

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARBON TETRAKLORÜR (CCl<sub>4</sub>) İLE  
OLUŞTURULAN DENEYSEL KARACİĞER  
HASARINDA  
NAR (*Punica Granatum*) VE  
ÜZÜM (*Vitis Vinifera*) MEYVELERİNİN  
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mihdiye PİRİNÇÇİOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR  
TEMMUZ-2010

**T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARBON TETRAKLORÜR (CCl<sub>4</sub>) İLE  
OLUŞTURULAN DENEYSEL KARACİĞER  
HASARINDA  
NAR (*Punica Granatum*) VE  
ÜZÜM (*Vitis Vinifera*) MEYVELERİNİN  
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Mihdiye PİRİNÇÇİOĞLU**

**DANIŞMAN: Doç. Dr. Göksel KIZIL**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR  
TEMMUZ-2010**

## ÖZ

Bu çalışmada, sıçanlarda, karbon tetraklorürle (CCl<sub>4</sub>) oluşturulan akut karaciğer hasarında, üzüm çekirdeği ekstresi, üzüm suyu ve nar suyunun karaciğer, beyin ve böbrek dokularında koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı. 150-180 g ağırlığında 36 adet Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol grubu (grup 1), karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) grubu (grup 2), üzüm çekirdeği + CCl<sub>4</sub> grubu (grup 3), Üzüm suyu + CCl<sub>4</sub> grubu (grup 4), nar suyu + CCl<sub>4</sub> grubu (grup 5) ve referans ilaç (ursodeoksikolik asit) + CCl<sub>4</sub> grubu (grup 6) olmak üzere 6 gruba ayrıldı. 2, 3, 4, 5 ve 6. grup sıçanlara deney süresince haftada 1 olmak üzere 4 sefer CCl<sub>4</sub> (1 ml/ kg); 3, 4, 5 ve 6. grup sıçanlara ise üzüm çekirdeği ekstresi (800 mg/kg), üzüm suyu (2 ml/kg), nar suyu ekstresi (2 ml/kg) ve referans ilaç (ursodeoksikolik asit, 10 mg/kg) mide içi sonda ile sırasıyla uygulandı.

Dört haftalık deney süresi sonunda bütün sıçanlar dekapite edildi, intrakardiyak yolla kan alındı. Karaciğer, beyin ve böbrekleri çıkartıldı. Kanda, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), albümin ve bilirubin seviyelerine otoanalizör ile bakıldı. Karaciğer, beyin ve böbrek doku örneklerinde malondialdehit düzeyleri (MDA) thiobarbituric acid (TBA) metoduna göre yapıldı. Karaciğer, beyin ve böbrekteki histopatolojik değişiklikler değerlendirilerek karşılaştırılmalı olarak araştırıldı.

AST (143.60 ± 23.71), ALT (62.66 ± 6.50), bilirubin (0.25 ± 0.09) ve albumin (1.80 ± 0.17) kan serum seviyeleri kontrol grubunda (grup 1) normal değerler içinde bulunmuştur. Grup 2 de serum AST (2610.70 ± 151.05), ALT (3242.66 ± 289,31) ve bilirubin (1.40 ± 0.20) seviyeleri çalışılan tüm gruplara göre anlamlı bir şekilde yüksek, serum albumin (1.03 ± 0.20) seviyesi ise çalışılan tüm

gruplara göre anlamlı bir Şekilde düşük bulundu. Karaciğer, beyin ve böbrek doku MDA düzeyleri ise grup 2’de diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu. Histolojik çalışmalarda, grup 2 ye ait sıçanların karaciğer dokularında inflamasyon, hidropik dejenerasyon ve yağlanma, böbrek dokularında ise kapiler geniŐlemeler ve proksimal tübül yapılarında değişmeler gözlenmiştir. Bu bulguların diğer gruplarda azalmıŐ olduğu görülmüştür. Beyin dokularında ise tüm gruplar normal bir görüntü sergilemiŐtir. Bu sonuçlarla, nar suyu, üzüm suyu ve üzüm çekirdeği ekstresinin, karbontetraklorrle (CCl<sub>4</sub>) oluşturulan akut karaciğer hasarını nlemede etkili olduğu ve lipit peroksidasyon rnlerini azaltığı bulunmuştur.

***Anahtar Kelimeler: Nar suyu, zm, Karaciğer hasarı, lipit peroksidasyonu***

## ABSTRACT

In this study, hepatoprotective effect of grape seeds extract, grape juice and pomegranete juice were studied using carbon tetrachloride induced liver injury model in rats. 36 Wistar albino female rats each, 150-200g in weight were used. The animals were grouped into six equal groups. The groups were named as control group (group 1), carbon tetrachloride group (group 2), grape seed extract + carbon tetrachloride group (Group 3), grape juice + carbon tetrachloride group (Group 4), pomegranete juice + carbon tetrachloride group (Group 5) and reference drug (ursodeoxycolic acid) + carbon tetrachloride group (Group 6). The animals of Groups 2, 3, 4, 5 and 6 were treated with carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) (1ml/kg of body weight) four times during experimental period. Groups 3, 4, 5 and 6 were given grape seeds extract (800mg/kg of body weight), grape juice (2ml/kg of body weight), pomegranete juice (2ml/kg of body weight) and reference drug (10 mg/kg of body weight) every day for four weeks, respectively.

At the end of four weeks of experimental period, all animals were killed by decapitation, blood samples were collected and their livers, brains and kidneys were removed. The serum was used for the assay of marker enzymes, aspartate aminotransferas (AST), alanin aminotransferas (ALT), albümin and bilirubin. Malondialdehyde (MDA) level of liver, brain and kidney tissue samples was measured by the thiobarbituric acid (TBA) reaction method. Histopathological changes in the liver, brain and kidney were assessed and evaluated comparatively. Serum AST ( $143.60 \pm 23.71$ ), ALT ( $62.66 \pm 6.50$ ) and bilirubin ( $0.25 \pm 0.09$ ) levels were found to be significantly higher in group 2 than groups 1, 3, 4, 5 and group 6. Serum albümin ( $1.80 \pm 0.17$ ) levels were found to be significantly lower in CCl<sub>4</sub>

induced group compared with other groups. The level of malondialdehyde (MDA) in liver, brain and kidney tissue were also significantly increased in group 2 compared to groups 1, 3, 4, 5 and group 6.

In histological experiments, liver samples of group 2 showed focal hepatocytes damage and degeneration and the kidney samples of the same group rats showed the dilated tubules with cloudy swelling. These histopathological changes were decreased in liver and kidney tissue samples of groups 3, 4, 5, and 6. The brain samples of all groups showed normal appearance of brain structure. Based on these results it was observed that of grape seeds extract, grape juice and pomegranete juice protects liver, kidney and brain tissues from experimental CCl<sub>4</sub> toxicity.

***Key Word: Pomegranete juice, Grape, Liver injury, Lipid peroxidation.***

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca bana her türlü desteği sunan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Danışman Hocam Doç. Dr. Göksel KIZIL'a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım süresince bilgi ve desteğini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Çetin AYTEKİN'e teşekkür ederim

Yüksek lisans çalışmalarım süresince bilgilerinden yararlandığım ve her türlü konuda desteğini gördüğüm hocam Doç. Dr. Murat KIZIL'a teşekkür ederim.

Çalışmam için gerekli materyallerin temin edilmesinde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Gültekin ÖZDEMİR'e, çalışmada emeği geçen Veteriner Fakültesinden Yrd. Doç. Dr. Zeki KANAY'a, teşekkür ederim.

Histopatolojik analizde bana laboratuvarında çalışma imkânı sağlayan ve büyük yardımlarını gördüğüm Doç. Dr. M. Aydın KETANİ ve laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Dokuların değerlendirmesinde desteğini gördüğüm Veteriner Fakültesinden Yrd. Doç. Dr. Özkan ÜNVER'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince her konuda bilgi ve desteğini gördüğüm hocam Arş. Gör. Bircan ÇEKEN'e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü desteklerini gördüğüm ve bilgilerinden yararlandığım laboratuvar arkadaşlarım Sevcan ALTAŞ ve Sevil EMEN TANRIKUT'a teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde olduğu gibi bu dönemde de beni destekleyen geniş aileme ve özellikle Nusreddin PİRİNÇÇİOĞLU'na teşekkür ederim.

Her zaman desteklerini gördüğüm arkadaşlarım Duygu ELMA ve Bünyamin AK'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, DÜBAP-09-FF-44 No'lu projeye desteklenmiştir. Desteğinden dolayı DÜBAP (Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne) teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|   |     |
|---|-----|
| ÖZ .....  | i   |
| ABSTRACT.....                                   | iii |
| TEŞEKKÜR .....                                  | v   |
| İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....                        | vi  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                         | xi  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                           | xii |
| RESİM DİZİNİ .....                              | xiv |
| KISALTMALAR.....                                | xvi |
| 1. GİRİŞ.....                                   | 1   |
| KAYNAKLAR.....                                  | 5   |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI                           |     |
| 2.1. KARACİĞER.....                             | 7   |
| 2.1.1. Karaciğer anatomisi.....                 | 7   |
| 2.1.2. Karaciğer histolojisi.....               | 8   |
| 2.1.2.1. Kupffer Hücreleri .....                | 10  |
| 2.1.2.2. Hepatosit Hücreleri .....              | 10  |
| 2.1.3. Karaciğerin Fonksiyonları.....           | 11  |
| 2.1.3.1. Protein sentezi.....                   | 11  |
| 2.1.3.2. Safra salgılaması.....                 | 12  |
| 2.1.3.3. Depo fonksiyonu.....                   | 13  |
| 2.1.4. Karaciğerin Metabolik Fonksiyonları..... | 13  |
| 2.1.4.1. Karbonhidrat metabolizması.....        | 13  |
| 2.1.4.2. Lipit metabolizması .....              | 13  |



|   |    |
|---|----|
| <b>2.1.4.3.</b> Amino asit ve protein metabolizması.....                | 14 |
| <b>2.1.5.</b> Karaciğer hasarı.....                                     | 14 |
| <b>2.1.5.1.</b> İnflamasyon (iltihaplanma).....                         | 14 |
| <b>2.1.5.2.</b> Dejenerasyon (bozulma).....                             | 15 |
| <b>2.1.5.3.</b> Nekroz (yıkım).....                                     | 15 |
| <b>2.1.5.4.</b> Fibrozis (bağ dokusu oluşumu).....                      | 15 |
| <b>2.1.5.5.</b> Siroz .....   | 16 |
| <b>2.1.6.</b> Karaciğer de meydana gelen hastalıklar.....               | 16 |
| <b>2.1.6.1.</b> Hepatitler.....   | 16 |
| <b>2.1.6.2.</b> Siroz.....  | 17 |
| <b>2.1.6.3.</b> Sarılık.....  | 17 |
| <b>2.1.6.4.</b> Karaciğer yetmezliği.....                               | 18 |
| <b>2.1.6.5.</b> Safra kesesi iltihabı.....                              | 18 |
| <b>2.1.6.6.</b> Safra kesesi taşı.....                                  | 19 |
| <b>2.1.7.</b> Toksik Maddelerin Metabolizması (biyotransformasyon)..... | 19 |
| <b>2.1.7.1.</b> Faz I Reaksiyonları.....                                | 21 |
| <b>2.1.7.2.</b> Faz II Reaksiyonlar.....                                | 25 |
| <b>2.1.8.</b> Karaciğer enzimleri.....                                  | 31 |
| <b>2.1.8.1.</b> Aspartat aminotransferaz ve Alanin aminotransferaz..... | 31 |
| <b>2.1.9.</b> Albümin.....  | 33 |
| <b>2.1.10.</b> Bilirübin.....   | 33 |
| <b>2.1.11.</b> Karbontetraklorür.....                                   | 35 |
| <b>2.1.12.</b> Lipit peroksidasyonu.....                                | 37 |
| <b>2.1.13.</b> Ursodeoksikolik asit (Ursodiol).....                     | 41 |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.1.14. Antioksidantlar.....  | 42        |
| 2.15. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....  | 44        |
| KAYNAKLAR.....  | 55        |
| <b>3. MATERİYAL VE METOD.....</b>   | <b>62</b> |
| 3.1. MATERİYAL.....   | 62        |
| 3.1.1. Kullanılan Materyaller.....  | 62        |
| 3.1.1.1. Nar ( <i>Punica granatum</i> ).....  | 62        |
| 3.1.1.2. Üzüm ( <i>Vitis vinifera L</i> ).....  | 64        |
| 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....  | 65        |
| 3.1.3. Kullanılan Aletler.....  | 65        |
| 3.2. METOT.....   | 66        |
| 3.2. 1. Meyve Ekstraktlarının Hazırlanması.....   | 66        |
| 3.2.1.1. Nar suyunun hazırlanması.....  | 66        |
| 3.2.1.2. Üzüm suyu ve çekirdeğinin hazırlanması.....  | 66        |
| 3.2.2. Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayini.....  | 68        |
| 3.2.3. Toplam Flavonoid Bileşen Miktar Tayini.....  | 69        |
| 3.2.4. Sıçan Deneyi.....  | 70        |
| 3.2.4.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar.....  | 70        |
| 3.2.4.2. Sıçanlara Verilen Bitki Ekstraktlarının, İlaç ve Karbontetraklorürün Hazırlanması..... | 70        |
| 3.2.4.3. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması.....  | 71        |
| 3.2.4.4. Vücut Ağırlık Takibi.....  | 72        |
| 3.2.4.5. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması.....   | 72        |
| 3.2.4.6. Doku Homejanatlarının hazırlanması.....  | 72        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.2.5. Biyokimyasal İnceleme.....                                   | 72        |
| 3.3.6. Lowry Metodu ile Protein Miktar Tayini.....                  | 73        |
| 3.3.7. Lipit Peroksidasyonu.....                                    | 74        |
| 3.3.8. Karaciğerin Histopatolojik İncelenmesi.....                  | 75        |
| 3.3.9. İstatistiksel Analiz.....                                    | 75        |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>   | <b>77</b> |
| <b>4. BULGULAR.....</b>   | <b>81</b> |
| 4.1. Toplam fenolik bileşen miktarı tayini.....                     | 81        |
| 4.2. Toplam flavonoid bileşen miktar tayini.....                    | 81        |
| 4.3. Sıçan Deneyi.....  | 82        |
| 4.3.1. Sıçan Vücut Ağırlığı.....                                    | 82        |
| 4.3.2. Sıçanların, Karaciğer, Beyin ve Böbrek doku ağırlıkları..... | 83        |
| 4.4. Biyokimyal parametreler.....                                   | 83        |
| 4.5. Protein miktar tayini.....                                     | 84        |
| 4.5.1. Karaciğer doku örneklerinde protein miktar tayini.....       | 85        |
| 4.5.2. Beyin doku örneklerinde protein miktar tayini.....           | 85        |
| 4.5.3. Böbrek doku örneklerinde protein miktar tayini.....          | 85        |
| 4.6. Lipit peroksidasyonu.....                                      | 86        |
| 4.6.1. Karaciğer doku örneklerinde MDA düzeyi.....                  | 86        |
| 4.6.2. Beyin doku örneklerinde MDA düzeyi .....                     | 87        |
| 4.6.3. Böbrek doku örneklerinde MDA düzeyi.....                     | 87        |
| 4.7. Histolojik Bulgular.....                                       | 88        |
| 4.7.1. Karaciğer Dokularının Histopatolojik Değerlendirilmesi.....  | 88        |

|   |     |
|---|-----|
| 4.7.2. Böbrek Dokularının Histopatolojik Değerlendirilmesi..... | 89  |
| 4.7.3. Beyin Dokularının Histopatolojik Değerlendirilmesi.....  | 91  |
| 4.8. ÇİZELGELER, ŞEKİLLER, RESİMLER.....                        | 92  |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....                                       | 112 |
| KAYNAKLAR.....  | 121 |
| ÖZGEÇMİŞ.....   | 123 |

## **ÇİZELGELER DİZİSİ ( TABLOLARIN LİSTESİ)**

**Tablo 2.1.** Karaciğerin başlıca fonksiyonları.

**Tablo 3.1.** Çalışma gruplarına verilen yem içeriği.

**Tablo 4.1.** Nar suyu, Üzüm suyu ve Üzüm çekirdeğinin fenolik bileşen miktarı ( $\mu\text{g}$  GAE/mL,  $\mu\text{g}$  GAE/mg).

**Tablo 4.2.** Nar suyu, Üzüm suyu ve Üzüm çekirdeğinin flavonoid bileşen miktarı ( $\mu\text{g}$  QUE/mL,  $\mu\text{g}$  QUE/mg).

**Tablo 4.3.** Çalışma gruplarındaki sıçan vücut ağırlıklarının zamana bağlı olarak ortalama değişimi.

**Tablo 4.4.** Çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğer, beyin, böbrek doku ağırlıklarının ortalama değerleri.

**Tablo 4.5.** Çalışılan grupların ortalama serum AST, ALT, Albümin ve Bilirubin değerleri.

**Tablo 4.6.** Her bir grupta bulunan karaciğer, beyin, böbrek dokularının ortalama protein miktarının mg/g doku cinsinden değerleri.

**Tablo 4.7.** Her bir grupta bulunan karaciğer, beyin, böbrek dokularının ortalama MDA miktarının nmol/g cinsinden değerleri.

## **ŞEKİL VE GRAFİKLER DİZİNİ**

**Şekil.2.1.** Karaciğer

**Şekil. 2. 2.** Karaciğer lobunun kesiti

**Şekil 2.3.** Glukuronidasyonun genel mekanizması

**Şekil 2.4.** Bromfeniramin'nin glisinle konjüge olarak atılımı

**Şekil 2.5.** Glutatiyon konjugatları (merkaptürik asit konjugatı)

**Şekil 2.6.** Sülfatasyon

**Şekil 2.7.** Asetilasyon

**Şekil 2.8.** Metilasyon

**Şekil 2.9.** Enzimle katalizlenen transaminasyonlar

**Şekil 2.10.** Hem'in bilirubine yıkımı

**Şekil 2.11.** Bilirubine bağlanmış glukuronat birimi

**Şekil 2.12.** Lipit molekülünün metilen karbonundan bir hidrojen koparılması sonucu karbon merkezli lipit radikali oluşumu

**Şekil 2.13.** Moleküler düzenleme ile konjuge dien oluşumu

**Şekil 2.14.** Konjuge dienin moleküler oksijen ile reaksiyona girip lipit peroksil radikali oluşturması

**Şekil 2.15.** Lipit peroksil radikalının başka lipit molekülleri ile reaksiyona girmesi ve zincir tepkimelerini başlatması.

**Şekil 2.16.** Son ürün olan malondialdehit oluşumu.

**Şekil.2.17.** Ursodeoksikolik asit

**Şekil.2.18.** Fenol ve flavonoid moleküllerinin genel yapısı

**Şekil. 3.1.** Üzüm çekirdek ekstraktının hazırlanması

**Şekil. 3.2.** Gallik asit.

**Şekil 3.3.** Quercetin molekülü ve  $Al^{3+}$  ile yaptığı kompleks yapı.

**Şekil 5.1.** MDA 'nın proteinlerle etkileşmesi

**Şekil 5.2.** TBA'nın MDA'a ile oluşturduğu kompleks

**Grafik 4.1.** Gallik asidin artan konsantrasyonlarına karşı ölçülen absorban değerleri

**Grafik 4.2.** Quercetin artan konsantrasyonlarına karşı ölçülen absorban değerleri.

**Grafik 4.3.** Çalışma gruplarında serum AST değeri.

**Grafik 4.4.** Çalışma gruplarında serum ALT değeri.

**Grafik 4.5.** Çalışma gruplarında serum Albumin değerleri

**Grafik 4.6.** Çalışma gruplarında serum bilirubin değerleri.

**Grafik 4.7.** Karaciğer dokusunda protein miktarı.

**Grafik 4.8.** Beyin dokusunda protin miktarı.

**Grafik 4.9.** Böbrek dokusunda protin miktarı.

**Grafik 4. 10.** Karaciğer dokusundaki MDA miktarı

**Grafik 4.11.** Beyin dokusundaki MDA miktarı

**Grafik 4.12.** Böbrek dokusundaki MDA miktarı

## RESİMLER DİZİNİ

**Resim 3.1.** *Punica granatum*

**Resim 3.2.** *Vitis vinifera L*

**Resim 3.3.** Sıçanların diyet uygulaması

**Resim-1:** Kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü.

**Resim-2:** Kontrol grubuna ait böbreğin histolojik görünümü.

**Resim-3:** Kontrol grubuna ait beyinin histolojik görünümü.

**Resim-4:** Karbontetraklorür uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik görünümü.

**Resim-5:** Karbontetraklorür uygulanan gruba ait böbreğin histolojik görünümü.

**Resim-6:** Karbontetraklorür uygulanan gruba ait beyinin histolojik görünümü.

**Resim-7:** Üzüm çekirdeği grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü.

**Resim-8:** Üzüm çekirdeği grubuna ait böbreğin histolojik görünümü.

**Resim-9:** Üzüm çekirdeği grubuna ait beyinin histolojik görünümü.

**Resim-10:** Üzüm suyu grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü.

**Resim-11:** Üzüm suyu grubuna ait böbreğin histolojik görünümü.

**Resim-12:** Üzüm suyu grubuna ait beyinin histolojik görünümü.

**Resim-13:** Nar suyu grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü.

**Resim-14:** Nar suyu grubuna ait böbreğin histolojik görünümü.

**Resim-15:** Nar suyu grubuna ait beyinin histolojik görünümü.

**Resim-16:** İlaç grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü.

**Resim-17:** İlaç grubuna ait böbreğin histolojik görünümü.

**Resim-18:** İlaç grubuna ait beyinin histolojik görünümü.



## KISALTMALAR

|                                 |                                       |
|---------------------------------|---------------------------------------|
| DNA                             | Deoksiribonükleik asit                |
| BHA                             | Bütillenmiş hidroksianisol            |
| BHT                             | Bütillenmiş hidroksitoluen            |
| CCl <sub>4</sub>                | Karbontetraklorür                     |
| O <sub>2</sub>                  | Moleküler oksijen                     |
| NADPH                           | Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat |
| CYP                             | Sitokrom P-450 enzimleri              |
| PAPS                            | Adenozin 3'-fosfat-5'-fosfosülfat     |
| APS                             | Adenozin 5'-fosfosülfat               |
| AST                             | Aspartat aminotransferaz              |
| ALT                             | Alanin aminotransferaz                |
| PLP                             | Piridoksal fosfat                     |
| MDA                             | Malondialdehit                        |
| EDTA                            | Etilendiamin tetraasetikasit          |
| Na-K-Tartarat                   | Sodyum-potasyum tartarat              |
| BSA                             | Bovine serum albumin                  |
| TCA                             | Trikloroasetikasit                    |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | Sodyum karbonat                       |
| DEHEK                           | Deney Hayvanları Etik Kurulu          |
| TMP                             | 1,1,3,3-tetrametoksipropan            |
| TBA                             | Tiobarbitürük asit                    |
| TBHQ                            | Tersiyer butil hidroksikinin          |
| EDTA                            | Etilendiamin tetraasetikasit          |

COX-2

Siklooksigenaz

ROS

Reaktif oksijen türleri

## 1.GİRİŞ

Karaciğer, diyaframın hemen altında, sağ tarafta, yaklaşık olarak 2 kilogram ağırlığında koyu kırmızı renkte yumuşak bir organdır. Yaşamak için gerekli olan birçok kimyasal olay burada meydana gelir. Karaciğer; safra salgılar, yağ, protein ve şeker metabolizmasını düzenler, bunların yapımı için gerekli olan maddeleri depolar, vücudun ihtiyacı olan vitaminleri depolar, kan miktarını ayarlar ve bunun yanısıra hormon düzeylerinin düzenlenmesinde de rol oynar. Karaciğer yukarıda belirtilen görevlerin herhangi birini yapamaz hale gelecek olursa, çeşitli hastalıklar ortaya çıkar. Bunların en önemlileri karaciğer yetersizliği, karaciğer yağlanması ve iltihaplanması, karaciğer sirozu, safra kesesi iltihabı ve safra kesesi taşıdır.

