., Lee, B.K., Shin, D.H., Cho, S.I., Lee, S.M., 2003, Effect of *Holotrichia diomphalia* larvae on liver fibrosis and hepatotoxicity in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 175-180 p.
63. Orfila, C., Lepert, J.C., Alric, L., Carrera, G., Beraud, M., Vinel, J.P. and Pipy, B., 1999, Expression of TNF-alpha and immunohistochemical distribution of hepatic macrophage surface markers in carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats, *The Histochemical Journal*, 31,677-685 p.
64.  get rk, M.,  olakoğlu N., Kuş M.A., Kuş, İ., Sarsılmaz, M., 2009, Karbon tetraklorür ile oluşturulan deneysel akciğer hasarında kafeik asit fenetil esterinin koruyucu etkinliği, *Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 23, 2, 57- 61 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

65. Öztürk, İ.Ç., Öztürk, F., Gül, M., Ateş, B., Çetin, A., 2009, Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of Wistar rats, *Cell Biochemistry And Function*, 27, 309-315 p.
66. Pabón, A., Carmona J., Burgos, L.C., Blair, S., 2003, Oxidative stress in patients with noncomplicated malaria, *Journal of Clinical Biochemistry*, 36, 5, 71-78 p.
67. Padhy, B.M., Srivastava, A., Kumara, V.L., 2007, *Calotropis procera* latex affords protection against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 498-502 p.
68. Park, S.W., Lee, C.H., Kim, Y.S., Kang, S.S., Jeon, S.J., Son, K.H., Lee, S.M., 2008, Protective effect of baicalin against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice, *Journal of Pharmacological Science*, 106, 136-143 p.
69. Pasanphan, W., Chirachanchai, S., 2008, Conjugation of gallic acid onto chitosan: An approach for green and water-based antioxidant, *Carbohydrate Polymers*, 72, 169-177 p.
70. Patel, T., Roberts, L.R., Jones, B.A., Gores, G.J., 1998, Dysregulation of apoptosis as a mechanism of liver disease: an overview, *Seminars in Liver Disease*, 18, 2, 105-114 p.
71. Paunescu, A., Ponepal, C.M., Draghici, O., Marinescu, A.G., 2009, The CCl₄ action upon physiological indices in *Lepus timidus* and the protective role of some substances, *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*, 16, 2, 104-107 p.
72. Perez-Garcia, F., Adzet, T., Camigual, S., 2000, Activity of artichoke leaf extract on reactive oxygen species in human leukocytes, *Free Radical Research*, 33, 5, 661- 665 p.
73. Poli, G., 2000, Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress, *Molecular Aspects Of Medicine*, 21, 49-98 p.
74. Randall, G.L., 1994, *Diagnostic liver pathology*, 1st Ed., Mosby, St. Louis, 343-351p.
75. Recknagel, R.O., 1967, Carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Pharmacological Reviews*, 19, 2, 145-208 p.
76. Rikans, L.F., Hornbrook, K.R. and Cai, Y., 1994, Carbon tetrachloride hepatotoxicity as a function of age in female fischer 344 rats, *Mechanisms Of Ageing And Development*, 20, 89-99 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