Karaciğer hasarları oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluşmaktadır. Karaciğer hastalıklarından dikkat çekenlerden biri olan karaciğer sirozu ve fibrosisi, kronik hepatoselüler yarılanmaya yanıt olarak gelişir. Reaktif serbest radikallerinin üretiminin artmasının hepatic fibrosisin patojenesisi ile ilişkili olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir.<sup>1</sup> Böylece üretilen serbest radikaller karaciğerde antioksidan savunmaları aşarak hücre membranlarının oksidatif yıkımına ve ciddi doku hasarına sebep olur.<sup>2</sup>

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında parakuat, allosan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbontetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeleri saymak mümkündür. Karaciğer; ilaçlar ve toksinler gibi

ekzojen bileşiklerin zehirsizleştirilmesinde primer organdır. İlaçların metabolizmasında ve genel olarak zehirsizleştirilmesinde önemli rolü olan karaciğer, toksik zedelenmeler için özellikle risk altındadır<sup>3</sup>. karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>), deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan bir ksenobiyotiktir. Karaciğerde toksik hasar oluşturan CCl<sub>4</sub>, ksenobiyotik sistem üzerinden hepatotoksik etki gösteren, karaciğere toksik ve koruyucu etkisi olan ilaçlarda sıklıkla kullanılan iyi tanımlanmış bir modeldir.

Karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) doku hasarına sebep olan serbest radikalleri üreten bir hepatotoksindir. karbontetraklorür, karaciğerde, sitokrom P-450 tarafından triklorometil (CCl<sub>3</sub>) serbest radikaline dönüştürülür. Bu radikalın oksijenle reaksiyonu sonucu meydana gelen peroksil (CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) radikali de kuvvetli bir lipid peroksidasyon başlatıcısıdır. Bu yağ asitlerinin peroksidasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkan 4-hidroksinonenal ve malondialdehit gibi sitotoksik aldehytler, lipit ve proteinlere de zararlı etki gösterir, sonuç olarak hücrenin fonksiyonunu kaybetmesine ve ölmesine neden olur.<sup>3,4</sup>

Serbest radikallerin zarar verici etkileri birçok hastalığın nedeni olarak gösterilmektedir. Kardiyovasküler, akciğer ve karaciğer rahatsızlıkları ile kanser ve yaşlanma, dokularda oluşan lipit peroksit ürünlerinin büyüklüğü ile doğru orantılıdır.<sup>5,6</sup> Serbest radikallerin hücresel hasarını önlemek için vücutta birçok savunma sistemleri gelişmiştir. Bunlara antioksidan savunma sistemleri adı verilir. Antioksidanlar, oksidasyonu tamamen önlemeyen, ancak inhibe eden veya geciktiren bileşikler olarak tanımlanabilir.<sup>5</sup>

Vücudun endojen savunma sisteminin düzenli ve dengeli bir diyetle alınacak antioksidan bileşikler ile desteklenmesi gerekmektedir. Bu yüzden diyetle

antioksidan alımında artma veya antioksidanlarla zenginleştirilmiş gıdalar giderek önem kazanmaktadır. Sentetik antioksidanların insan sağlığı açısından potansiyel toksik olabileceğinin öne sürülmesi, özellikle günümüzde tüketici tercihlerini doğal tarımsal ürünlere yöneltmiş ve işlenmiş gıdalarda da sağlık, kalite ve güvenlik arayışlarını ön plana çıkarmıştır. Günümüzde sentetik antioksidanlara karşı, doğal antioksidanların yiyeceklerdeki önemi kadar koruyucu hekimlikteki önemi de artmaktadır.<sup>7</sup> Doğal ve bitkisel kaynaklardan yeni antioksidan arayışı artarak devam ederken bu kaynakların ucuz, yenilebilir ve bol bulunur olması da önemli bir konudur.

Bitki ekstraktlarının antioksidant özellikleri polifenol içeriklerine dayandırılır. Bu yüzden polifenol içeriği yüksek bitkiler doğal antioksidantlar olarak büyük bir öneme sahiptir.<sup>8</sup> Bu içerik bakımından zengin olan üzüm ve nar önemli antioksidant meyveler arasındadır. Üzümün antioksidant aktivitesi antisiyaninler, flavonoler, flavin-3-ol, prosiyanidinler ve fenolik asitler gibi fenolik bileşimlerle doğru orantılıdır. Ayrıca bu bileşiklerin hem lipit hem de protein oksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>9</sup> Nar birçok kültürlerde geleneksel tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Yakın bir zamanda nar suyu ve hatta fermente nar suyunun yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Tüm bu aktiviteler nar suyunda bulunan punicalagin izomerleri, ellagic asid türevleri ve antosiyaninler (delphinidin, syanidin ve pelargonidin 3- glucocyanins) gibi fenolik bileşiklerle ilişkilidir. Bu bileşiklerin serbest radikalleri söndürme ve *in vitro* lipit oksidasyonunu inhibe etme özellikleri olduğu bilinmektedir.<sup>9</sup>

Yaklaşık 100 bin tonluk nar üretimiyle üçüncü ve 300 bin tonluk üzüm üretimiyle de Dünya da 6. (FAO, 2007) sırada yer alan Türkiye bağıcılığı, ülke

ekonomisine katkısı bakımından büyük öneme sahiptir.<sup>10</sup> Yetiştirilme alanı ve üretim miktarı bakımından dünyada ve ülkemizde ilk sıralarda yer alan meyvelerden olan üzüm ve narın yetiştiriciliği bakımından Güney Doğu Anadolu Bölgesi önemli bir potansiyeldir. Şu ana kadar bölgede yetiştiriciliği yapılan bu çeşitlerin kalite ve antioksidant özelliklerini belirlemeye yönelik bir envanter çalışması bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişen üzüm (üzüm suyu ve çekirdeği) ve narın (nar suyunun) CCl<sub>4</sub> ile karaciğer hasarı oluşturulmuş farelerde *in vivo* lipid peroksidasyonu önleme etkisinin araştırılması ve histopatolojik etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

## 1.1.KAYNAKLAR

1. Fang, H.L.; Lin, W.C. *Food and Chemical Toxicology*, 46, **2008**, 2267–2273.
2. Bildik, A.; Ertekin, A.; Yur, F.; Dede, S. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1997**, 8, 1–2, 6–8.
3. Efesun, Ş.A. *Beta Talasemide Oksidatif Stres*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, **2005**.
4. Memişoğulları, R. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, **2005**, 3, 30-39.
5. Celikezen, F. C.; Ertekin, A. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2008**, 2, 17–20.
6. Altan, N.; Dinçel, A.S.; Koca, C. *Turkish Journal of Biochemistry*, **2006**, 31, 2, 51–56.
7. Alaca, F.G.; Arabacı, O. *Bazı Tıbbi Bitkilerindeki Doğal Anitoksidantların Ve Önemi*, Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, 5-9 Eylül **2005**, Antalya (Derleme Sunusu Cilt I, 465-470s).
8. Baydar, N.G.; Özkan, G.; Yaşar, S. *Food Control*, **2007**, 18, 1131–1136.
9. Hogan, S.; Zhang, L.; Li, J.; Zoecklein, B.; Zhou, K. *Food Science and Technology*, **2009**, 42, 1269–1274.
10. Dünya üzüm üretimi. [http://faostat.fao.org/site/567/Default.aspx, sayfa10=567# ancor](http://faostat.fao.org/site/567/Default.aspx?sayfa10=567# ancor), **2007**.

## **2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. KARACİĞER**

#### **2.1.1. Karaciğerin Anatomisi**

Karaciğer, diyaframın hemen altında, vücudun göğüs kafesinin sağ alt bölgesinde bulunan, yaklaşık olarak 2 kilogram ağırlığında koyu kırmızı renkte yumuşak bir organdır. Hem endokrin, hem de ekzokrin bir bezdir. Lobus dexter (sağ) ve lobus sinister (sol) olmak üzere iki lobdan oluşur (şekil 2.1.). Ayrıca sağ lobun alt yüzünde iki küçük lob daha bulunur. Bunlar lobus kuadratus önde ve alt yüzde, lobus kaudatus arka yüzdedir. (anatomi). Yaşamak için gerekli olan birçok kimyasal olay burada meydana gelir. Embriyolojik dönemde karın boşluğunda, mesenterium ventrale denilen bir karın zarı aracılığıyla karın ön duvarına bağlanmış durumdadır.<sup>1</sup>

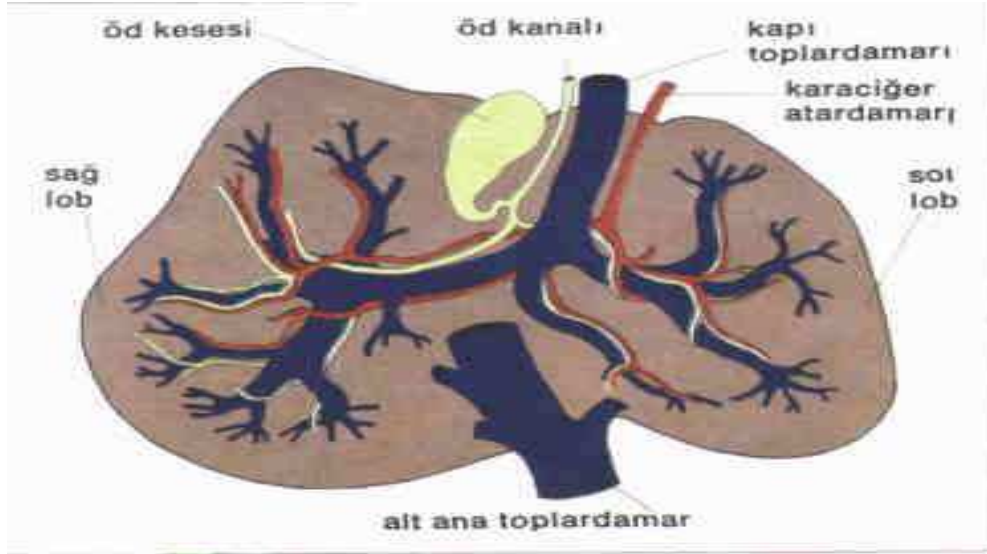
Yetişkin bir insanda karaciğer toplam vücut ağırlığının %2-3'ünü oluşturmasına karşın, organdan geçen kan dakikada 1400-1500 ml olup, dolaşımdaki kanın % 25-30'u kadardır. Organdan geçen kan 300-400 ml'si hepatik arter (karaciğer atardamarı), 1100 ml kadarı (yaklaşık % 85) portal venden, gelir. Karaciğer genişleyebilen bir organ olduğu için kendi kan damarında büyük miktarda kan depolayabilir. Sağ atriumda (kalp kulakçığı) basınç yükselirse veya konjestif (dolaşım ile ilgili bozukluk) kalp yetmezliğinde, karaciğerde de basınç artar ve genişleyerek 0,5-1,0 lt. ekstra kanı, hepatik venler ve sinüzoidlerde depolayabilir.<sup>1</sup>

Karaciğere gelen kanın yaklaşık % 80'i bağırsak, dalak ve pankreasın kanlarını toplayan portal venden, % 20'si ise hepatik arterden sağlanır. Hepatik arter sinüzoidal kanın oksijen içeriğini ve basıncını yükseltir. Portal ven ve hepatik arter karaciğerin alt yüzünden karaciğere girerler, gittikçe daha küçük dallara ayrılarak



lobüler dalları oluştururlar. Sinüzoidlerde arteriyel (atardamar) ve portal kanlar bir birine karışırlar.

İnsan vücudunda intraabdomina (karın içi) olarak karaciğerden başka hem arterilize (temiz) hem de venöz (kirli) kanın geldiği başka organ yoktur.<sup>1</sup>

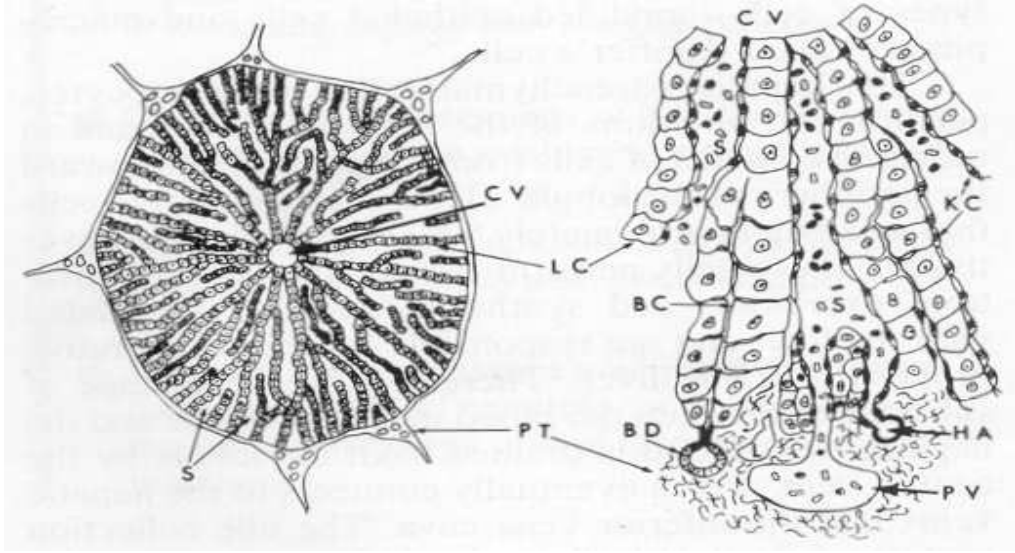


**Şekil.2.1.** Karaciğer

### 2.1.2. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğerin fonksiyonel ünitesi lobüldür. Bir lobül, horizontal (yatay) kesitte altı köşeli görülür; merkezde bir santral ven vardır. Karaciğerin poligonallı parankim (karaciğere özgü doku) hücreleri santral venden (CV) lobülün çevresine doğru her doğrultuda kordlar (LC) (ince uzun tel şeklindeki anatomik yapı) şeklinde yayılmışlardır. Bu kordların içinde duvarları karaciğer hücreleri tarafından oluşturulan tüp boşluklar halinde safra kanalikülleri (BC, safra kanalcıkları) bulunur. Safra kanalcıkları lobülün dışına doğru yayılırlar ve lobüller arasında safra kanallarına (BD) bağlanırlar. Lobülün çevresinden içeriye doğru portal venin (PV) ve

hepatik arterin (HA) küçük dalları yayılarak sinüzoid (S) denen genişlemiş kapillerlere ulaşırlar. Sinüzoidler, karaciğer parankim hücre dizilerinin oluşturduğu kordları bir birinden ayırırlar. Sinüzoidlerin içinden akan kan santral vene (CV) boşalır (şekil.2.2.).



**Şekil. 2. 2.** Karaciğer lobunun kesiti

Santral venler birbiriyle birleşerek hepatik venlerin sublobüler (lobüllerin altında) dallarını oluştururlar. Hepatik venler de vena kava inferiora (kalbin alt tarafında kalan organların kirli kanının toplandığı ve bu kanı kalbe getiren büyük toplardamar) ile birleşirler.

Karaciğerde sinüzoidlerin iç tarafları, endotelial hücrelerle örtülmüştür. Endotelial hücrelerle hepatik hücreler arasında disse aralıkları denen aralıklar plazma filtratı ile doludur. Endotelial hücrelerin bazıları mikroskopik kesitte genişlemiş ve sinüzoidin boşluğuna doğru uzamış görünen Kupffer hücreleridirler. Kupffer hücreleri, plazmadan bilirubini, boyaları, özel maddeleri ve harap olmuş

eritrositleri alırlar. Kupffer hücreleri retikuloendoteliyal sistemin bir kısmını oluştururlar.

#### **2.1.2.1. Kupffer Hücreleri (Yıldız Hücreler)**

Yıldız hücreler karaciğerde bulunan ve endoteliyal sistemin bir bölümünü oluşturan özelleşmiş makrofajlardır. İlk kez Karl Wilhelm von Kupffer tarafından 1976 yılında gözlemlenmişlerdir.<sup>2</sup> Bu hücreler prostoglandin ve tromboksan salgılayarak organizmada geniş spektrumlu bir hücre popülasyonuna etki ederler.<sup>3,4</sup> Bu hücrelerin hepatositler ile olan hücreler arası haberleşme ve etkileşimlerinde oldukça önemlidir.

#### **2.1.2.2. Hepatosit Hücreleri**

Karaciğerdeki hücrelerin % 65'ini, karaciğer hacminin % 80'ini hepatositler oluşturur. Her hepatosit karaciğere ait her işlevi yerine getirebilir. Hepatosit yuvarlak bir çekirdeğe ve bol miktarda kaba endoplazmik retikulumu sahiptir. Bu yapılardaki poliribozomlarda birkaç tip protein sentezi (kan albümini, fibrinojen) yapılır. Sitoplazma içinde yaygın olarak dağılmış düz endoplazmik retikulumda çeşitli bir takım önemli işlevler gerçekleştirilir. Bu organel, çeşitli maddelerin vücuttan atılmadan önce etkisizleştirilmesi ya da zehirlenmeyi önlemek için gerekli oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon işlemlerinden sorumludur.<sup>5</sup> Hepatosit sıklıkla glikojen içerir. Bu polisakkarit elektron mikroskopunda, genellikle sitozolde düz endoplazmik retikulumun yakınında toplanmış, kaba granüller halinde görülür. Her bir hepatositte yaklaşık 2000 mitokondri bulunur. Hepatosit lizozomları hücre içi organellerin yıkımı ve dönüşümü için önemlidir. Peroksizomlar da lizozomlar gibi enzim içeren ve hepatositlerde bol miktarda bulunan organellerdir. Karaciğerde Golgi kompleksleri de bol miktardadır. Sayıları her bir hücrede 50 adede yakındır.

Hepatosit vücudun çok yönlü özelliği olan hücrelidir. Bağırsaklardan emilen besin maddeleri bu hücrelere gelerek vücuda yararlı hale getirilir. Bu hücreler bazı maddelerin sentezini yapar ve biriktirir, bazılarını zararsızlaştırır. Artık maddeleri karaciğerden uzaklaştıran safra sıvısını salgılar.<sup>6,7</sup>

### **2.1.3. Karaciğerin Fonksiyonları**

Günde yaklaşık 4 su bardağı (1lt ) safra salgılar, yağ protein ve karbonhidrat metabolizmasını düzenler. Serum proteinlerin sentezi, vücudun, ihtiyacı olan vitaminleri, yağ, şeker ve kan yapımı için gerekli olan maddeleri depolar, kan miktarını ayarlar (kan hücrelerinin yapımı), hormonların görevleri üzerinde etkili olur.<sup>8</sup> Üre sentezi, boşaltım işlevi, zehirsizleştirme işlevi ile endojen atık ürünlerin ve zararlı ksenobiyotiklerin, safra ile atılmasını sağlar (tablo 2.1.).

#### **2.1.3.1. Protein sentezi**

Hepatosit, kendisi için gerekli proteinlere ek olarak, salgılamak üzere çeşitli plazma proteinleri de (albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler) sentezler. Bu proteinlerin sentezi kaba endoplazma retikulumuna bağlı poliribozomlarda gerçekleşir. Genellikle hepatositler proteinleri salgı granülleri halinde sitoplazmasında depolamaz, sürekli olarak kan dolaşımına verir. Karaciğer tarafından dışarıya verilen proteinin yaklaşık % 5'i makrofaj sisteminin hücreleri (Kupffer hücreleri) tarafından üretilir, geri kalan bölüm hepatositlerde sentezlenir.<sup>5</sup>

**Tablo. 2.1. Karaciğerin başlıca fonksiyonları**

|                 |   |
|-----------------|---|
| Metabolizma     | Karbonhidrat<br>Lipit<br>Amino asitler ve proteinler<br>Bilirubin<br>Hormonlar        |
| Salgı           | Safra asidi<br>Kolesterol<br>Bilirubin  |
| Hematoloji      | Pıhtılaşma faktörlerinin üretimi<br>Fetüstaki kırmızı kan hücrelerinin üretimi        |
| Detoksifikasyon | Amonyak<br>Bilirubin<br>Alkol<br>İlaçlar  |
| Depolama        | Glikojen<br>Lipitler<br>Amino asitler ve proteinler<br>İyonlar<br>Vitaminler<br>Bakır |
| Immunolojik     | Bakteriler ve diğer yabancı maddelerin<br>Patolojik olarak temizlenmesi               |

### **2.1.3.2. Safra salgılaması**

Safra salgılanması, hepatositlerin kandaki maddeleri alıp, dönüştürerek safra kanalcıkları içine salgılamaları nedeniyle bir anlamda ekzokirin bir fonksiyondur. Safra, su ve elektrolitlere ek olarak birkaç ana bileşene daha sahiptir; bunlar safra asitleri, fosfolipitler, kolesterol ve bilirubindir. Bu maddelerin yaklaşık %90'ı uzak barsak epitelinden emilim yoluyla alınır ve hepatositler aracılığıyla kandan safra kanalcıklarına taşınır. Safra asitleri sindirim sisteminde lipitlerin emülsiyon haline

getirilmesinde önemli bir işlev görerek bunların lipaz ile sindirilmesini ve ardında emilmesini kolaylaştırır.

Karaciğer tarafından sürekli olarak salgılanan safra normalde duodenumda gereksinim doğuncaya kadar safra kesesinde depolanır.

### **2.1.3.3. Depo fonksiyonu**

Lipitler ve karbonhidratlar, karaciğerde trigliserid ve glikojen şeklinde depolanır. Bu metabolit depolama kapasitesi, vücudun öğünler arasındaki enerji gereksinimini karşıladığı için önemlidir. Karaciğer, vücudun özellikle A, D ve B<sub>12</sub> vitamini için en büyük depolanma yeridir. Vücutta, kandaki hemoglobinde bulunan demir dışındaki, demirin en büyük bölümü normalde karaciğerde ferritin şeklinde depo edilir. Ayrıca karaciğer, kan hacmi aşırı şekilde arttığında kan deposu olarak görev yapabilen ve kan hacmi azaldığında ise ekstra kan sağlama yeteneği olan bir organdır.

### **2.1.4. Karaciğerin Metabolik Fonksiyonları**

#### **2.1.4.1. Karbonhidrat metabolizması**

Karaciğer karbonhidrat metabolizması ile ilgili fonksiyonları, glikojenin depo edilmesi ve parçalanması, glukoneojenez, glukozun pentoz fosfat yolunda yıkılımı, galaktoz ve fruktozun dönüştürülmesi, glukozun diğer monosakkaridlere ve lipitlere dönüştürülmesidir.

#### **2.1.4.2. Lipit metabolizması**

Karaciğerin lipid metabolizması ile ilgili fonksiyonları, yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, yağ asitlerinden trigliserid oluşumu, fosfolipid sentezi, lipoproteinlerin sentezi, keton cisimlerinin sentezi, kolesterol biyosentezi, safra asitlerinin ve safranin oluşturulmasıdır.

### **2.1.4.3. Amino asit ve protein metabolizması**

Diyetten ve doku proteinlerinin yıkımından kaynaklanan amino asitler karaciğere taşınırlar. Bazıları keto-asitlere transamine olurken, geri kalanı üre ve amonyağa çevrilir. Karaciğer ayrıca lenfoid dokular tarafından sentezlenen immunoglobulinler dışındaki çoğu plazma proteinini de sentezler.

### **2.1.5. Karaciğer hasarı**

Diğer organların, karaciğerin metabolik fonksiyonlarına olan kritik bağımlılığı nedeniyle, karaciğer ile ilgili hastalıkların çok etkileri söz konusudur. Karaciğer hastalığı ve bunun sonuçlarının karakteristik bir yapısı vardır. Morfolojik açıdan bakıldığında, karaciğer, hasar verici nitelikteki olaylara sınırlı yanıt vermesiyle oldukça basit bir organdır. Nedene bakılmaksızın, beş adet genel cevap şekli vardır. Bunlar;

#### **2.1.5.1. İnflamasyon (iltihaplanma)**

Erken ya da uzun süreli inflamatuvar hücrelerin karaciğere gelmesi ile ilişkili hepatosit hasarına hepatit adı verilir. İnflamasyonu, hepatosit nekrozu (kangren ) izlese de bunun tam tersi de gerçekleşebilir. Uyarılmış t hücrelerinin antijen ekspresyonu (emilasyon) eden karaciğer hücrelerine saldırısı, karaciğer hasarının sık görülen bir nedenidir. İnflamasyon lökositlerin giriş bölgesinde (portal bölgesi) sınırlı olabileceği gibi, tüm parankima da yayılabilir. Hepatositler nekroza uğradığında çöpçü makrofajlar ölü hücreleri hemen içlerine alırlar ve normal parankim içerisinde inflamatuvar hücre grupları oluştururlar. Yabancı cisimler, organizmalar ve çeşitli ilaçlar granümatöz bir reaksiyon başlatabilirler.<sup>8</sup>

### **2.1.5.2. Dejenerasyon (bozulma)**

Toksik ya da immünolojik nedenlerle meydana gelen hasar, hepatositlerin büyük berrak boşluklar içeren düzensiz kümelenmiş sitoplazmalı ödemli bir görünüme sahip olmalarına yol açar. Demir, bakır, atılmayan safra materyali gibi bazı maddeler canlı hepatositlerde birikebilir. Yağ damlacıklarının hepatositler içinde birikmesine steatoz adı verilir. Bu da alkolik karaciğerde ya da şişman ve diyabetik kişilerin karaciğerlerinde görülür.<sup>8</sup>

### **2.1.5.3. Nekroz (yıkım)**

Karaciğerde hasara yol açan herhangi bir olay hepatosit nekrozuna yol açabilir. Nekroz sıklıkla bölgesel bir yayılma gösterir. Bu durum, santral venin (toplardamar) hemen çevresindeki hepatositlerin nekrozunda oldukça belirgindir. Bu tip nekrozda inflamasyona rastlanmaması; İskemik (O<sub>2</sub>'siz kalmaya bağlı beslenememe) hasarın, bazı ilaçlara bağlı ve toksik reaksiyonların karakteristiğidir.<sup>8</sup>

### **2.1.5.4. Fibrozis (bağ dokusu oluşumu)**

İnflamasyona ya da direkt toksik hasara cevap olarak fibrotik doku oluşur. Kollajen birikiminin hepatik kan akımının düzeni ve hepatosit perfüzyonu (kandan dokuya O<sub>2</sub> geçişi) üzerinde uzun süreli sonuçları vardır. Başlangıç döneminde, fibrozis portal bölgenin içinde, çevresinde ya da santral venler çevresinde depolanabilir. Zamanla fibroz bandlar karaciğerin çeşitli bölgelerini birleştirir. Bu olay köprüleşme fibrozisi olarak adlandırılır.

Geri dönüşümü mümkün olan diğer bütün lezyonlardan farklı olarak, fibrozis genelde hepatik hasarın geri dönüşümü olmayan bir sonucudur.<sup>8</sup>



#### **2.1.5.5. Siroz**

Devam eden fibrozis ve parankimal hasar ile karaciğer, rejenere hepatositlerden oluşan ve skar dokusu ile çevrelenmiş nodüllere ayrılır. Buna siroz adı verilir. Normal bir bireyde, karaciğerin %75'nin cerrahi olarak alınması, minimal bir hepatik yetmezliği oluşturur.<sup>9</sup>

Karaciğer fibrozisi ve sirozu kronik hepatoselüler yırtılmaya yanıt olarak gelişir. Reaktif serbest radikallerin üretiminin artması hepatik fibrosisın patojenezis ile ilişkili olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir.<sup>10</sup>

#### **2.1.6. Karaciğer de meydana gelen hastalıklar**

Bunların en önemlileri; hepatitler (A, B ve C), karaciğer yetmezliği, karaciğer sirozu, sarılık, safra kesesi iltihabı ve safra kesesi taşıdır.

##### **2.1.6.1. Hepatitler**

Karaciğer'deki herhangi bir nedene bağlı inflamasyona hepatit denir. Akut veya kronik olabilir. Hepatitlerin otoimmün, metabolik, konjenital, viral, toksik, ilaca bağlı pek çok nedeni vardır. Bunların en önemlilerinden birisi de viral hepatitlerdir. Klinik önemi olan 5 viral hepatit etkeni bilinmektedir. Bunlar A, B, C, E ve D hepatitleridir. Kronik hepatit tablosuna neden olan etkenler B, C ve D hepatitleridir.

Bir viral hepatit tablosunun 6 aydan fazla sürmesi kronik hepatit olarak değerlendirilir. Kronik hepatitler patolojik olarak hafif periportal lenfositik inflamasyondan nekroza ve karaciğer mimarisinin bozulması demek olan siroza kadar bir tabloyu ifade eder. Kronik viral hepatitlerde karaciğer dokusunda kronik inflamasyon vardır. Bunun sonucu olarak fibrozis gelişir ve daha ileri aşama ise sirozdur. Siroz ile kronik hepatit arasındaki en önemli fark sirozda ileri derecede

fibroz doku artışı ve buna bağı olarak karaciğer mimarisi ve fonksiyonlarının bozulmaya başlamasıdır.<sup>11</sup>

### **2.1.6.2. Siroz**

Karaciğer sirozu çeşitli nedenlerle gelişen kronik karaciğer hastalığının ulaştığı nihai evreyi temsil eden bir hastalıktır.

Tanım olarak karaciğerde kronik bir hepatosellüler nekroz ve inflamasyon süreci ile birlikte nodüler rejenerasyon ve fibrosis ile seyreden geri dönüşümsüz bir kronik karaciğer parankim hasarısıdır.

Karaciğer sirozu morfolojik ve etyolojik şeklinde sınıflandırılabilir.

#### **—Morfolojik sınıflandırma**

A) Mikronodüler siroz (nodüller 3mm'den küçüktür)

B) Makronodüler siroz (nodüller 3mm'den büyüktür)

C) Mikst siroz (her iki morfolojik görünümün birlikte olması durumudur).<sup>12</sup>

#### **—Etyolojik sınıflama**

En önemli neden viral hepatitler (A, B, C, D ve E) ve alkoldür. Bunun yanında sistemik hastalıklar, kalıtsal metabolik hastalıklar, ağır metal sirozu, biliyer (safra) hastalıkları ve çeşitli ilaçlar ve toksinler bulunmaktadır.<sup>13</sup>

Karaciğerin fibrozisinin en ileri aşaması sirozdur ve sirozun da pek çok komplikasyonun nedeni karaciğerde gelişen fibrozistir.<sup>11</sup>

Karaciğer sirozunun temel morfolojik görünümünü oluşturan fibrozis, ekstra sellüler matriksin yapımı ile yıkımı arasındaki dengenin bozulmuş olmasının bir neticesidir.<sup>12</sup>

### **2.1.6.3. Sarılık**

Hem konjuge olmamış bilirubin, hem de bilirubin glukuronidler sistemik olarak dokularda depolanabilir ve sarılığa sebep olurlar. Bu özellikle skleralarda (Göz küresinin fibröz ve dirençli fibröz dış membranının opak arka kısmı) sararma şeklinde gözlenir. Safranın normal yollardan atılamaması ve safra ile atılması gereken bilirubin, kolesterol ve safra asitleri gibi maddelerin karaciğerde birikmelerine "kolestaz" denir. Bu birikim, kana da yansır ve söz konusu maddelerin kan düzeyleri de yükselir. Bilirubinin kan düzeyi 2-2.5mg/dl'nin üzerine çıktığında, klinik olarak farkedilebilen sarılık izlenir. Konjuge olmayan bilirubin suda erimediği için, albumine sıkıca bağlanır; kan düzeyi yükselse bile idrarda saptanmaz. Bu tür hiperbilirubinemiler yenidoğanda (ilk 2 haftada kan-beyin bariyeri tam oluşmadığı için) beyinde ağır nöronal zedelenme (kernicterus) yapabilir.<sup>14</sup>

### **2.1.6.4. Karaciğer yetmezliği**

Karaciğer hastalığının en ağır klinik sonucu, karaciğer yetmezliğidir. Bu ani masif hepatik hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkar. Daha sık olarak, progresif karaciğer harabiyetinin son noktasıdır. Progresif karaciğer harabiyeti, ya hepatositlerin sinsi ve yavaş olarak hasara uğraması ya da tekrarlayıcı belirgin parankimal hasar atakları sonucu meydana gelir. Şekli ne olursa olsun, karaciğer yetmezliğinin oluşması için hepatik fonksiyonel kapasitenin % 80-90'nın zarar görmesi gereklidir.

Karaciğer yetmezliğe ile sonuçlanan morfolojik değişiklikleri; masif hepatik nekroz, kronik karaciğer hastalığı, belirgin nekroz olmadan meydana gelen hepatik fonksiyon bozukluğu izler.<sup>15</sup>

#### **2.1.6.5. Safra kesesi iltihabı**

Safra karaciğerin altında ve takriben 4 cm büyüklüğünde ve armut şeklindedir. Safra kesesi karaciğer tarafından üretilen safra sıvısının depolanması işlevini görür. Safra kesesi de her organ gibi iltihaplanabilir. Safra iltihaplanmasının % 90'ı genellikle safra yollarının safra taşı ile tıkanması nedeniyle olur. Safranın yığılması ve safra taşı krampli ağrılarına (kolik) sebep olur. Salmonel kolera, parazitler, verem ve koronar zafiyeti gibi rahatsızlıklar da taşsız safra kesesi iltihaplarına sebep olur.

#### **2.1.6.6. Safra kesesi taşı**

Safra kesesi karaciğerin altındaki özel yerinde yerleşmiştir. Karaciğer tarafından üretilen (safra kesesi, safranın üretildiği yer değildir) sarı-yeşil renkli safraı depolar. Yemekten sonra, safra kesesi, safraı ince bağırsağa salgılayarak yağların sindirimine yardımcı olur.

Safra taşları; safra kesesi içinde oluşan kolesterol kristalleri, pigment materyallerinin yapışarak kümeler oluşturmuş halleridir. Bazı safra bileşikleri (kolesterol gibi) safrada kolaylıkla çözünmez. Bileşikler çok fazla olduğu zaman, çökerek sert kristaller oluştururlar.

#### **2.1.7. Toksik Maddelerin Metabolizması (biyotransformasyon)**

Genel olarak metabolizma “ hayatın devamı için gerekli olan ve organizmada oluşan tüm kimyasal reaksiyonlar” olarak tanımlanabilir. Diğer taraftan bir organizma için yabancı olan kimyasal maddelerin (kenobiyotiklerin) kimyasal değişimleri de ‘metabolizma’ olarak tanımlanırsa da biyotransformasyon bu anlamda daha uygun bir deyim olmaktadır. Çeşitli yollarla organizmaya giren lipofilik kimyasal maddeler enzimlerin katalitik etkisi ile kimyasal reaksiyonlara girerler ve

böylece ‘hidrofilik metabolitle’e dönüşürler. Bir ksenobiyotiğin canlı organizmada uğradığı kimyasal değişmelerin tümüne biyotransformasyon adı verilir. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu organizma için birçok açıdan önem taşımaktadır. Lipitte çözünen apolar kimyasal maddelerin enzimatik reaksiyonlarla daha polar metabolitlere dönüşümleriyle atılımları kolaylaşır. Diğer taraftan yabancı kimyasal bir madde ancak organizmada enzimatik reaksiyonlar sonucu ‘aktif metabolit’e dönüşerek toksik etki gösterebilir. Kendileri *in-vivo* inaktif oldukları halde biyotransformasyon ile biyolojik aktivite kazanan kimyasal maddelere biyotransformasyona uğramadan önce ister biyolojik aktif ana madde olsun, isterse biyolojik aktivitesi olmasın (prodrug: inaktif ana madde), organizmada değişik enzimatik reaksiyonlarla değişik etki gösteren metabolitlere dönüşür ve sonra da konjugasyon ile inaktif hale geçerek atılır. Genel olarak bir ksenobiyotik veya metabolitlerin bu son mekanizma ile biyotransformasyon sonucu toksisitesi azalıyor veya ortadan kalkıyorsa bu olaya detoksikasyon veya detoksifikasyon denilmektedir. Bazen de bahsedildiği gibi kimyasal maddelerin biyotransformasyonu ile çok aktif ara metabolitler oluşabilir. Bu olaya ‘toksikasyon’ veya ‘biyoaktivasyon’ denir. Aktif ara metabolitlerin hücre ölümü, karsinojenik etki, feratojenik etki gibi birçok toksisite olaylarını başlattığı düşünülmektedir. Kimyasal maddenin, biyotransformasyonu ile en çok miktarda oluşan metabolite anametabolit veya majör metabolit, daha az miktarda oluşan metabolizma ürününe de minör metabolit denilmektedir.

Ksenobiyotiklerin biyotransformasyon mekanizmaları iki fazda toplanır:

- 1) Faz I reaksiyonları
- 2) Faz II reaksiyonları

Ksenobiyotiklerin metabolizmadaki bu iki fazın baştan sona amacı, ksenobiyotiklerin sudaki çözünürlüklerini (polarite) artırmak ve bu şekilde vücuttan atılımlarını kolaylaştırmaktır.<sup>16</sup>

Faz I reaksiyonlarında toksik maddede oksitlenme, indirgenme veya hidroliz sonucu polar bir grup oluşur. Yani toksik maddeye fonksiyonel grup ilave edilir. Faz II reaksiyonlarında da ise fonksiyonel gruba başka bir madde bağlanarak konjugasyon veya sentez olayları gerçekleşir

Ksenobiyotikler sitokrom P-450 metabolizmasıyla aktifleştikten sonra faz II reaksiyonları olarak bildiğimiz glukoronidasyon, sülfatasyon, metilasyon, asetilasyon ve glutatyon ile konjugasyon reaksiyonlarından biriyle metabolize edilmektedir. Böylece aktive maddeler reaktif olmayan ve suda çözünebilir ürünler olarak safra ya da idrarla atılmak üzere organizmadan uzaklaştırılır. Faz I ve Faz II enzim aktiviteleri arasında denge ksenobiyotiklerin organizma cevabında önemlidir.<sup>16</sup>

#### **2.1.7.1. Faz I**

Bu fazda lipitte çözünen ksenobiyotikler daha polar moleküller haline geçerler.<sup>12</sup>

Ana bileşiğe ya işlevsel bir grup ekler ya da ana bileşikteki işlevsel bir grubu maskelerler. Faz I reaksiyonları genellikle farmakolojik aktivitenin kaybolmasına neden olmakla beraber ilaç aktivitesinin gecikmesine ya da artmasına neden olabilir. Faz I biyotransformasyon ürünleri hızla idrar içine atılmazlarsa endojen bileşiklerle reaksiyona girerek suda çözünürlüğü çok yüksek olan konjugatları oluştururlar.<sup>11</sup>

Faz I reaksiyonları biyotransformasyonun en önemli yolunu oluşturur. Özellikle oksidasyon-redüksiyon (redoks) reaksiyonları ve bunları kataliz eden enzim sistemleri yabancı kimyasal maddelerin biyotransformasyonunda geniş yer

alırlar. Bu sistemde rol oynayan en önemli enzim sistemleri ise sitokrom P-450 sistemi (polisubstrat monooksijenaz sistemi) ve karışık fonksiyonlu amin oksidazdır.<sup>17</sup>

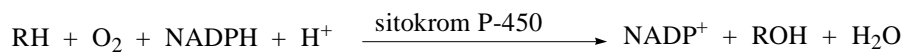
### **Faz I sisteminin temel enzimleri;**

#### **1) Sitokrom P-450 (CYP-450) enzimi;**

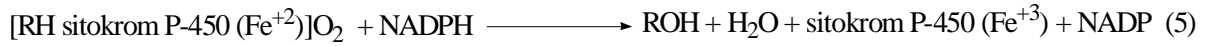
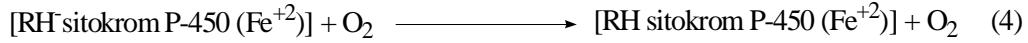
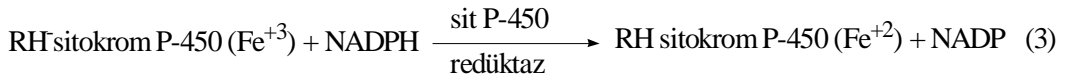
Sitokrom P-450 sistemi; sitokrom P-450' nin bulunuşu biyokimya, toksikoloji, farmakoloji ve fizyolojide önemli araştırma ve gelişmelere yol açan bir olay olmuştur. İlk kez, birbirinden bağımsız olarak, Klingenberg sıçan karaciğeri homojenatından, Garfmkel ise domuz karaciğer homojenatından elde ettikleri mikrozomlar içerisinde sitokrom P-450'yi tanımlamışlardır. Sitokrom P-450 demirli bir pigment olup indirgenmiş şeklinin karbonmonoksitle (CO) verdiği kompleks, spektrofotometrede 450 nm de maksimum absorbands verir. Bu nedenle de sitokrom P-450 adı verilmiştir. Sitokrom P-450' nin, demirli bir pigment olup b-tipi bir hemositokrom olduğu, ilk bulunuşundan 6 yıl sonra Omura ve Sato tarafından bildirilmiştir. Başlıca hepatik mikrozomlarda yerleşmiş olan sitokrom P-450, membranlardan proteaz enzimleri yardımı ile izole edilirler. Bu izolasyon sırasında sitokrom P-450, inaktif hale dönüşür.<sup>18</sup>

#### **Sitokrom P-450-Monooksijenazların Katalizlediği Faz I Reaksiyonları;**

Sitokrom P-450 sistemi veya monooksijenazlar (karışık fonksiyonlu oksidazlar) olarak da bilinen enzimler, substrata (RH) moleküler oksijen (O<sub>2</sub>)'nin bir atomunu aktararak yükseltgenmesini sağlarken (ROH), diğer taraftan oksijenin diğer atomunun su şeklinde (H<sub>2</sub>O) indirgenmesine yol açan reaksiyonları kataliz eder:



Bu reaksiyonda NADPH da kullanılır. Yukarıda basit olarak gösterilen reaksiyon aslında bir çok reaksiyon basamaklarını içeren kompleks bir katalitik reaksiyon devrinden oluşmuştur. Reaksiyonun basamakları ve elektron akış şekli aşağıdaki gibi daha açık olarak gösterilebilir.