77. Rivera, C.A., Bradford, B.U., Hunt, K.J., Adachi, Y., Schrum, L.W., Koop, D.R., Burchardt, E.R., Rippe, R.A., Thurman, R.G., 2001, Attenuation of CCl₄-induced hepatic fibrosis by GdCl₃ treatment or dietary glycine, *American Journal Of Physiology-Gastrointestinal And Liver Physiology*, 281, G200-G207 p.
78. Robbins, S.L., Cotran, R.S., Kumar, V., 2000, *Basic Pathology*, 6th Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia 516-519p.
79. Ruckmani, D.S., Chitra, M., Jayamathi P., 2010, Hepatoprotectivity and an antioxidant study of *Ipomoea hederacea* on experimentally induced hepatotoxic rats, *Recent Research in Science and Technology*, 2,11, 17-19 p.
80. Sangameswaran, B., Deshraj, C., Balakrishnan, B.R., Jayakar, B., 2008, Hepatoprotective effects of *Thespesia lampas* dalz & gibbs in CCl₄ induced liver injury in rats, *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7, 1, 11-13 p.
81. Schroder, O., Sjostrom, M., Qiu, H., Jakobsson, P.J., Haeggstrom, J.Z., 2005, Microsomal glutathione S-transferases: selective up-regulation of leukotriene C₄ synthase during lipopolysaccharide-induced pyresis, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62, 1, 87-94 p.
82. Shenoy K.A., Somayaji, S.N., Bairy, K.L., 2001, Hepatoprotective effects of *Ginkgo biloba* against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats, *Indian Journal of Pharmacology*, 33, 260-266 p.
83. Sinclair, A.J., Barnet, A.H., Lunec, J., 1990, Free radicals and antioxidant systems in health and disease, *British Journal of Hospital Medicine*, 43, 334-44 p.
84. Soliman, M.G., 2010, Immunological and DNA fragmentation studies on the protective effect of thyme against navelbine induced oxidative stress in mice, *Nature and Science*, 8,8, 136 -145 p.
85. Sonsuz, A., 2007, , İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 58, 1, 69-78 s.
86. Speroni, E., Cervellati, R., Govoni, P., Guizzardi, S., Renzulli, C., Guerra, M.C., 2003, Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints, *Journal of Ethnopharmacology*, 86, 203-211 p.
87. Sturgill, M.G., and Lambert, G.H., 1997, Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function, *Clinical Chemistry*, 43, 8(B), 1512–1526 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 88.** Su, J.F., Guo, C.J., Wei, J.Y., Yang, J.J., Jiang, Y.G., Li, Y.F., 2003, Protection against hepatic ischemia-reperfusion injury in rats by oral pretreatment with quercetin, *Biomedical and Environmental Sciences*, 16, 1-8 p.
- 89.** Şahin, A., Yener, Z., Dağoğlu, G., Dede, S., Oto, G., Alkan, M., 2003, Karbontetraklorid (CCl₄) ile deneysel olarak karaciğer nekrozu oluşturulan ratlarda vitamin E + selenyum ve *Nigella sativa* (çörekotu)'nın karaciğer yıkımını engelleyici etkileri, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 141-152 p.
- 90.** Tahan, V., Ozaras, R., Canbakan, B., Uzun, H., Aydın, S., Yıldırım, B., Aytekin, H., Ozbay G., Mert A., Sentürk, H., 2004, Melatonin reduces dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats, *Journal of Pineal Research*, 37, 78-84 p.
- 91.** Thomas, M.J., 1995, The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35,182, 21-39 p.
- 92.** Titos, E., Claria, J., Planaguma, A., Lopez-Parra, M., Gonzalez-Periz, A., Gaya, J., 2005, Inhibition of 5 lipoxygenase-activating protein abrogates experimental liver injury: role of kupffer cells, *Journal of Leukocyte Biology*, 78,4, 871–878 p.
- 93.** Tümgör, G., Arıkan, Ç., Aydoğdu, S., 2005, Çocukluk çağının tanısız kolestatik hastalığı: ilerleyici ailevi intrahepatik kolestaz, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48, 355-360 p.
- 94.** Unnikrishnan, V.S. ,Sudhakaran, P.R., 1989, Metabolism of glycosaminoglycans in CCl₄-induced liver regeneration, *Journal of Biosciences*, 14, 2, 163–172 p.
- 95.** Üstündağ, B., Bahçecioglu, H.İ., Şahin, K., Gülcü, F., Düzgün, S., Özercan İ.H., Gürsu M.F., 2005, Soy İzoflavonların Karbon Tetraklorüre (CCl₄) Bağlı Karaciğer Hasarı Ve Plazma Paraoksonaz İle Arilesteraz Aktivite Düzeylerine Olan Etkileri, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19, 4, 263-271s.
- 96.** Üstüner, M.C., 2006, Karaciğerde tümör oluşmasına neden olan dietilnitrozamin ve 2-asetilaminofloran uygulanmış sıçanlarda demetoksiviridin ve 1-α-hidroksi demetoksiviridin'in etkileri, *Doktora Tezi, ESOĞÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 89 s. (yayımlanmış)
- 97.** Wallace, A.D. , Meyer, S. A., 2010, Hepatotoxicity, Chapter 13, *A text book of modern toxicology*, Editor Hodson E., Fourth Edition, 277-290 p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

98. Wang, M., Simon, J.E., Aviles, I.F., He, K., Zheng, Q.Y., Tadmor, Y., 2003, Analyses of antioxidative phenolic compounds in artichoke, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 601-608 p.
99. Watkins, P.B, Bloom, J., Hunt, C., 2008, Biomarkers of acute idiosyncratic hepatocellular injury (AIHI) within clinical trials, Institute of Medicine, National Academies of Sciences; Washington, DC.
100. Weinberger, B., Watorek, K., Strauss, R., Witz, G., Hiatt, M., Hegyi T., 2002, Association of lipid peroxidation with hepatocellular injury in preterm infants, *Critical Care*, 6, 6, 521-525 p.
101. Xu, L., Gao, J., Wang, Y., Yu, W., Zhao, X., Yang, X., Zhong, Z., Zhong-Ming, Qian, 2011, *Myrica rubra* extracts protect the liver from CCl₄-induced damage *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1-9 p.
102. Yılmaz, S., Bahçecioglu, İ.H., 2000, Karbontetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzim ve pirüvat kinaz aktiviteleri, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24, 25-28 p.
103. Yoshihara, D., Fujiwara, N., Suzuki, K., 2010, Antioxidants: Benefits and risks for long-term health, *Maturitas*, 67, 103–107 p.
104. Zerin, M., Karakılçık, A.Z., Nazlıgöl, Y., Bitiren, M., Özardalı H.İ. , Musa, D., 2004, Protective role of *Nigella sativa* oil on experimental liver injury in rats, *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, 24,6, 598-602 p.
105. Zhang, L.J., Yu, J.P., Li, D., Huang, Y.H., Chen, Z.X., Wang, X.Z., 2004, Effects of cytokines on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats, *World Journal of Gastroenterology*, 10, 1, 77-81 p.

ÖZGEÇMİŞ

BİREYSEL BİLGİLER

ADI SOYADI	EMİNE ÇOLAK
TC KİMLİK NO	42841173628
DOĞUM TARİHİ	31.05.1975
DOĞUM YERİ	ESKİŞEHİR
MEDENİ HALİ	EVLİ
YAZIŞMA ADRESİ	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Eskişehir
TEL	0 222 239 29 39
GSM	0 542 295 18 10
E-POSTA	ecolak26@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

2009 -	ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS
1993 - 1998	ORTADOĞU TEKNİK ÜNİVERSİTESİ EĞİTİM FAKÜLTESİ BİYOLOJİ ÖĞRETMENLİĞİ / ANKARA
1989 - 1992	ATATÜRK LİSESİ / ESKİŞEHİR
1986 - 1989	ONDOKUZ MAYIS ORTAOKULU / ESKİŞEHİR
1981 - 1986	İBAHİM KARAOĞLANOĞLU İLKOKULU / ESKİŞEHİR

BİLİMSEL ETKİNLİKLER

Katıldığı Kurslar ve Eğitim

XI. Deneysel Hayvan Çalışmaları Temel Eğitim Kursu 20 Eylül – 1Ekim 2010