Bu reaksiyon basamaklarında: Önce sitokrom P-450 oksitlenir (reaksiyon 1); yükseltgenmiş sitokrom P-450 (Fe<sup>+++</sup>) ile substratın (RH) oluşturduğu kompleks (reaksiyon 2) NADPH'dan bir elektronu NADPH-sitokrom P-450 redüktaz enzimi aracılığı ile alır ve hemdeki Fe<sup>+</sup>, Fe<sup>2+</sup>,ye indirgenir (reaksiyon 3); bu indirgenmiş sitokrom P-450 (Fe<sup>2+</sup>) substrat kompleksi, moleküler O<sub>2</sub> birleşir (reaksiyon 4); ve NADH aracılığı ile sitokrom b<sub>5</sub> den ileri geldiği düşünülmektedir. Ancak bu enzimin fonksiyonu tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla beraber her iki elektronun da moleküler O<sub>2</sub>' ne transfer edildiği düşünülmektedir. Substrat-Sitokrom P-450 moleküler oksijen kompleksi dayanıklı değildir, bu nedenle parçalanarak, aktif oksijenin bir atomu substratla birleşirken (ROH), diğer atomu su haline geçer. Sitokrom P-450 (Fe<sup>2+</sup>) ise tekrar yükseltgenmiş şekline dönüşür (reaksiyon 5).

Mikrozomal monooksijenaz reaksiyonları, moleküler oksijenin rolü ve elektron sağlanması açısından diğer enzimatik reaksiyonlarla temelde aynıdır. Ancak



enzimler seçici olmayıp, değişik ksenobiyoik (substrat) reaksiyonlarını kataliz ederler, değişik ürünler oluşur. Ayrıca bir substrat birden fazla reaksiyona da girer.<sup>17</sup>

İlaç veya toksik maddelerin metabolizmasında rol oynayan sitokrom P-450 (CYP) enzimleri:

| Enzim   | Substratlar   |
|---------|---|
| CYP1A2  | Parasetamol, Kafein, Propranolol, Varfarin  |
| CYP2C9  | Fenitoin, Fluvastatin, Glibenklamid, İbuprofen  |
| CYP2C19 | Diazepam, Omeprazol, İmipramin  |
| CYP2D6  | Kodein, Nikotin, Haloperidol, Profenon  |
| CYP3A4  | Tamoksifen, Lidokain, Kinidin, Siklosporin, Prednizol, Vinkristin, Midazolm, Lovastatin, tamoksifen, varfarin, diazepam |

**CYP:** stokrom ailesine ait enzimler.

## **2) Karışık fonksiyonlu amino oksidaz;**

Karışık fonksiyonlu oksidaz sistemi pek çok substratı hidrosile ederek suda çözümlü hale getirerek redükte glukuronik asite ve sülfatlara bağlanarak vücuttan atılmasını sağlamaktadır. Bu sayede pek çok toksik madde zehirsizleştirilerek vücuttan atılmaktadır. Karışık fonksiyonlu oksidaz sistemleri; morfin, kodein, fenobarbital amfetaminler, steroid hormonlar, insektisidler gibi birçok bileşiği substrat olarak kabul etmektedir. Bu bileşiklere ya oksijen katmakta veya hidrosite etmektedir.

### **2.1.7. 2. Faz II**

İkinci evre tepkimeleri çoğunlukla konjugasyon reaksiyonlarıdır. Bazı endojen maddelerin ya doğrudan ksenobiyotiğin kendisine veya birinci evre tepkimeleri sonucu ortaya çıkan herhangi bir metabolite kovalent bağlarla bağlanarak geçirdiği reaksiyonların tümüne konjugasyon, oluşan ürüne de konjugat denir. Bu reaksiyonlar genellikle zehirsizleştirme yöneliktir.

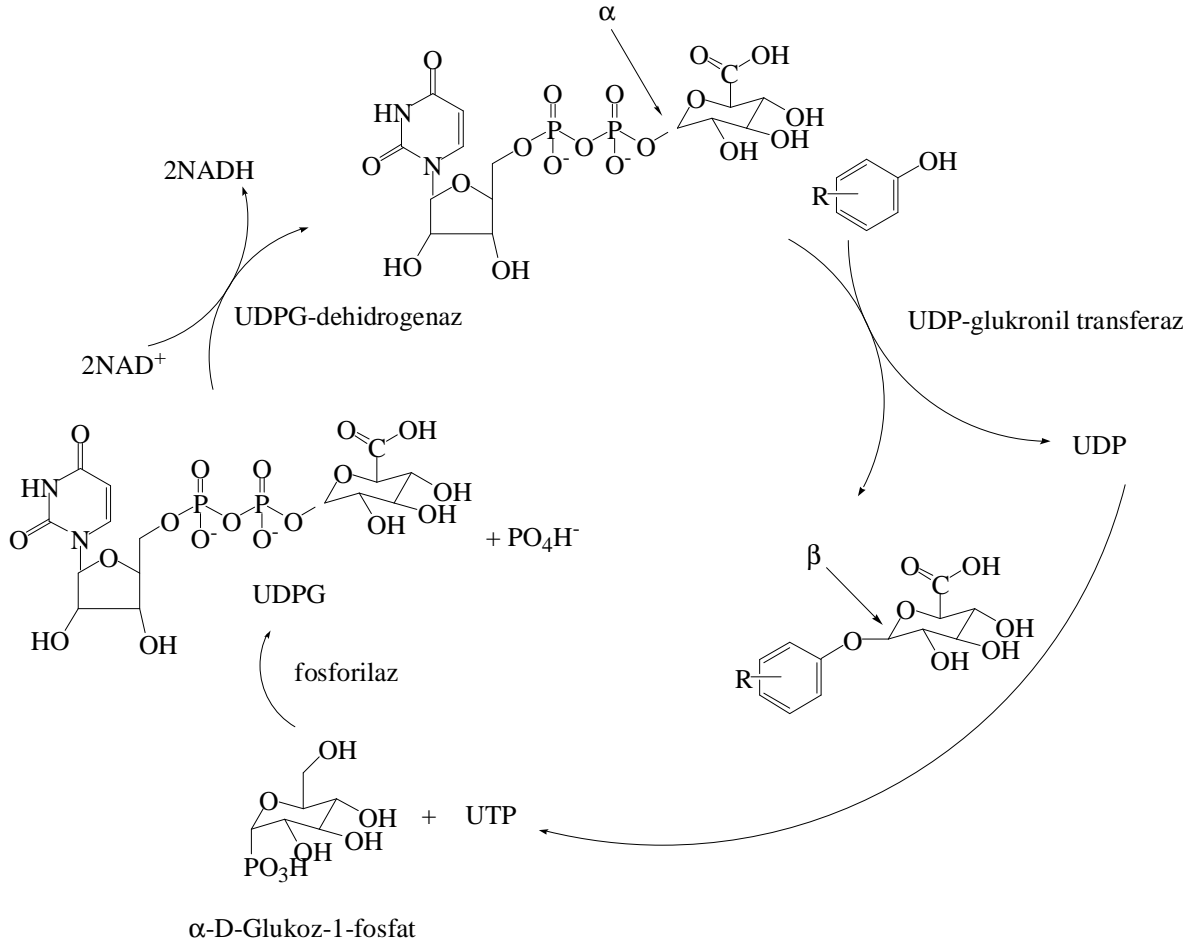
Vücuda girdikten sonra doğrudan konjuge edilebilen ksenobiyotikler, çözünürleştirme ile daha polar ve suda çözünür hale getirilen ksenobiyotik, kolaylıkla atılabilir.

İkinci evre biyotransformasyon tepkimeleri; glukuronidasyon, sülfatasyon, glutatyon ile konjugasyon, asetilasyon, glisin ile konjugasyon ve metilasyondur.<sup>19,20</sup>

#### **Glukuronik asit ile konjügasyon**

Glukuronik asit, polar ve suda çözünebilen bir molekül olup ksenobiyotikteki hidroksil, karboksilik, amino ve tiol gruplarına kolayca eklenebilir. Bu reaksiyon mikrozomal enzimler olan glukuronosil transferazlar tarafından katalizlenir.<sup>21</sup>

Konjugasyon reaksiyonları aşağıda kısaca açıklanmıştır (şekil.2.3.).

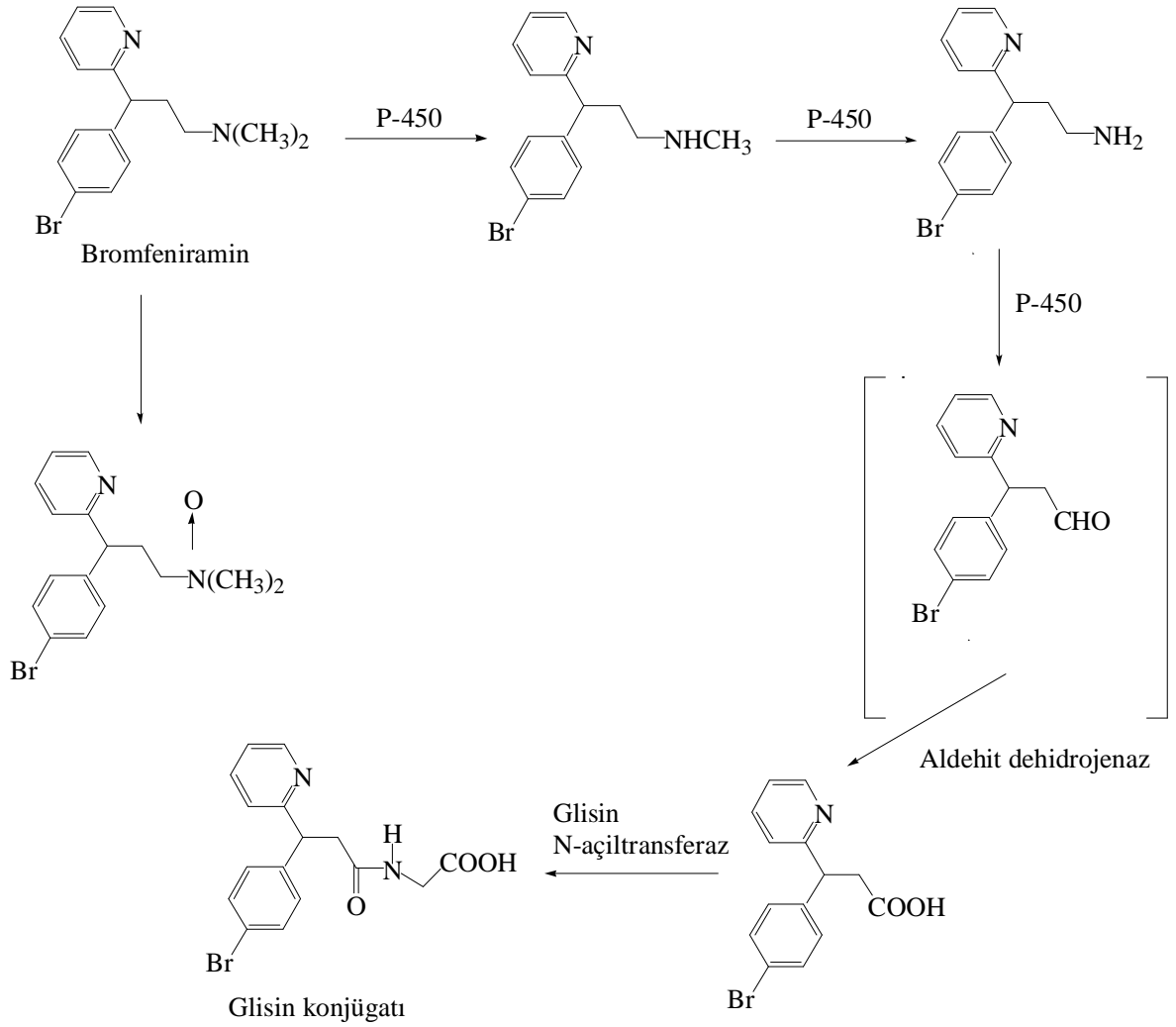


**Şekil 2.3.** Glukuronidasyonun genel mekanizması

### Glisin ile konjugasyon

Benzoik asit ve fenilasetik asit gibi karboksilik asit gurupları bulunan aromatik moleküller glisin ile konjugat oluşturarak suda çözünür hale gelmekte ve idrarla atılmaktadır.

Glisin ile kojügata bir antihistamik etkili olan bromfeniramin de faz I reaksiyonları sonucu oluşan karboksilik asit grubu üzerinden glisinle konjüge olarak atılımı örnek verilebilir (şekil 2.4.).

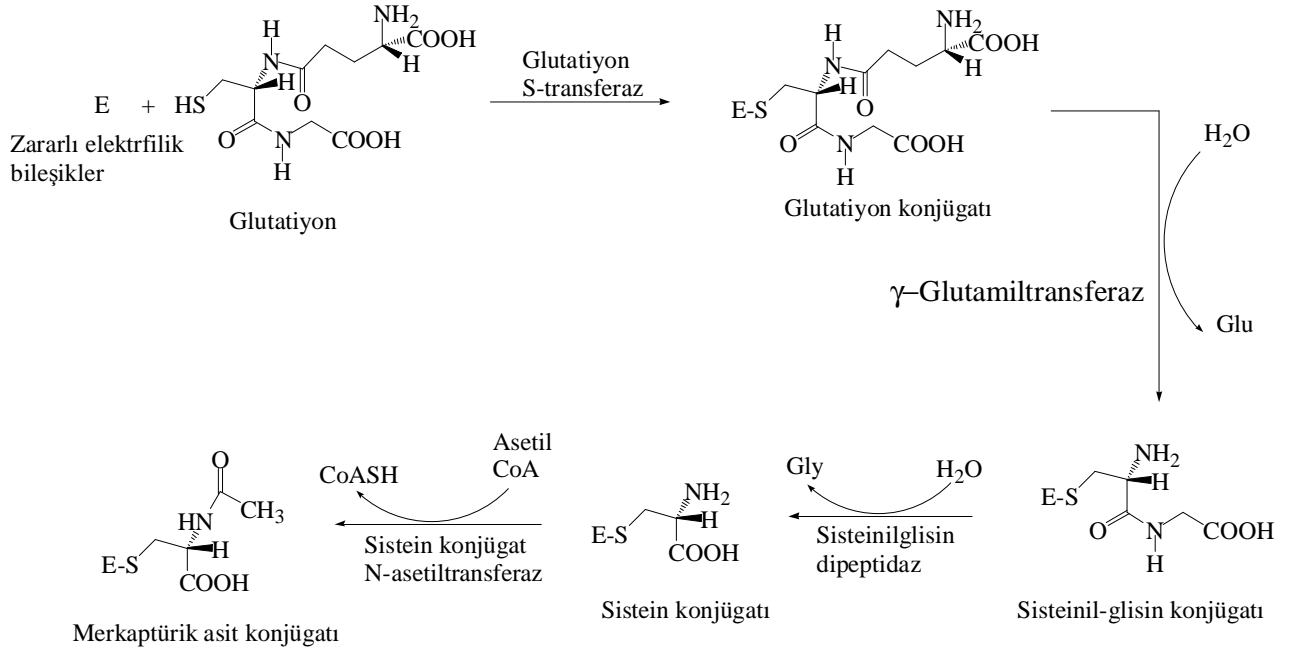


**Şekil 2.4.** Bromfeniramin'in glisinle konjüge olarak atılımı

### Glutasyon ile konjugasyon

İdrarda değişik şekillerde bulunabilen sülfürün organik bir moleküle bağlanarak oluşturduğu merkaptirik asit idrarla atılmaktadır. Tripeptid yapısındaki glutasyon, merkaptirik asit oluşumunda rol oynamaktadır.

Elektrofilik olan ksenobiyotikler, glutatyon S-transferazlar ile nükleofilik bir molekül olan glutatyonla konjuge edilmektedirler (şekil 2.5.)



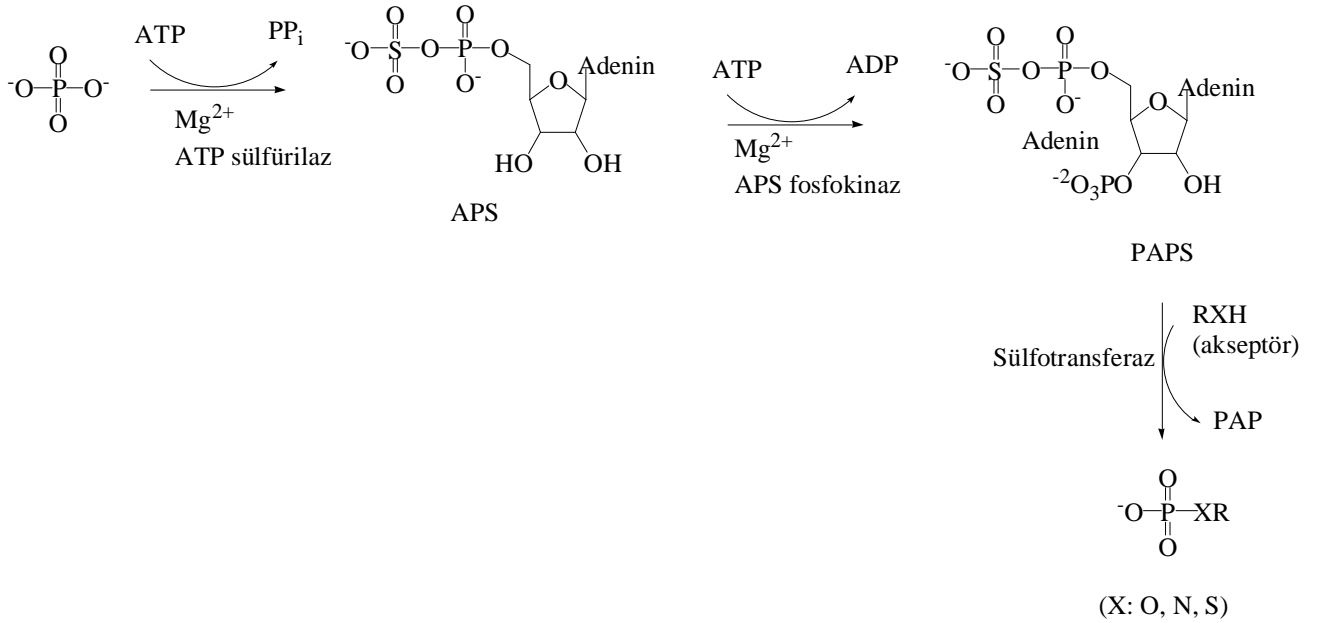
**Şekil 2.5.** Glutatyon konjüगतları (merkaptürük asit konjüगतı)

### Sülfat ile konjüगतasyon

Alkol, arilamin ve fenol içeren bileşikler sülfat ile konjuge edilerek daha polar hale getirilmektedir. Bu tepkimelerde sülfat esterlerinin oluşturulmasında sülfat vericisi (aktif sülfat) olarak da bilinen yüksek enerjili adenzin 3<sup>1</sup>-fosfat-5<sup>1</sup>-fosfosülfat (PAPS) görev yapmaktadır.

Sülfat konjüगतasyonunda üç reaksiyon aşaması söz konusudur. Birinci aşamada, inorganik sülfat ATP süfürilaz katalizörlüğünde aktive edilerek adenzin 5<sup>1</sup>-fosfosülfat (APS) oluşur; ikinci aşamada, APS'nin ATP ile aktivasyonu ile koenzim 3<sup>1</sup>-fosfoadenozin-5<sup>1</sup>-fosfosülfat (PAPS) oluşur. Üçüncü ve son aşamada;

akseptör moleküle sülfotransferaz enzimleriyle katalizlenen sülfat transferi gerçekleşir. Sülfatasyon reaksiyonlarında sülfat transferini katalize eden enzimler sülfotransferazlardır. Sülfat konjugasyonunda donör koenzim olan PAPS organizmada çok düşük konsantrasyonlarda bulunur; ancak gerektiği zaman hızla sentezlenir (şekil 2.6.).

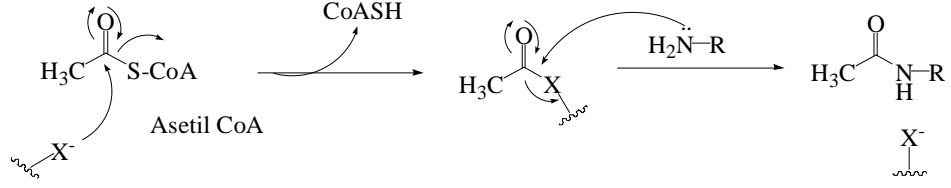


**Şekil 2.6.** Sülfatasyon

### Asetilasyon

Azotlu bileşiklerin çoğu bir asetil grubu eklenerek metabolize edilmektedir. Bu tepkimeyi asetil grubu vericisi olarak asetil CoA kullanan sitozolik asetiltransferaz gerçekleştirir (şekil 2.7.).

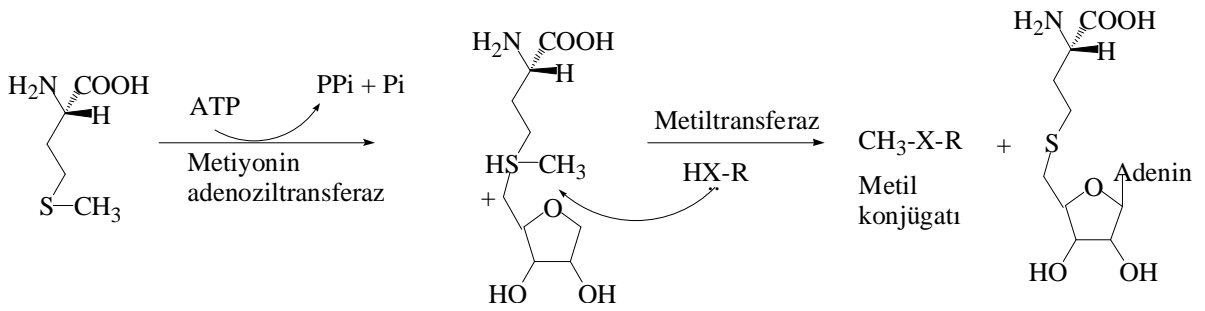
Asetillenerek metabolize edilen sülfonamid grubu ilaçların ürünü olan asetil sülfonamid, daha az çözünür olduğu için böbreklerde birikerek hasar yapabilmektedir.



**Şekil 2.7.** Asetilasyon

## Metilasyon

Bazı ksenobiyotikler oksijen, azot ve sülfür atomlarına metil transferaz tarafından S-adenozilmetioninden alınan bir metil grubu aktarılarak metabolize edilmektedirler. (şekil 2.8.)



**Şekil 2.8.** Metilasyon

### 2.1.8. Karaciğer Enzimleri

Karaciğer, sentez ve detoksifikasyon görevleriyle vücuttaki en önemli organlardan biridir. Birçok hastalıkta karaciğer dokusu direkt veya dolaylı olarak etkilenir.<sup>22</sup>

Karaciğerdeki hücrelerin önemli bir kısmını teşkil eden hepatositler, enzim açısından zengin hücrelerdir, çünkü organizmanın en aktif ve çeşitlilik gösteren enzimatik aktivitesine sahiptirler. Hepatositlerin herhangi bir nedenle yaralanmaları

ve nekroza uğramaları halinde bu enzimlerin sirkülasyondaki düzeyleri de artmaktadır.<sup>23</sup>

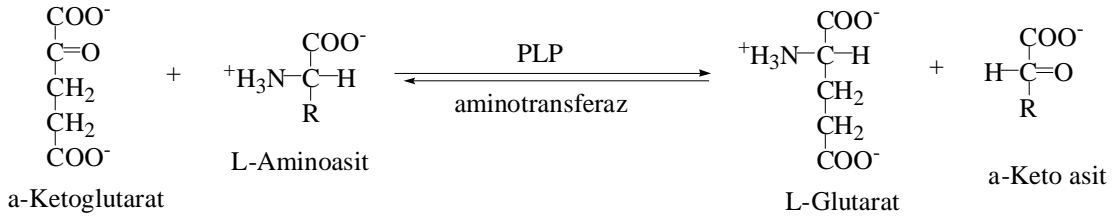
Karaciğerde oluşan hasarın ilk belirleyicisi karaciğer hücreleri tarafından kana salınan enzimlerdir. Normal koşullarda bu enzimler karaciğer hücreleri tarafından depo edilmemektedirler. Ancak karaciğer hücrelerinde meydana gelen hasar sonucu bu enzimler kana karışır ve kan testleri ile tespit edilebilirler. Karaciğer enzimlerindeki hafif yükseliklere sıklıkla rastlanılmaktadır. Bu durum sağlıklı kişilerde görülebilir ve biyokimya tetkiklerinden kaynaklanabilir. Bu durumda karaciğer fonksiyon testlerindeki yükselik (Aspartat aminotransferaz ve Alanin aminotransferaz yüksekliği) normal değerinin iki katını ya da 100 U/L'yi aşmamaktadır.

#### **2.1.8.1. Aspartat aminotransferaz ve Alanin aminotransferaz**

Karaciğer hasarını belirlemek için sıklıkla kullanılan enzimler aminotransferazlardır. Bunlar Aspartat aminotransferaz (AST) ve Alanin aminotransferaz (ALT) dir. Bu enzimler normalde karaciğer hücreleri olan hepatositlerde bulunurlar. Aminotransferazlar hücre içindeki kimyasal reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir. Verici moleküldeki amino grubunu alıcı moleküle transfer ettiklerinden 'amino transferaz' olarak adlandırılmıştır.

Tüm aminotransferazların koenzim olarak piridoksal fosfata (PLP) (vitamin B6'nın bir türevidir) ihtiyacı vardır. Aminotransferazlar, bir amino asitin amino grubunu piridoksale transfer ederek piridoksamin fosfat oluştururlar. Piridoksamin daha sonra bir  $\alpha$ -keto asit ile reaksiyona girerek bir amino asit oluştururken kendisi de orijinal aldehit formuna yeniden dönüşür<sup>24</sup>(şekil 2.9.).





**Şekil 2.9.** Enzimle katalizlenen transaminasyonlar

Bu enzimler karaciğer ve safra yollarına özgü değildir, ALT ve özellikle AST, iskelet kası ve kalp kasında sentezlenir.<sup>23</sup>

Her aminotransferaz bir ya da birkaç amino grubu vericisine özgüdür. Aminotransferazlar özgün amino grubu vericisine göre adlandırılırlar. Çünkü amino grubunun alıcısı her zaman  $\alpha$ -ketoglutarattır. ALT enzimi alaninin amino grubunu  $\alpha$ -ketoglutarata aktarır ve sonuçta pürivat ve glutamat oluşur. AST enzimi ise amino gruplarını glutamattan okzaloasetata transfer eder ve oluşan aspartat bir azot kaynağı olarak üre döngüsüne girer.

### 2.1.9. Albümin

Tek bir polipeptid zincirinden oluşan albüminin yapısında 585 aminoasit bulunmaktadır. Plazma proteinlerinin yaklaşık % 40-60 kadarını oluşturmaktadır. Bu protein endojen aminoasit kaynağı olarak kabul edilmektedir. Karaciğerde günlük 12-14 gr kadar albümin sentezlenebilmektedir. Yarı ömrü 20 gün kadardır.

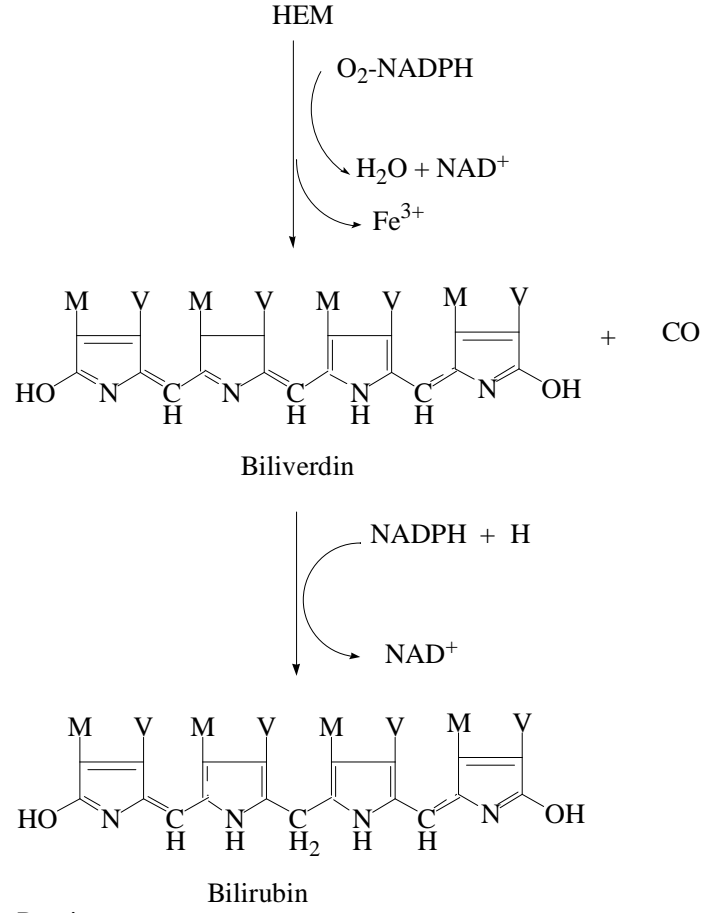
Albümin, vücudumuzda çeşitli moleküllerin taşınmasında rol oynayan en önemli proteindir. Bu protein; Cu, Ca, Mg ve Zn gibi iyonları, bilirubin, hem grubunu, yağ asitlerini (oleat ve palmitat) ve çeşitli ilaçları (salisilat, sülfonamidleri) taşımaktadır.<sup>24</sup>

Albumin düzeyindeki, azalma kronik karaciğer hastalıklarının iyi bilinen bir bulgusudur. Karaciğer sirozunda buna globulin düzeyindeki artışın da eşlik ettiği dikkat çeker. Otoimmün hepatitlerde siroztik evreye geçmeden önce de yüksek globulin düzeyleri görülebilir.<sup>25</sup>

Albümin, bilirubinin yaşamsal nörotoksik tehditlerine karşı biyolojik tampon görevi yapar. Bilirubinle kovalent olmayan bir şekilde birleşen albumin konjuge olup vücuttan atılması için karaciğere getirilir.<sup>26</sup>

### **2.1.10. Bilirubin**

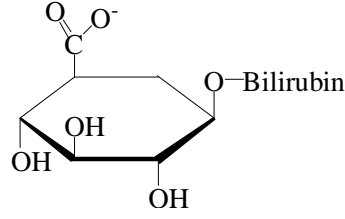
Bilirubin memelilerde, hemoglobin ve hemproteinlerinin yıkımı sonucu oluşan son üründür.<sup>27</sup> Hemoglobin molekülünün, demir ihtiva eden, protein olmayan kısmı hem'in bir parçalanma ürünüdür.<sup>28</sup> Normal insan eritrositinin ortalama ömrü 120 gündür. Yaşlı hücreler dolaşımdan uzaklaştırılır ve retikülo endotelial sistem (karaciğer, dalak ve kemik iliği) tarafından yıkılır. Hemoglobinin protein kısmı amino asitlere kadar hidrolizlenir. Hem grubunun yıkımında ilk basamak,  $\alpha$ -meten köprüsünün parçalanarak lineer bir tetrapirrol olan biliverdinin oluşumudur. Bu reaksiyon bir monoksigenaz olan ve  $O_2$  ile NADPH kullanan hem oksigenaz enzimi tarafından katalizlenir. Burada uzaklaştırılan meten köprüsü karbonu, karbon monookside (CO) dönüştürülür. Daha sonra biliverdin, ortasında yer alan meten köprüsünün NADPH bağlı biliverdin redüktaz enzimi tarafından indirgenmesiyle bilirubine çevrilir<sup>28</sup> (şekil 2.10.).



M:  $-\text{CH}_3$ , V:  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ , P: Propionat

**Şekil 2.10.** Hem'in bilirubine yıkımı

Kaynağı ne olursa olsun karaciğer dışında oluşan bilirubin büyük oranda albumine bağlanır ve karaciğere gelir. Albümin ile kompleks oluşturan bilirubin suda çözünür, fakat idrarla atılmaz. Bilirubin karaciğerde proteinden ayrılır. Bilirubin UDP-glukroniltransferazın tarafından glukuronil kısım UDP- glukuronik aside transfer edilir<sup>30</sup> (şekil 2.11.).



**Şekil 2.11.** Bilirubine bağlanmış glukuronat birimi

Bilirubin normalde karaciğer tarafından alınır ve suda eriyen konjuge bilirubin haline çevrilir. Safra sistemi ile bağırsağa gelen konjuge bilirubin burada bulunan bakteriler tarafından dekonjuge edilir ve redüksiyona tabi tutularak ürobilinojene çevrilir. Ürobilinojen ve bir miktar değişmemiş bilirubin, gaita ile birlikte atılır.<sup>31</sup>

#### **2.1.11. Karbontetraklorür**

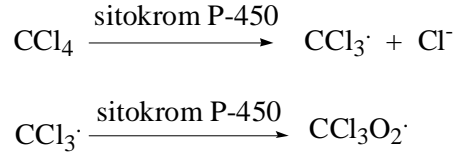
Karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) renksiz, berrak, uçucu bir sıvıdır. Önceleri kuru temizleme, yangın söndürme, tahıl dezenfeksiyonu ve böceklerle mücadelede yaralanılan bu kimyasal bileşik, günümüzde petrol ürünleri, çeşitli yağlar, vernik, cila, reçine çözücüsü ve organik bileşiklerin imalatında kullanılmaktadır. Karbontetraklorür alev almayan bir çözücüdür ve havadan ağırdır. Solunum yolu, gastrointestinal sistem ve deri yolu ile absorbe olabilir. Karbontetraklorür deri ile birkaç dakika süreli temasta, özellikle ellerde ağrı hissine neden olur. Deri, inhalasyon veya oral yolla absorpsiyon sonucu zehirlenme belirtileri hemen görülür. Yağ, barsaktan absorpsiyonu artırır. Başlıca belirtileri olan, baş ağrısı, baş dönmesi, halsizlik, görme bulanıklığı, uyuma hali, bilinç kaybı gibi etkileri MSS (merkezi sinir sistemi) depresyonu ile ilgilidir. Bulantı ve kusma ile birlikte abdominal kramplar ilk günden itibaren görülür. Karaciğer yağlanması ve tahribi ile ilgili belirtiler (sarılık

gibi), absorpsiyondan birkaç gün sonra ortaya çıkar.  $CCl_4$  bütün organ ve dokularda dağılır. En çok yağlı dokularda birikir. 'Serum glutamik-okzalasetik asit transaminaz' ve 'aldolaz' enzim düzeyleri, karaciğer hücrelerinin nekrozu ve şişmesi sonucu yükselir. Karaciğerin mikrozomal enzimlerindeki değişmeler nedeni ile aminoasit alımının (uptake) bozulması ve böylece protein sentezi azalır. Karbohidrat depolarının yetersizliği, alkol alışkanlığı gibi durumlarda  $CCl_4$ 'ün karaciğer üzerindeki toksik etkisi artar. Ayrıca renal tubuler nekroza neden olabilir. Bu durumda idrarla albumin atılımı, azot retansiyonu sonucu göz kapaklarında ve topuklarda ödem görülür.  $CCl_4$ , alkolle beraber alındığında bilinç kaybı hemen ortaya çıkar. Belirgin solunum yetersizliği ve kardiyak aritmi oluşabilir.

Maruz kalmadan sonra, yavaş olarak dokulardan ayrılarak (2-6 gün süre içinde), başlıca akciğerlerle ve az miktarda da böbreklerle atılır.  $CCl_4$  deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan bir ksenobiyotiktir ve mitokondriyal monooksijenaz (P-450 2E1) sisteminde metabolize edilir.<sup>32</sup>

Karbontetraklorür bir karaciğer karsinojen ve lipid hidroperoksid sebebidir. Karbontetraklorür ile deneysel olarak oluşturulan intoksikasyondan ve sirozdan birçok organ (karaciğer, dalak, pankreas, timus, lenf düğümleri, akciğer, kalp, böbrek, beyin) ile sistem doğrudan veya dolaylı bir şekilde etkilenmektedir.<sup>33</sup>

Karbontetraklorür ( $CCl_4$ ), karaciğerde sitokrom P-450 tarafından triklorometil ( $CCl_3\cdot$ ) serbest radikaline dönüştürülür. Bu da serbest oksijenle etkileşerek peroksil ( $CCl_3O_2\cdot$ ) serbest radikalini oluşturur.



Oluşan peroksil radikali de kuvvetli bir lipit peroksidasyonu başlatıcısıdır. Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur.<sup>34</sup> CCl<sub>4</sub>'ün yol açtığı karaciğer hasarının patogenezinde lipit peroksidasyonu önemli bir mekanizma olarak kabul edilir.<sup>35</sup>

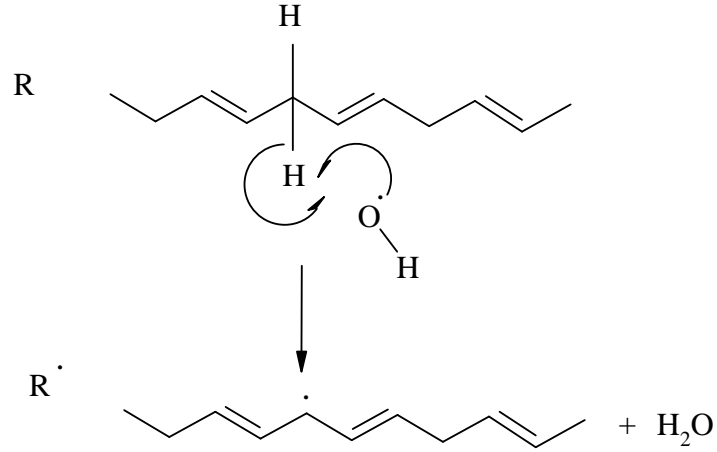
### 2.1.12. Lipit peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu, poli doymamış yağların bozunması olarak tanımlanır.<sup>36</sup> Lipit peroksidasyonu, hidroksi radikali tarafından metilen karbon atomundan bir hidrojen atomu koparılması ile başlar. Süperoksit radikali lipit molekülünden bir hidrojen koparamaz, Fe<sup>2+</sup> varlığında Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksi radikali oluşturur. Bunun yanı sıra süperoksit anyonun protonlanmış formu daha reaktiftir ve linoleik asit gibi bazı yağ asitlerinden hidrojen atomu koparabilir. Çünkü protonlanmış süperoksit anyon yüksüz hale gelir ve hücre membranından rahatça geçebilir ve lipitlerin alt hücrel organellerinde peroksidasyona neden olur.

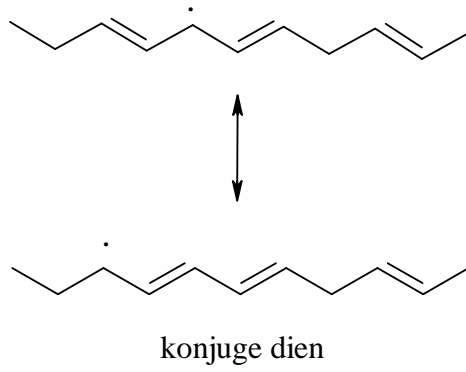
Lipit molekülünün metilen karbonundan bir hidrojen atomu koparılması karbon merkezli bir radikal meydana getirir (şekil 2.12.). Bu radikal moleküler düzenlemeyle konjuge dien oluşturarak kararlı hale gelir (şekil 2.13.). Konjuge dien moleküler oksijen ile reaksiyona girerek lipit peroksil radikalini oluşturur (şekil 2.14.). Lipit peroksil radikali başka lipit moleküllerinden bir hidrojen atomu koparır. Böylece zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olurlar<sup>37</sup> (şekil 2.15.).

Lipit peroksidasyonu hücre membranının akışkanlığını etkileyerek<sup>38</sup> membran yapısında ve membran bileşenlerinde hasara yol açar. Lipit peroksidasyonunun son

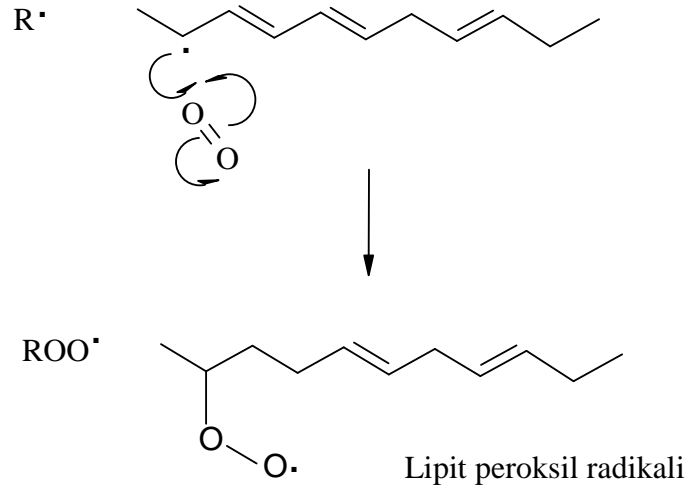
ürünü olan malondialdehit protein sentezini inhibe eder ve DNA bazları ile reaksiyona girer (şekil 2.16.).



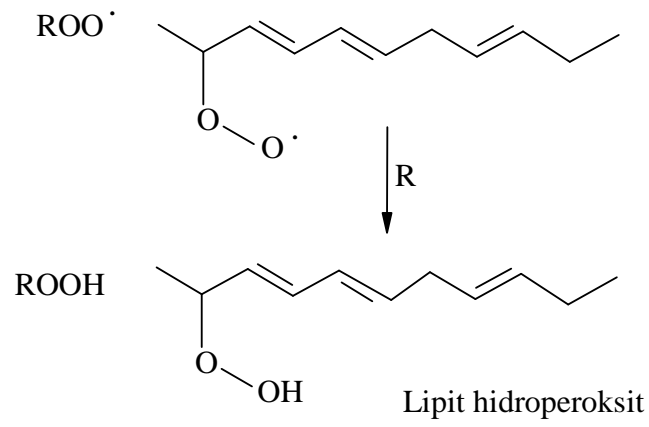
**Şekil 2.12.** Lipit molekülünün metilen karbonundan bir hidrojen koparılması sonucu karbon merkezli lipit radikali oluşumu



**Şekil 2.13.** Moleküler düzenleme ile konjuge dien oluşumu

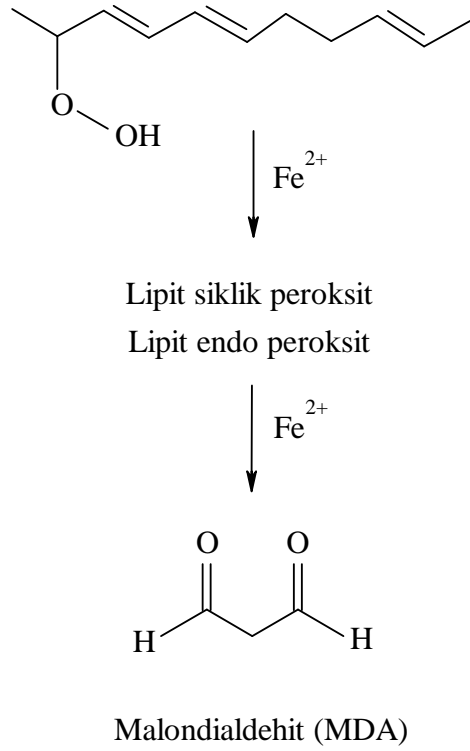


**Şekil 2.14.** Konjuge dienin moleküler oksijen ile reaksiyona girip lipit peroksil radikali oluşturması



**Şekil 2.15.** Lipit peroksil radikalının başka lipit molekülleri ile reaksiyona girmesi ve zincir tepkimelerini başlatması.





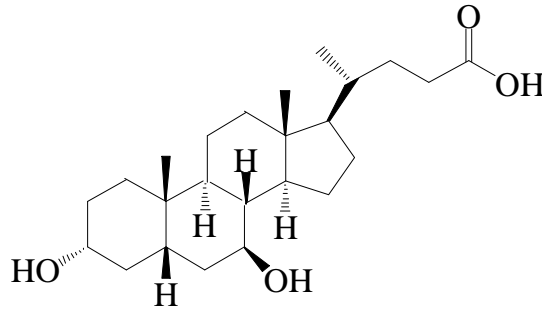
**Şekil 2.16.** Son ürün olan malondialdehitin oluşumu.

Malondialdehit (MDA) memeli hücrelerinde mutajeniktir ve sıçanlarda karsinojeniktir.<sup>39</sup>

### **2.1.13. Ursodeoksikolikasit (Ursodiol)**

Normal insan safrasında çok düşük miktarlarda bulunan bir safra asidi olan ursodeoksikolikasit (Ursodiol) ilk kez bu yüzyılın başlarında, geleneksel tıpta çeşitli amaçlarla kullanılan Çin Siyah Ayısının safrasında izole edilmiştir. Daha sonra Japonya'da sentetik olarak üretimine başlanan bu safra asidi 1970'li yıllardan itibaren çeşitli kolestatik karaciğer hastalıklarında kullanılmaya başlanmış ve özellikle 1980'li yıllardan sonra kullanım endikasyonlarıyla ilgili çalışmalar artmıştır.<sup>40</sup> Safra tuzlarının önemli bir kısmı hidrofobik özelliktedir ve bu özellik ile

hepatotoksisite arasında doğrudan ilişki bulunduğu gösterilmiştir. Ursodeoksikolik asit (şekil.2.17.) majör safra tuzlarından kenodeoksikolik asit'in epimeridir ve normal insan safra havuzunun ancak %1'ini teşkil eder. Kendisinde bir dihidroksi safra tuzu olmakla beraber, hidroksil grubunun yerleşimi kenodeoksikolik asit'ten daha fazla hidrofilik ve bundan dolayı da daha az hepatotoksik olmasını sağlamaktadır.<sup>41</sup> İlk kez 1985 yılında, Lewchner ve arkadaşları, kolesterol safra taşlarını eritmek amacıyla ursodeoksikolik asit kullanan kronik aktif hepatitli hastalarda serum aminotransferaz düzeylerinde belirgin azalma olduğunu bildirmişlerdir.<sup>42</sup> Bu önemli gözlemi izleyen yıllarda çeşitli karaciğer hastalıklarında yapılan çalışmaların büyük bir kısmında da benzer sonuçların elde edilmesi, ursodeoksikolik asit'i hepatolojinin popüler ilaçlarından birisi haline getirmiştir.<sup>43,44</sup>



**Şekil.2.17.** Ursodeoksikolik asit

Ursodeoksikolik asit'in bir başka önemli etkisi hücre membranlarının stabilizasyonudur. İlacın özellikle hepatositlerin membranındaki kolesterol ve fosfolipidlerin çözünürlüğünü azaltarak toksik safra tuzlarının hepatotoksik etkisini engellediği düşünülmektedir.<sup>45</sup>

#### 2.1.14. Antioksidantlar

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir.<sup>46</sup>

Antioksidantlar, hücresel bileşenlerde, serbest radikal türlerinin neden olduğu oksidatif hasarı önlemede önemli maddelerdir. Oksidatif hasarları önlemek amacıyla canlı sistem tarafından gerçekleştirilen pek çok korunma mekanizması vardır. Ancak bazı durumlarda mevcut antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin etkisini tamamen önleyemez ve oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkar.

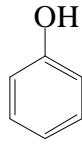
Bu yüzden ek olarak almamız gereken antioksidantların önemi büyüktür.<sup>47</sup>

Antioksidantları, yapay ve doğal antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayırabiliriz. En çok kullanılan ve insan sağlığına zararlı olan sentetik antioksidanlar arasında, Bütillenmiş hidroksianisol (BHA), Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), Tersiyer butil hidroksikinon (TBHQ) ve Etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) bulunmaktadır. BHA, BHT, TBHQ ve propyl gallate (gallik asit tuzu) gibi sentetik antioksidanlar yağ içeren yiyeceklere ilave edilerek, yağ oksidasyonu yavaşlatılmakta veya önlenmektedir.<sup>48</sup> Buna rağmen, yiyeceklerdeki sentetik antioksidanlar içerdikleri kanserojen maddeler dolayısıyla, potansiyel sağlık tehlikesi oluşturduğu tespit edilmiştir.<sup>49</sup> Sonrasında yapılan araştırmalarla, sentetik antioksidanlara alternatif olarak bitkilerde doğal olarak ortaya çıkan antioksidanlar araştırmacıların ilgisini çekmiştir.<sup>50</sup>

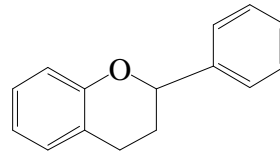
Doğal antioksidanlar, vitaminler, flavonoid ve fenolik asit içeren fenolik bileşikler, tıbbi ve baharat bitkilerindeki uçucu yağ bileşikleri olarak

sınıflandırılmaktadır.<sup>51</sup> Ayrıca yağlı tohumlar, sebzeler, tahıllar, meyveler, yapraklar, kökler, tıbbi ve baharat bitkileri de birer doğal antioksidan kaynaklarıdır.

Fenolik maddeler doğal antioksidantların en önemli gruplarını oluştururlar.<sup>48</sup> En yaygın bitkisel fenolik antioksidantlar flavonoidler, sinnamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir.<sup>49</sup> Bunlardan flavanoidler hidroksillenmiş fenolik bileşenlerdir, antioksidant özelliğinin yanında mikrobiyal infeksiyonlara karşı koruma için bitkiler tarafından üretilir<sup>50</sup>(şekil 2.18.).



Bir fenol molekülünün yapısı



Bir flavonoid molekülünün yapısı

### Şekil.2.18. Fenol ve flavonoid moleküllerinin genel yapısı

Doğal antioksidantlar ile beslenme artıkça oksidatif hasara karşı ve onların insan sağlığı üzerinde önemli bir etkisi olmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır.<sup>51</sup>

Karaciğer, anatomik lokalizasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal rolü nedeni ile toksik maddelere ve çeşitli ilaçlara çok sık maruz kalan bir organdır. Bu hasarın değişik şekillerinin, oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle

oluştugu bilinmektedir. Bu nedenle, karaciğeri koruyucu aktiviteye sahip maddelerin araştırılması da hem çok önemli hem de günceldir.

Bu çalışmada, CCl<sub>4</sub>'ün karaciğer, böbrek ve beyin dokusu üzerindeki toksisitesi ve bu toksisiteye karşı, Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişen üzüm ve nar meyvelerinin in vivo lipit peroksidasyonunu koruyucu etkileri araştırılmıştır.

## 2.2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

**Özcan ve ark. (1998)** oral olarak alkol verilen ratlarda 1, 7, 14 ve 21. günün sonunda elde edilen bazı kan, karaciğer ve böbrek dokusu parametrelerini incelemişler. Materyal olarak 20 haftalık yaşta ve ortalama 196 g ağırlığında, 40 adet erkek Wistar Albino rat kullanmışlardır.

Üzerinde çalışılan 40 rattan, kontrol grubu ile deneme grubu arasında serum AST ve  $\gamma$ -GT aktivitelerinde 1.gün sonunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. 7, 14 ve 21. gün sonunda serumda ( $P < 0.01$ ) düzeyinde anlamlı farklar gözlenmiştir; böbrek enzim düzeylerinde ise anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Deneme grubu ratların 1, 7, 14 ve 21. gün sonunda ALT aktiviteleri ile karaciğer ve böbrek ALT aktivitelerinde  $P < 0.01$  düzeyinde önemli bir artış saptanmıştır.

Deneme ve kontrol grubu serum total kolesterol ve total lipit düzeyleri arasında 1. ve 7. gün sonunda anlamlı bir değişiklik bulunmamışken, 14. ve 21. gün sonunda  $P < 0.01$  yükselme saptanmıştır.<sup>52</sup>

**Yılmaz ve ark. (2000)** karbontetraklorür ile karaciğer sirozu oluşturulan ratlarda lipit peroksidasyonun göstergesi olan malondialdehid (MDA) ve

antioksidant savunma sistemindeki değişiklikler incelenerek hastalıkla olan ilişkileri incelenmiştir.

Karaciğer sirozu, Wistar albino erkek ratlara 6 hafta süre ile haftada 3 kez (0.15 gr/100 gr vücut ağırlığı) karbontetraklorürün subkutan olarak verilmesiyle oluşturulmuştur. Karaciğer dokusunda Malondialdehit düzeyi Yagi yöntemine, glutatyon peroksidaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, pirüvat kinaz aktiviteleri ise Beutler yöntemine göre çalışılmıştır.

Sirozlu grubun karaciğer malondialdehit düzeyleri kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek ( $P < 0.05$ ), glutatyon peroksidaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktiviteleri düşük bulundu ( $P < 0.05$ ). Pirüvat kinaz aktivitesinde istatistik açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Sonuç olarak bu çalışmada sirozun antioksidant savunma sisteminde değişikliklere ve değişikliklerin de oksidatif stres ve peroksidasyona yol açabileceği kanısına varılmıştır.<sup>53</sup>

Nar kabuğu metanol ekstresinin sıçanlarda  $CCl_4$  ile oluşturulmuş karaciğer hasarında lipit peroksidasyonunu önleyici etkisi, **Kotamballi ve ark. (2002)** tarafından, in-vivo çalışmalarda araştırılmıştır. Lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malondialdehit miktarının sadece  $CCl_4$  alan sıçanların karaciğer dokusunda oldukça yüksek bulunmuştur. Nar kabuğu metanol ekstresi alan sıçanların karaciğer dokusunda MDA seviyesi normal diyetle beslenen sıçanlarla karşılaştırıldığında oldukça benzer bulunmuştur. Histopatolojik incelemelerde ise Nar kabuğu metanol ekstresinin normal karaciğer dokusuyla paralellik gösterdiği görülmüştür.<sup>54</sup>

**MacDonald-Wicks ve ark. (2003)** çalışmasında fareler model kullanarak CCl<sub>4</sub> verildiğinde oluşan oksidatif stres durumunda vitamin E desteğinin koruyucu rolünü açığa çıkarmak hedeflenmiştir. Fareler dl- $\alpha$ - tokoferol asetat desteğiyle veya bu olmaksızın 4 haftalığına beslendi. Her diyet gurubunda farelerin yarısı (n=9) , 4 hafta bitiminden sonra CCl<sub>4</sub>'e maruz bırakıldı. Diyete dl- $\alpha$ - tokoferol eklenmesinden sonra oksidatif streste meydana gelen değişiklikleri belirlemek için 8-iso-PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  antioksidan mikro besleyicilerin plazma seviyeleri ve antioksidan enzim aktiviteleri ölçülmüştür.

dl- $\alpha$ - tokoferol asetat eklenen grupta plazma  $\alpha$ - tokoferol (vitamin E) derişimleri daha yüksek ancak daha sonra CCl<sub>4</sub> maruz bırakılan diyet grubu CCl<sub>4</sub> maruz bırakılmayan diyet grubuna göre plazma  $\alpha$ - tokoferol derişimi önemli oranda daha düşük ( $p < 0.001$ ) bulundu. CCl<sub>4</sub>'e maruz bırakılan diyet grubunda toplam plazma 8-iso-PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  derişimi yükselme göstermiş ancak, diyet dl- $\alpha$ - tokoferol asetat ile desteklendiğinde derişimin önemli oranda düştüğü görülmüştür ( $P < 0.001$ ). Antioksidan enzimler hem diyet  $\alpha$ - tokoferol maliplasyonu ile hem de CCl<sub>4</sub> tarafından oksidatif stres oluşturulmasından etkilenmemiştir. Trans retinolün (vitamin A) plazma derişimleri hem dl- $\alpha$ - tokoferol asetat verilen hemde verilmeyen diyet gruplarında CCl<sub>4</sub> uygulamasıyla birlikte azalmıştır.

Bu çalışma CCl<sub>4</sub> gibi bir pro-oksidant tarafından oksidatif stres oluşturulduğunda dl- $\alpha$ - tokoferol asetat eklenmesinin lipid peroksidasyonunu önlediğini göstermiştir.<sup>55</sup>

**Güven ve ark. (2003)** çalışmalarında karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ile karaciğer dejenersasyonu oluşturulan kazlarda lipid peroksidasyonunu göstergesi olan malondialdehit (MDA) ve serum total protein, albumin, glukoz, üre, ürik asit,

kolesterol, kalsiyum, inorganik fosfat, sodyum ve potasyum düzeylerindeki değişiklikler incelenerek dejenerasyon ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Karaciğer dejenerasyonu, ortalama üç haftalık kaz palazlarına 10 hafta süre ile haftada 3 kez (2 ml/kg vücut ağırlığı olacak şekilde) CCl<sub>4</sub>'ün oral olarak verilmesiyle oluşturulmuştur. CCl<sub>4</sub> uygulanan grupta plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek ( $P < 0,01$ ) bulunmuştur. Kontrol ve deneme grubun üre, ürik asit, albümin, Na ve K düzeylerinde 5 ve 10. haftalarda alınan örneklerde önemli bir farklılık gözlenmezken, total protein, total lipid, kalsiyum inorganik fosfat ve potasyum oranlarında artış, kolesterol ve glukoz düzeyinde ise önemli oranda düşüş ( $P < 0,00$ ) olmuştur. Her bir parametrenin LPO ile ilişkili istatistik açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ( $P < 0,05$ ). Deneme süresi sonunda hayvanlarda makroskobik olarak karaciğerde diffüz bir yağlanmanın şekillendiği görülmüştür.<sup>56</sup>

**El ve ark. (2004)** türkiye'de sıklıkla tüketilen bazı meyvelerin toplam fenolik madde içeriklerini porsiyon bazında araştırmıştır. Bunların içinde siyah üzüm, beyaz üzüm, kuru beyaz üzüm ve üzüm pekmezinin toplam fenolik madde içeriğini sırasıyla,  $2206 \pm 612$  mg /kg,  $1580 \pm 371$ ,  $3994 \pm 576$  mg /kg,  $4162 \pm 576$  mg /kg olarak bulmuştur. Ayrıca yapılan çalışmada, toplam fenolik madde konsantrasyonuna ile toplam antioksidan aktivite arasında iyi bir korelasyon bulunmuştur.<sup>57</sup>

**Erdoğan ve ark. (2004)** sıçanlarda karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ile oluşturulan akut karaciğer hasarı modelinde anason (*Pimpinella anisum*) uçucu yağı ekstresi ve antioksidan ajanlardan Vitamin C ve E'nin hepatoprotektif aktiviteleri plasebo ile karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Deney süresi sonrasında saptanan postmortem histopatolojik bulguları, Vitamin C ve E'nin karaciğer hasarını önleyici etkilerinin kuvvetli olduğunu anason (*Pimpinella anisum*)'un ise hepatoprotektif bir özelliğinin



olmadığı, hatta karaciğer fonksiyonlarının kısmen daha da olumsuz etkilendiğini göstermiştir. Vitamin C ve E gruplarında olumlu, anason grubunda ise olumsuz yönde değişim gösteren serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), Lactate dehydrogenase (LDH) ve indirekt bilirubin seviyelerinde kontrol ve CCl<sub>4</sub> gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Ratların vücut ağırlıklarında meydana gelen değişiklikler de biyokimyasal sonuçları destekleyen niteliklerde bulunmuştur. Sonuç olarak akut karaciğer hasarında anasonun karaciğeri koruyucu bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.<sup>58</sup>

**Bayram ve ark (2004)** sıçanlarda, karbontetraklorürle (CCl<sub>4</sub>) oluşturulan akut karaciğer hasarında, askorbik asit (C vitamini) ve alfa-tokoferolün (E vitamini) karaciğer koruyucu etkisinin araştırılmasını amaçlamışlardır.

Her birinde altı sıçan olacak şekilde, beş gruba ayrılmıştır. Sıçanların vücut ağırlıkları günlük olarak ölçülüp kaydedilmiştir. Çalışmanın sonunda sıçanlardan intrakardiyak yolla kan alınmıştır ve karaciğerleri çıkarılmıştır. Kanda aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve indirekt bilirubin seviyelerine bakılmış. Karaciğer ise histopatolojik olarak incelenmiştir.

CCl<sub>4</sub> grubuna ait karaciğerdeki hepatositlerde belirgin derecede balon dejenerasyonu, tek hücre nekrozu, mitoz, sentrilobüler nekroz, köprüleşme nekrozu, serum AST ve ALT seviyelerinde anlamlı derecede yükselme gibi, akut karaciğer hasarını gösteren histopatolojik ve biyokimyasal bulgular saptanmıştır. C ve E vitamini gruplarında ise akut karaciğer hasarını gösteren histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklerin CCl<sub>4</sub> grubuna göre anlamlı bir şekilde daha az olduğu

tespit edilmiştir. Vücut ağırlığı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Serum transaminaz enzim seviyeleri ve histopatolojik bulgular, C ve E vitaminin CCl<sub>4</sub>'e bağlı karaciğer hasarını anlamlı derecede azalttığını göstermiştir.<sup>59</sup>

**Kuzmanova-Valcheva ve ark. (2004)** Antosiyaninlerce zengin olan *Aronia melanocarpa* (NFJAM) bitkisinin ratların CCl<sub>4</sub> ile hasara uğratılmış karaciğerlerinde antioksidan etkisine bakılmış. CCl<sub>4</sub> (0,2 ml/kg<sup>-1</sup>, 2 gün)'e maruz bırakılan ratlarda oluşan, nekroz, yağ asitlerindeki değişim, balonlaşma dejenerasyonu ve santral venler etrafında lenfositlerde oluşan iltihaplanmalar gibi histopatolojik değişimler gözlemlenmiştir. CCl<sub>4</sub> uygulamasına bağlı plazmada, aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT) aktivitesinin arttığı, lipit peroksidasyon içeriğinin arttığı ve karaciğerde glutatyon (GSH) düştüğü görülmüştür. NFJAM doza bağımlı olarak rat karaciğerinde nekrotik artışlardaki değişimleri azalttığı ve CCl<sub>4</sub> içeriğinde plazmadaki AST ve ALT artan aktivitesinin durdurmuştur. NFJAM CCl<sub>4</sub> içeren karaciğerde yüksek MDA oluşumunu ve azalan GSH içeriğini önlemiştir.<sup>60</sup>

**Yüce ve ark. (2007)** Sağlıklı ratların karaciğer ve testis dokularında antioksidan aktivite üzerinde nar suyunun etkileri araştırılmıştır.

Karaciğer ve testis dokularındaki lipit peroksidasyonu (malondialdehit, MDA), glutasyon (GSH) düzeyleri ile glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktiviteleri araştırılmıştır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında nar suyunun farklı dozlarını almış olan sıçanların doku lipit peroksidasyonu düzeylerinde önemli bir azalma gözlenirken glutasyon (GSH) düzeyleri, glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktivitelerinde belirgin bir artış tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; nar suyu tüketimi ratların karaciğer ve testis dokusundaki lipit peroksidasyonu azaltırken antioksidan aktiviteyi artırmaktadır. Bu sonuçlar nar suyunun güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olabileceğini desteklemektedir.<sup>61</sup>

**Yassa ve ark. (2008)** çalışmalarında shahani siyah üzüm tanelerinin farklı kısımlarının antioksidant aktivitesini değerlendirmiştir. Üzüm tanelerinin suyu, posası ve çekirdeğinin antioksidant aktivitesi ve lipit peroksidasyonunu önleme aktivitesini incelemişlerdir. Üzüm çekirdeğinin çok yüksek, üzüm posasının orta düzeyde ve üzüm suyunun daha az aktivite gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Bu da üzüm çekirdeği ve posa ekstraktlarının başlıca lipit peroksidasyonu önlemesi antioksidant aktivitesini gösterir, bununla beraber üzüm suyunun serbest radikalleri söndürme aktiviteleri de antioksidant aktivitelerine dayandırılır.<sup>62</sup> Vitamin E ve BHT değerlendirmede referans olarak kullanılmıştır.

**Suresh ve Pari. (2008)** Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş üzüm yaprağının karaciğer ve böbrek hasarlarına karşı koruyucu etkisini araştırmışlardır. Etanol ile hasar oluşturulmuş sıçanlarda üzüm yaprağının biyokimyasal parametreleri normal seviyelere düşürdüğünü ve lipit peroksidasyonunu engellediğini göstermişlerdir. Yine histopatolojik çalışmalarda karaciğer ve böbrek dokularının normal bir görünüm sergilediğini açıklamışlardır.<sup>63</sup>

**Fang ve ark. (2008)** Lipit peroksidasyonunda kronik karaciğer hasarının karaciğer fibrossisi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak lipit peroksidasyon ürünlerinin direkt etkileri gösterilmemiştir. Bu çalışmada karaciğer fibrozis üzerine lipit peroksidasyon ürünlerinin etkisini değerlendirmek için karbon tetraklorür ve mısır yağının lipit peroksidasyonu ürünleri incelenmiştir. CCl<sub>4</sub> 8 hafta boyunca haftada 2 kez verilmiştir. Mısır yağı farelere günlük olarak 2 veya 10 ml/kg dozunda

verilmiştir. CCl<sub>4</sub> hem siklooksigenaz (COX)-2 bağımsız hem de (COX)-2 bağımlı lipit peroksidasyonu meydana getirmiştir. COX-2 bağımsız lipit peroksidasyonu mısır yağı etkisini artırırken COX-2 bağımlı lipit peroksidasyonu üzerinde herhangi bir etki görülmemiştir. Farelerde CCl<sub>4</sub> nedeniyle oluşan karaciğer fibrozis mısır yağı ile etkileştirilmesiye artmamıştır. Ayrıca CCl<sub>4</sub> tarafından oluşturulan yağlı karaciğer miktarı mısır yağı etkileştirilmesiyle artmıştır. İnflamasyon ile ilişkili UCP-2 mRNA etkisi CCl<sub>4</sub> tarafından oluşturuluyorsa da bu etki mısır yağı tarafından artmamıştır. Sonuç olarak mısır yağı COX-2 bağımsız yol üzerinden polidoymamış yağ asitlerini zenginleştirerek CCl<sub>4</sub> tarafından oluşturulan karaciğer fibrozisini artırmayan lipit peroksidasyonu ürünlerini artırdığı görülmüştür.<sup>64</sup>

**Mohammadi ve ark. (2009)** Reaktif oksijen türleri (ROS) normal fizyolojik süreçte hayati rol oynar. Ancak ROS'un fazla ürünü çoğu dejenere hastalıkların başlamasını içerir. Bununla beraber yeni antioksidantların keşfi birçok araştırma grupları için ilgi çekmektedir. Bu çalışmada çeşitli *in-vitro* sistemlerde çalışılan bir metoksi VO-salen (met VO-salen) kompleksinin antioksidant özelliklerini değerlendirilmiştir. Buna ek olarak Met VO-salen'nin sitotoksik etkisi işlem görmüş K562 hücresi MTT'e dayandırılarak değerlendirilmiştir. Bir *in-vivo* yaklaşımda farelerde CCl<sub>4</sub> tarafından oluşturulan oksidatif hasara karşı (MetVO-salenin koruyucu etkisi SOD ve CAT aktivitelerine göre ve MDA ile GSH seviyelerine göre araştırılmıştır. Bu sonuçlar göstermiştir ki MetVO-salen'nin doza bağımlı bir şekilde O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikellerini etkin bir şekilde söndürebilme yeteneğine sahiptir. *In-vivo* sonuçlar ayrıca göstermiştir ki CCl<sub>4</sub> ile etkileştirilmiş fareler MetVO-salen uygulanması CCl<sub>4</sub> ile etkileştirilmiş kontrol fareleri ile karşılaştırıldığında SOD aktivitesini önemli oranda (% 22), GSH içeriğini % 59 artırırken MDA seviyesini %

33 azaltmıştır. Sonuç olarak MetOV-salen'nin etkili bir antioksidant olduğu görülmektedir daha ileri biyolojik değerlendirmeler için oldukça uygun olduğu bulunmuştur.<sup>65</sup>

**Kılıçgün ve ark. (2009)** *Rosa canina*'nın (*Rosa canina L.*) karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ile uyarılmış lipid peroksidasyonu, alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) aktiviteleri, protein oksidasyonu inhibe edici etkisi ve glutatyon düzeyine etkisi çalışılmıştır. Çalışmada Wistar Albino sıçanlardan kontrol I, kontrol II ve *Rosa canina* grupları oluşturuldu. Kontrol grupları standart pellet diyetle, *Rosa canina* grubu ise yemlerine % 6 oranında *Rosa canina* katılmış diyetle 3 ay beslenmiş. Kontrol I grubuna zeytinyağı (1ml/kg, i.p.), diğer gruplara tek doz CCl<sub>4</sub> (1ml/kg vücut ağırlığı), zeytinyağındaki % 20'lik çözeltisi şeklinde peritonici uygulanmıştır. Uygulamadan 2 saat sonra sıçanlar öldürülmüştür. Sıçanların plazma ALT ve AST aktiviteleri karaciğer lipid peroksit düzeyleri, karaciğer protein oksidasyonu ve glutatyon düzeyleri ölçülmüştür. CCl<sub>4</sub> uygulanan sıçan grubu kontrol II ile *Rosa canina* grubundaki sıçanlar karşılaştırıldığında *Rosa canina*'nın plazma ALT ve AST aktiviteleri, karaciğer lipit peroksit, karaciğer protein oksidasyonu ve glutatyon düzeylerini anlamlı bir şekilde düşürdüğü görülmüştür. Bu bulgular *Rosa canina*'nın antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.<sup>66</sup>

**Çelik ve ark. (2009)** çalışmalarında trikloroasetik asit (TCA)'e maruz bırakılan ratlarda buna karşı narın (*punica granatum* (PG)) antioksidant ve koruyucu etkisinin incelenmesi tasarlanmıştır. Ratların çeşitli organlarında lipit peroksidasyonu ve antioksidant savunma sistemleri içeriği serum enzimlerinin ölçülmesiyle bitki karışımlarındaki potansiyel hepatopreventive ve antioksidant potansiyelleri ile değerlendirilmiştir. Deney üç deneysel gruba ayrılmıştır; A (kontrol=ilaçsız), B

(yalnızca TCA verilen), C (TCA ve nar). Sonuçlara göre, özellikle B grubunda AST ve ALT seviyeleri artarken, bunlar C grubunda önemli bir şekilde azalmıştır. LDH ve CK, B grubunda önemli oranda değişmezken bununla beraber özellikle C grubunda azalmıştır. Karaciğer, beyin, böbrek ve kalp dokularındaki MDA içeriği B grubunda önemli oranda artmıştır, bununla beraber C grubunda önemli bir değişim gözlemlenmiştir. Diğer taraftan B grubunun karaciğerinde SOD önemli olarak azalmıştır ama C grubunda bu önemli olarak değişmemiştir. C grubundaki, karaciğer, beyin ve dalaktaki GST aktivitesi önemli olarak artmıştır, kontrolde bunlarda böbreğe nazaran önemli azalma gözlemlenmiştir. Bundan dolayı bu çalışma uyarılmış kimyasalın oksidatif zararın kanserojenliğine karşı PG'nin sunulan bileşenlerinin koruyucu etkisi vurgulanmıştır.<sup>67</sup>

**Srivastava ve ark. (2010)** Decalepis hamiltonii, Hindistanın yarım adalarındaki ormanlarda yetişen tırmanıcı bir çalı formudur ve tüketildiğinde sağlıklı özellikleri vardır. Antioksidan aktivitesi bilinen D. hamiltonii köklerinin sulu ekstraktlarının farelerde karaciğer hasarında ve oksidatif etki içeren CCl<sub>4</sub>'e karşı karaciğeri koruyucu aktivitesi çalışılmıştır. D. hamiltoniinin sulu kök ekstraktının farelere uygulanması tekli dozlarla (50, 100 ve 200 mg/kg) ve çoklu dozlar olarak (50 ve 100 mg/kg, 7 gün boyunca) önemli derecede serum marker enzimleri (AST, ALT, ALP ve LDH) tarafından hepatik hasara sebep olduğu gösterilen CCl<sub>4</sub>'ü engellemiştir. Bu değişimlere paralel olarak, kök ekstraktlarında glutatyon antioksidan enzimleri (SOD, CAT, CPx, GR ve GST)'nin onarım seviyeleri, protein karbonil ve lipit peroksidasyonu engellenmesiyle fare karaciğerinde oksidatif hasar sebeplerinden CCl<sub>4</sub> engellenmiştir. Biyokimyasal değişimler doza bağımlı bir şekilde kök ekstraktının belirtilen karaciğer koruyucu etkisi histopatolojik verilerin

desteklenmesiyle oluşturulmuştur. Karaciğer hasarına sebep olan CCl<sub>4</sub>'e karşı D. hamiltonii köklerinin sulu ekstraktının koruyucu etkisi antioksidant bileşiklerle bağlantılı olarak bulunmuştur.<sup>68</sup>

### 2.3 KAYNAKLAR

1. Unr, E.; Dr.Ulger, H.; Dr. Ekinci, N. *Anatomi*, 1. Baskı, 152-156, **2002**.
2. Haubrick, W.S. *Gastroenterology*, **2004**, 127, 16.
3. İto, L.; Hiroyuki, M.; Kosugi, L.; Shirasawa, H. *Virchawa Aroh B Cell Pathology*, 58, 417, **1990**.
4. Pestel, S.; Jungermann, K.; Gotze, O.; Schieferdecker, H.L. *Laboratory investigation*, **2002**, 82, 463-471.
5. Aytekin, Y.; Solakoğlu, S. *Temel histoloji*, 10. Baskı, 332-344, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, **2006**.
6. İnci, A. *Sindirim Kanalinun Salgı Fonksiyonları, Tıbbi fizyoloji*, Ed. Çavuşoğlu, H, 9. Baskı, 827-828, Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, **1996**.
7. Güzel, C. *Tıbbi Fzyoloji*, Ed. Çavuşoğlu, H, 9. Baskı, 827-828 Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, **1996**.
8. Robbins, K. C.; Ed: Çevikbaş, U. *Basic Pathology (Temel Patoloji)*, 6. Baskı, 517-555s, **2000**.
9. Ertekin, Ö. *Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Deneysel Akut Karaciğer Hasarında Dihydromyrcenol Ve Geranyl Formate'in Karaçiğeri Koruyucu Etkisi*, Uzmanlık Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Van, 49s, **2009**.
10. Fang, H.L.; Lin, W.C.; *Food and Chemical Toxicology*, **2008**, 46, 2267-2273.



11. Özdil, B. *Kronik Hepatit Ve Sirozlu Vakalarda COX-2 Gen Polimorfizminin Fibrozis Gelişimindeki Önemi*, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Adana, 3s, **2008**.
12. Bozkurt, H.S. *Sirozlu Hastalarda Hepatopulmoner Sendrom Sıklığının Araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana, 4s, **2008**.
13. Buğdacı, M.S. *Dahiliye*, 4. Baskı, 326-331s, **2004**.
14. Kaplan, M.M. *The New England Journal of Medicine*, **1996**, 335, 1570.
15. Gressner, A.M.; Bachem, M.G. *Digestion*, **1995**, 56, 335.
16. Ekinci, M.; *Bronşiyal Astımlı Çocuklarda Glutatyon-S-Transferaz Gen Polimorfizminin Bir Risk Faktörü Olarak Belirlenmesi*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, **2006**.
17. Vural, N. *Toksikoloji*, Ankara Üniversitesi Ezacılık Fakültesi Yayınları,73, Ankara, **2005**.
18. Yamazaki, H.; Inui, Y.; Yun, C.H.; Guengerich, F.P.; Shimada, T. *Carcinogenesis*, 13, 1789-1794, **1992**.
19. Ünübol, A. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2009, 20 (2), 75-78.
20. Stupans, I.; Jones, B.; McKinnon, R.A. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **2001**, 128, 367-376.

21. Emerk, K.; Onat, T.; Sözmen, Y.E. *İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık Ankara, 662s, 2002.*
22. Çeltik, C.; Erbaş, H.; Kurşun, Ö. S.; Bostancıoğlu, M.; İnan, M.; Öner, N.; Acunaş, B. A. *Türk Biyokimya Dergi, 2008, 4, 175-181.*
23. Şentürk, H.; Canbakan, B.; Hatemi, İ. *Karaciğer Enzim Yüksekliklerine Klinik Yaklaşım. Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi, 2004, No:38, 9-13.*
24. Öztürk, E. *Biyokimya, Klinisyen tıp kitabevleri, 3.baskı.*
25. Sonsuz, A. *Karaciğer Fonksiyon Bozukluklarına Klinik Yaklaşım. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi No:58, 2007, 69-68.*
26. Khan, M.M.; Muzammil, S.; Tayyab, S. *Biochimie, 2000, 82, 203-209.*
27. Brito, M. A.; Brites, D.; Silva, R.F.M. *Clinica Chimica Acta, 2006, 374, 46-56.*
28. Özbek, A. *İç Hastalıkları, 4. Baskı, 645-679s.*
29. Keha, E.; Küfrevioğlu, İ. *Biyokimya, 2. Baskı, 479-482s.*
30. Molle, V.W.; Libert, C. *Cytokine, 2003, 23, 94-100.*
31. Çelikbaş, B. *Deneysel Tıkanma Sarılığı Modelinde Caffeic Acid Phenethyl Ester'in Akciğer Hasarını Önlemedeki Etkinliği, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 2007, Isparta.*

32. Üstündağ, B.; Bahçecioğlu, İ.H.; Şahin, K.; Gülcü, F.; Düzgün, S.; Özercan, İ.H.; Gürsu, M.F. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2005**, 4, 263–271.
33. Masaki, N.; Yamada, S.; Orgata, I.; Ohta, Y.; Fujiwara, K. *Experimental Medicine*, **1988**, 188, 27-33.
34. Halliwell, B. *Lancet*, **1994**, 344, 721-724.
35. Kus, I.; Colakoglu, N.; Pekmez, H.; Seckin, D.; Ogeturk, M.; Sarsilmaz, M. *Acta Histochemica*, **2004**, 106, 289-297.
36. Benzie, I. F. *International Journal of Food Sciences & Nutrition*, **1996**, 47, 233-261.
37. Emen, S. *Cyclotrichium niveum Bitkisinin Farklı Polariteye Sahip Çözücüler İle Hazırlanan Ekstraktlarının Antioksidant Ve DNA'yı Serbest Radikallerden Koruma Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Diyarbakır, 50s, **2006**.
38. Niki, E.; Yamamoto, Y.; Komuro, E.; Sato, K. *American Journal of Clinical Nutrition*, **1991**, 53, 201-205.
39. Park, J. W.; Floyd, R. A. *Free Radical Biology & Medicine*, **1992**, 12, 245-250.
40. Cirillo, NW.; Zwas, F.R. *American Journal of Gastroenterology*, **1994**, 89, 1447-1452.

41. Rubin, R.A.; Kowalski, T.E.; Khandelwal, M.; Malet, P.F. *Annals of Internal Medicine*, **1994**, 121, 207-218.
42. Leuschner, U.; Leuschner, M.; Sieratzki, J. *Digestive Diseases and Sciences*, **1985**, 30, 642-649.
43. Thompson, J.N.; Cohen, J.; Blenkarn, J.I.; McConnell, J.S.; Barr, J.; Blumgart L.H. *British Journal of Surgery*, **1986**, 8, 634-6.
44. Lacaille, P.K.; Paraclis, K. *Hepatology*, **1993**, 18, 165-172.
45. Guldutuna, S.; Zinimer, G.; Imhof, M. *Gastroenterology*, **1983**, 104, 1736-1744.
46. Koç, E.; Üstün, A.S. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **2008**, 24, 82 – 100.
47. Prior, R. L. *American Journal of Clinical Nutrition*, **2003**, 78, 1744-1750
48. Mouie, A.; Cruz, J. M.; Franco, D.; Dominguez, M.; Sineiro, J. *Journal of Food and Chemistry*, **2001**, 72, 145.
49. Shahidi, F.; Naczki, M. *Technomic Publication*, **1995**, 235-277.
50. Divon, R. A.; Dey, D. M.; Lamb, C. Y. *Advances in Enzymology and Related Subjects of Biochemistry*, **1983**, 55, 1-69.
51. Toroğlu, S.; Çenet, M. *K.S.Ü. Fen ve Mühendislik Dergisi*, **2006**, 9(2).
52. Özcan, A. ; Mengi, A. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences (TÜBİTAK)*, **1998**, 22, 181-185.

53. Yılmaz, S.; Bahçecioğlu, H.İ. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences (TÜBİTAK)*, **2000**, 24, 25-28.
54. Kotamballi, E.N, Murthy, C.; Jayaprakasha, G.K.; Singh, P. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, 4791-4795.
55. MacDonald-Wicks, K. Lesley.; Garg, L.M. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **2003**, 14, 211-218.
56. Güven, A.; Erginsoy, S.; Kaya, N. *Kafkasya Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **2003**, 2, 131-136.
57. El, N.; Karakaya, S. *International Journal of Food Science and Nutrition*, **2004**, 55, 1, 67-74.
58. Erdoğan, E.; Kaya, A.; Rağbetli, Ç.M.; Özbek, H.; Cengiz, N. *Van Tıp Dergisi*, **2004**, 3, 69-74.
59. Bayram, İ.; Özbek, H.; Uğraş, S.; Tuncer, İ.; Reçber, D. *Van Tıp Dergisi*, **2004**, 2, 32-38.
60. Kuzmanova, V, S.; Borisova, P.; Galunska, B.; Krasnaliev, I.; Belcheva, A. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 56, **2004**, 195-201.
61. Yüce, A.; Aksakal, M. <http://www.fusabil.org>, **2007**, 6, 253-256.
62. Yassa, N.; Beni, R.H.; Hadjiakhoondi, A. *Pakistan journal of Biological Sciences*, **2008**, 21, 2516-2516.
63. Pari, L.; Suresh, A. *Food and Chemical Toxicology*, **2008**, 46, 1627-1634.
64. Fang, H.L.; Lin, W.C. *Food and Chemical Toxicology*, **2008**, 46, 2267-2273.
65. Mohammadi, M.; Yazdanparast, R. *Food and Chemical Toxicology*, **2009**, 47, 716-721.
66. Kılıçgün, H.; Altıner, D. *Fen Bilimleri Dergisi*, **2009**, Cilt 30 say 2.

67. Çelik, İ.; Temur, A.; Isik, I. *Food and Chemical Toxicology*, 47, **2009**, 145-249.
68. Srivastava, A.; Shivanandappa, T. *Food Chemistry*, **2010**, 118, 411-417.

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. MATERYAL**

Bu çalışmada kullanılan materyallerin bir olan üzüm (*Vitis vinifera L*) Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe bitkileri Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. Gültekin ÖZDEMİR tarafından, Diyarbakır'ın Çermik ilçesinden toplandı. Diğer bir materyal olan nar (*Punica granatum*) ise Mardin'in Derik ilçesinden toplandı.

##### **3.1.1. Kullanılan Materyaller**

###### **3.1.1.1. Nar (*Punica granatum*)**

*Punicaceae* familyasında yer alan narın (*punica granatum*) anavatanı Ortadoğu, Anadolu ve Kafkasya ile İran körfezi arasında kalan bölge olup binlerce yıldır üretimi ve tüketimi yapılmaktadır.<sup>1</sup> Nar (*Punica granatum*) Ortadoğudaki birçok kültürün halk hekimliğinde hastalıklardan korunmak için kullanılmaktadır<sup>2</sup>. Nar günümüzde kanser önleyici,<sup>3,4</sup> antiproliferatif, apoptotik, HIV-I inhibitör, mikrobisit, kardioprotektif gibi önemli yararlı etkileriyle çok popüler olmuştur.<sup>5,6</sup> Saf nar suyu C vitamini ile antosiyaninler, punikalajin, ellajik ve gallik asit gibi polifenolik bileşikler içermektedir<sup>7</sup>.

Ülkemizde Güney Doğu Anadolu Bölgesinden Doğu Karadenize kadar, çok soğuk yöreler dışında, her bölgede yetişebilen nar (*Punica granatum, L*) genellikle sıcak ve kurak iklim bölgelerinde yetişmektedir.<sup>8</sup>



**Resim 3.1.** *Punica granatum*

Nar meyvesi iri, küresel, üstten hafif basıktır. Olgunlukta kaliks segmentleri tarafından taçlanır. 5-14 cm çapındadır. İçi tohumla dolu olup, derimsi yapıda bir kabukla kaplıdır. Kabuk 1-5 mm kalınlığında beyazımsı, sarı yeşil veya kırmızı renklidir. Meyvenin yenen kısmı danelerden oluşur. Daneler zar şeklinde kabuk uzantılarıyla ayrılmış odacıklara yerleşmiştir. Sapa bağlanan kısımda bir göbek, sonra 2-5 adet alt odacık ve 5-8 adet üst odacık bulunur. Odacıkları ayıran zar kısımlarında kabuk daha ince, alt ve üstte daha kalın ve etli yapıdadır. Daneler bu etli kısma gömülü durumda bağlıdır. Daneler ince bir zar, pulp ve tohumdan oluşur. Renkleri beyaz-sarıdan pembe kırmızı ve koyu kırmızı mora kadar değişir. Tohumlar köşeli ve serttir.<sup>1</sup>



### 3.1.1.2. Üzüm (*Vitis vinifera L*)

*Vitis vinifera L* Vitaceae familyasının *Vitis* cinsinde yer alan 32 türün en önemlisidir. Dünyada halen yetiştirilmekte olan üzüm çeşitlerinin % 90'ından fazlası bu türe ait çeşitler veya melezlerinden oluşmaktadır.<sup>9</sup>

Yetiştirilme alanı ve üretim miktarı bakımından dünyada ve ülkemizde ilk sıralarda yer alan bir meyve olan üzüm, eski çağlardan bu yana gerek sofralık olarak ve gerekse değişik şekillerde işlenmek suretiyle (pekmez, üzüm suyu, kuru üzüm, şarap, sirke vb.) her mevsimde temin edebileceğimiz bir besindir. Üzüm, şeker içeriğinden dolayı, kalori değeri yüksek bir besin maddesidir. Ayrıca mineral maddelerden kalsiyum, potasyum, sodyum ve demir yönünden zengin olduğu gibi bazı vitaminler (A, B1, B2 ve C vitaminleri) yönünden de önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Üzüm dünyada meyve türleri içerisinde önemli bir antioksidant kaynağı olarak kabul edilmektedir.<sup>10</sup> Üzüm sahip olduğu bu özellik nedeniyle her geçen gün dünyada önemi gittikçe artan bir meyve türüdür.<sup>11</sup> Üzümlerden özellikle siyah renkli üzüm, üzüm suyu ve kırmızı şarapta bulunan başlıca fenolik bileşikler flavonoid, antosiyanin ve flavonoller olarak adlandırılmaktadır.<sup>12,13,14</sup> İnsan sağlığı bakımından önemli olan üzümde yer alan bu maddelerin üzüm çeşidine, yetiştirildiği iklim ve toprak koşullarına, olgunlaşma seviyelerine, kültürel uygulamalarına ve ürün miktarına göre değiştiği bildirilmektedir.<sup>15,16,17,18,19</sup>

Üzüm çekirdeği flavan-3-ol (kateşin)'lerin polimerleri olarak bilinen prosiyanidinlerce zengindir.<sup>20</sup>



**Resim 3.2.** *Vitis vinifera L*

### **3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Gallik asit, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), folin&ciocalteu's fenol reaktifi, sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), trikloroasetikasit (TCA), deoksiriboz, 2-tiyobarbitürik asit (TBA), NaOH, sodyum-potasyum tartarat (Na-K-Tartarat), bakırsülfat pentahidrat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), potasyum klorür (KCl), bovine serum albumin (BSA) ve karbontetraklorür ( $\text{CCl}_4$ ) Merc'den, Ursodeoksikolik asit (Ali Raif ilaç sanayi A.Ş), ticari olarak temin edildi.

### **3.1.3. Kullanılan Aletler**

UV Spektrofotometresi (Shimadzu, UV/Visible Recording spektrofotometre), santrifüj (Centruin 8000 Series), vorteks (Heidolph), sterilizatör (Heraeus), otoklav (Hirayama), çalkalayıcı (Memmert), terazi (Mettler Toledo), pH metre (Mettler Toledo), evaporatör (RE 100B, Bibby Strilin Ltd.), membran filtresi (Schleicher&Schuell), blender, derin dondurucu (Sanyo), buzdolabı (Arçelik) ,

liyofilizatör (Christ), sonikatör, soxhlett (ildam), rotari mikrotom (feica), ışık mikroskobu (olympus), boyama kabı.

## **3.2. METOT**

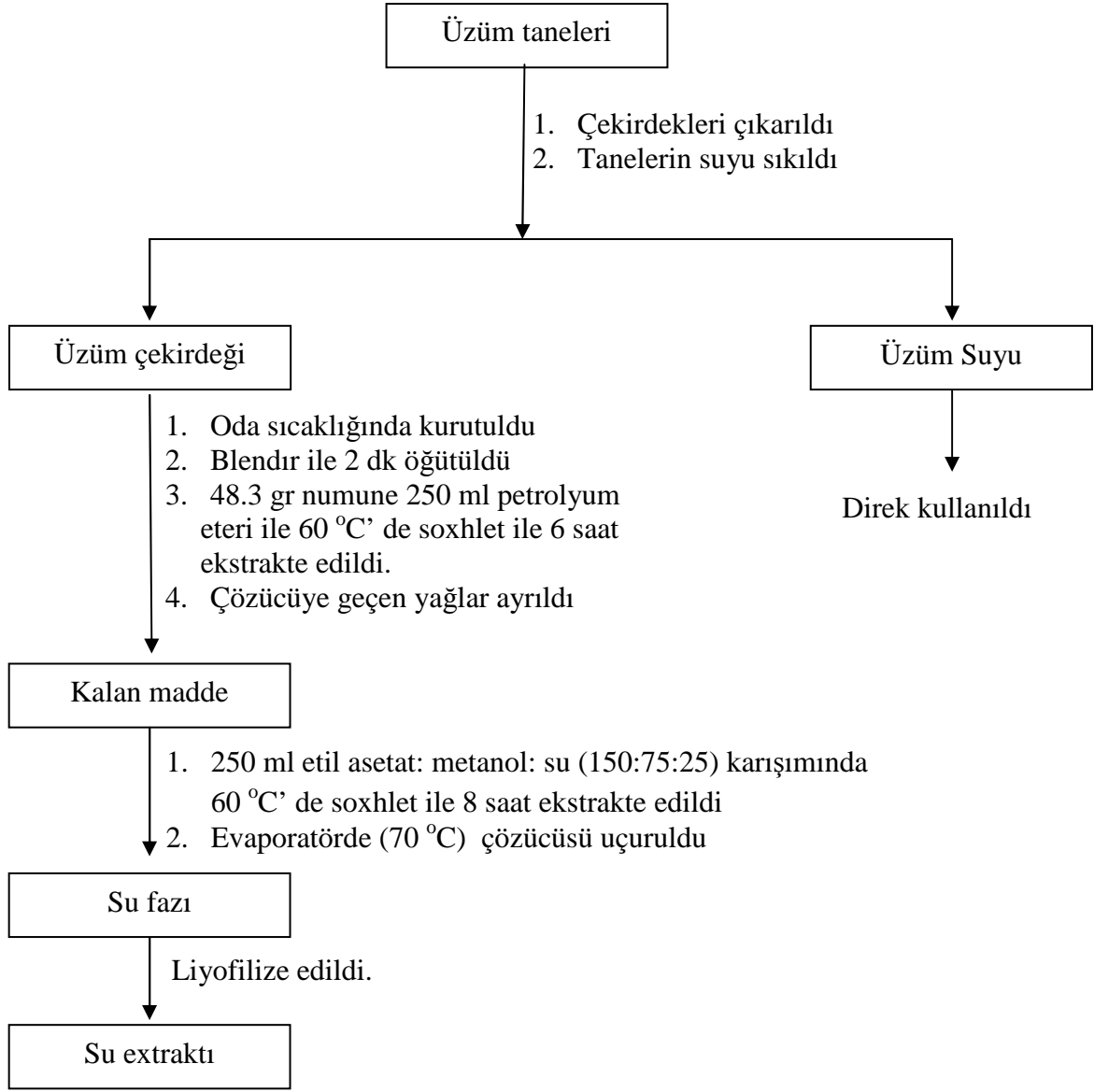
### **3.2. 1. Meyve Ekstraktlarının Hazırlanması**

#### **3.2.1.1. Nar suyunun hazırlanması**

Getirilen narlar iyice yıkandı ve daha sonra ikiye bölünerek bir meyve sıkacağı ile sıkıldı. Elde edilen nar suyu süzülüp, eppeddorf tüplere konularak deney esnasında kullanılmak üzere dipfrizde (-20 °C) saklandı.

#### **3.2.1.2. Üzüm suyu ve çekirdeğinin hazırlanması**

2 kg üzüm materyali yıkandıktan sonra, bu üzümlerin taneleri salkımdan kopartılıp çekirdekleri çıkartıldı. Geriye kalan kısmın suyu süzüldü. Bunlar iyice yıkandıktan sonra, üzüm tanelerinin çekirdekleri çıkarıldı ve bu çekirdekler bir kurutma kâğıdı üzerinde oda sıcaklığında kurutulmaya bırakıldı. Posasının suyu sıkıldı ve süzüldükten sonra deney esnasında kullanılmak üzere dipfrizde (-20 °C) saklandı. Çekirdek kurutulduktan sonra bir blender yardımıyla iyice öğütüldü ve toz haline getirildi. Daha sonra bu kuru çekirdekten 48,3 g bir kofula alındı ve önce yağın almak için 250 ml petrol eteri ile 6 saat 60°C de soxhlett düzeneği ile ekstrakte edildi. Kalan madde ikinci kez Etil Asetat: metanol: Su (150:75:25)'dan oluşan çözücü sistemi ile 8 saat daha soxhlet düzeneği ile ekstrakte edildi. Sekiz saatin sonunda elde edilen ekstraktın çözücüsü (su dışında) evaporatörde uçuruldu ve su fazı 24 saat liyofilize edildi. 4.2 g Öküzgözü çekirdeği liyofilizatı elde edildi<sup>21</sup> (şekil 3.1.).



**Şekil. 3.1.** Üzüm ekstraktının hazırlanması

### 3.2.2. Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayini

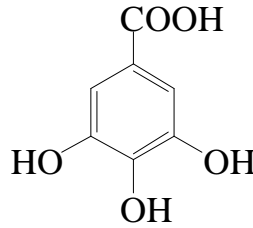
Toplam fenol miktarı Folin-Ciocaltaeu yöntemine göre tayin edildi.<sup>22</sup> Standart olarak gallik asit kullanıldı (şekil 3.2.). Bu yöntemin dayandığı temel prensip, bitki ekstraktları içindeki toplam fenolik bileşen miktarını gallik asite eşdeğer olarak hesaplamaktır.<sup>23</sup> Gallik asitin 5 mg/mL'lik stok çözeltisi hazırlandı, bu stok çözeltide 50–500 µg/mL konsantrasyonlarda seyreltmeler yapıldı. Çalışılan tüm ekstraktların 1

mg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. Daha sonra hazırlanan gallik asit ve ekstrakt çözeltilerinden 40 µL alınıp, üzerlerine 1160 µL saf su ve 200 µL folin&ciocalteu's fenol reaktifi (2,0 N) ilave edildi ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve üzerlerine 600 µL % 20'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında çalkalayıcıda karıştırıldı. Daha sonra 765 nm'de UV cihazında absorbans değerleri okundu. Kör olarak gallik asit ve ekstrakt dışındaki tüm maddeler kullanıldı.

Gallik asitin artan konsantrasyonlarına karşı absorbans değerleri grafiğe geçirildi ve aşağıdaki eşitlik elde edildi.

$$\text{Absorbans (A)} = 0,0012 \times \text{gallik asit } (\mu\text{g})$$

Bu eşitlik kullanılarak her bir ekstraktın içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı.

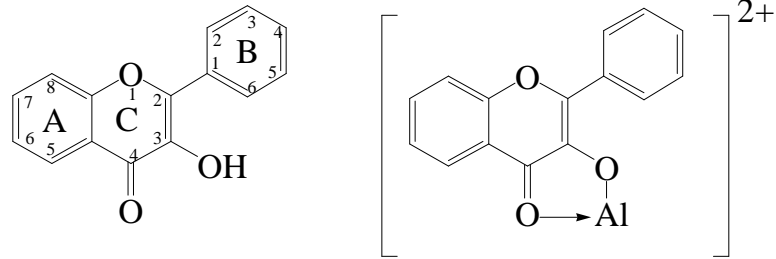


**Şekil. 3.2.** Gallik asit

### 3.2.3. Toplam Flavonoid Bileşen Miktar Tayini

Toplam flavonoid bileşen tayini Flavonoid-Alüminyum kopleks oluşumuna dayanarak<sup>24</sup> Moreno, Isla, Sampietro ve Vattvone (2000) tarafından geliştirilen yöntem ile tayin edildi.<sup>25</sup> Standart olarak fenolik bir bileşik olan quercetin kullanıldı (şekil.3.3). Quercetin 3- veya 5-hidroksi grubu ve 4-karbonil grubu ortam ve pH'ya

bağlı olarak metal iyonlarıyla ana kompleksleşme noktalarıdır. 3<sup>1</sup> ve 4<sup>1</sup> OH grupları asidik ortamda Al(III) ile kompleks oluşturmazlar.<sup>26</sup>



**Şekil. 3.3.** Kuersetin molekülü ve Al<sup>3+</sup> ile yaptığı kompleks yapısı.

Bu yöntemle artan kuersetin konsantrasyonlarına karşı absorpsiyon değerlerini grafiğe geçirip R<sup>2</sup>'e bulundu ve bulunan eğim formülünden nar suyu, üzüm suyu ve üzüm çekirdeğindeki toplam flavonoid bileşen miktarı kuersetin eşdeğer olarak hesaplandı.

Kuersetinin metanol içindeki 500 mg/ml'lik stok çözeltisinden 1 mg/ml 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml'lik konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. 1 ml nar suyu ve üzüm suyu kullanıldı, üzüm çekirdeği ise 2 mg/ml'lik çözeltisi hazırlandı. İlk önce tüplere 0,1 ml % 10 Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 0,1 ml 1M CH<sub>3</sub>COOK ve 3,8 ml metanol bırakıldı, daha sonra bunların üzerine ekstraktlar (Nar suyu,1ml; Üzüm suyu, 1ml ve Üzüm çekirdeği, 2 mg/ml) ilave edildi. Tüpler vorteks ile karıştırıldıktan sonra 40 dakika, 25°C su banyosunda inkübasyona bırakıldı ve daha sonra UV-VIS spektrofotometresinde 415 nm dalga boyunda absorpsiyon ölçüldü. Kuersetin artan konsantrasyonuna karşı absorpsiyon değerleri grafiğe geçirildi, standart eğri çizilerek R<sup>2</sup>= değeri ve aşağıdaki deklam elde edildi.

Absorbans (A) = 0,013 x gallik asit ( $\mu\text{g}$ )

### **3.2.4. Sıçan Deneyi**

#### **3.2.4.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar**

Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (DÜSAM) alınan, yaklaşık 150-180 g ağırlığında 36 adet dişi Wistar albino ırkı sıçan kullanıldı. Bu çalışma, Deney Hayvanları Etik Kurulu (DEHEK) tarafından onaylandı.

Sıçanlar 4 hafta boyunca DÜSAM'da özel tel kafeslerde, oda sıcaklığında (25 °C), özel havalandırma tertibatı olan ortamda, yeterli miktarda su ve sıçan yemi (tablo 3.1) ile beslendi.

#### **3.2.4.2. Sıçanlara Verilen Bitki Ekstraktlarının, İlaç ve Karbontetraklorürün Hazırlanması**

Bu çalışmada,  $\text{CCl}_4$  grubu sıçanlara dört hafta süresince haftada bir olmak üzere  $\text{CCl}_4$  (1 mk/kg) mide içi sonda ile uygulandı (resim 3.3). Nar suyu, üzüm suyu, üzüm çekirdeği ve ilaç (ursodeoksikolik asit) grubunda yer alan hayvanlara aynı süre ve dozda  $\text{CCl}_4$  yanı sıra, her gün nar suyu (2ml/kg), üzüm suyu (2 ml/kg), üzüm çekirdeği (800 mg/kg) ve ursodeoksikolik asit (10 mg/kg) mide içi sonda ile verildi.



**Resim 3.3.** Sıçan'ların Diyet Uygulaması

#### **3.2.4.3. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması;**

Deneyde kullanılan sıçanlar rastgele ve her grupta altı tane olacak şekilde gruplara ayrıldı. Çalışma boyunca aşağıdaki gibi beslendiler;

**Grup 1:** Normal diyet + serum fizyolojik (1ml/kg)

**Grup 2:** Normal diyet + CCl<sub>4</sub> (1ml/kg)

**Grup 3:** Normal diyet + Üzüm çekirdeği (800 mg/kg) + CCl<sub>4</sub> (1ml/kg)

**Grup 4:** Normal diyet + Üzüm suyu (2 ml/kg) + CCl<sub>4</sub> (1ml/kg)

**Grup 5:** Normal diyet + Nar suyu (2 ml/kg) + CCl<sub>4</sub> (1ml/kg)

**Grup 6:** Normal diyet + Ursodeoksikolik asit (10 mg/ kg) + CCl<sub>4</sub> (1ml/kg)

n: 6 (sıçan sayısı )



Kontrol grubu hariç diğer tüm gruplara, haftada bir olmak üzere toplam dört sefer CCl<sub>4</sub> verildi.

#### **3.2.4.4. Vücut Ağırlık Takibi**

Sıçanlar deney boyunca haftada bir olmak üzere toplam dört defa tartıldı. Sıçanlardaki ağırlık değişimlerinin ortalaması alındı ve zamana bağlı olarak ağırlıklarındaki değişim tabloya geçirildi.

#### **3.2.4.5. Doku Ve Kan Örneklerinin Alınması**

Son ilaç uygulamasından 24 saat sonra tüm gruplardaki denekler bir eter tankının içerisine konularak bayıltıldı ve son tartımları alındı. Sakrifikasyon sonunda göğüs kafesi açılarak hiç beklemeden intrakardiyak (kalp içinde bulunan) girişimle kan örneği silikonlu tüplere alındı. Daha sonra karaciğer, böbrek ve beyin dokuları çıkartıldı. Her bir dokudan kesitler alınarak serum fizyolojik içerisinde histolojik çalışmalar için dipfrizde (-20°C) saklandı.

#### **3.2.4.6. Doku Homejanatlarının hazırlanması**

Çıkartılan tüm doku örnekleri homojenize edilmeden önce tartıldı ve falkon tüplerine etiketlenerek konuldu. 120mM KCl içeren 50mM fosfat tamponu pH:7.4 olacak şekilde hazırlandı. Karaciğer örnekleri 10 ml, beyin örnekleri 4 ml ve böbrek örnekler 2 ml fosfat tampon içinde sonikatörde homojenize edildi. Daha sonra 3000 rpm de 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant deneylerde kullanılmak üzere dipfrizde (-20°C) saklandı.<sup>27,28</sup>

#### **3.2.5. Biyokimyasal İnceleme**

Silikonlu tüplere alınan tüm gruplardaki hayvanların kan örnekleri aynı gün 5 dakika 6500 devirde santrifüjlendi. Ayrılan serumlarda aspartat aminotransferaz

(AST), alanin aminotransferaz (ALT), Bilirubin ve Albümin değerleri MODULAR (Roche®) cihazı ile UV fotometrik, yöntemle tayin edildi.

### **3.3.6. Lowry Metodu ile Protein Miktar Tayini**

Bu metod ile proteinler alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona girerek folin reaktifi ile indirgenir. Bu sırada oluşan mavi rengin şiddeti ile protein konsantrasyonu arasında bir orantı vardır.

Reaktif A; % 2'lik Sodyum karbonat çözeltisi, 1 N Sodyum hidroksit çözeltisinde hazırlandı.

Reaktif B; % 1'lik Bakır Sülfat Çözeltisi ile % 2'lik Sodyum Potasyum tartarat çözeltisi eşit hacimde (1/1) karıştırılarak 1 N Sodyum hidroksit içinde hazırlandı.

Reaktif C; 1 ml folin reaktifi +14 ml saf su

Stok protein standardı olarak bovine serum albümin (BSA) kullanıldı. 1 mg/ml BSA stok çözeltisi hazırlandı ve stok protein çözeltisinden 30–300 mg/ml konsantrasyon aralığında seyreltmeler yapıldı.

Standartlar ve daha önce hazırlanan karaciğer doku homejanatlarından 4 µl, beyin doku homejanatlarından 500 µl ve böbrek doku homejanatlarından 10 µl alınıp tüplere konuldu. Bunun üzerine 0,9 ml reaktif A ilave edildi. Tüpler 10 dakika 50°C'de su banyosuna konuldu. Bütün tüpler oda sıcaklığına gelince 1ml reaktif B ilave edildi ve 10 dakika daha oda sıcaklığında bekletildi. Tüplere daha sonra 3 ml reaktif C ilave edildi. 10 dakika 50°C'de su banyosuna tekrar inkübasyona bırakıldı.

Örnekler oda sıcaklığına gelince 650 nm’de absorbansları ölçüldü ve artan BSA konsantrasyonuna karşı absorbans değerleri grafiğe geçirildi. Elde edilen standart eğri denkleminde karaciğer, beyin ve böbrek doku homojenatların protein miktarları hesaplandı.<sup>29</sup>

### 3.3.7. Lipit Peroksidasyonu

Bu metod lipit peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) ile tiobarbitürük asit (TBA)’nın reaksiyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Standart olarak 1,1,3,3-tetrametoksipropanın (TMP) kullanıldı. TMP’nin 0,05 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde, derişimi 10 nmol/ml olan çözeltisi hazırlandı ve 1 nmol/ml–5 nmol/ml arasında seyreltmeler yapıldı. Hazırlanan seyreltik TMP’lerden 200 µl alınıp deney tüplerine konuldu ve üzerine sırasıyla 1,8 ml % 20 TCA (tirikloroasetik asit) ve toplam hacim 4 ml olacak şekilde 0.05 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edildi. Daha sonra bütün tüplere 1ml % 0,2 TBA ilave edilerek vorteks ile karıştırılıp 30 dakika su banyosunda kaynatıldı. Tüpler buzdolabında soğutulduktan sonra 5 ml n-bütanol ilave edildi. 3000 rpm’de 10 dakika santirifüjlendi. Organik fazın 535 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu ve artan konsantrasyon değerlerine karşı grafiğe geçirildi.

Karaciğer doku homejanatlarından 750 µl, beyin doku homojenatlarından 500 µl ve böbrek doku homojenatından 250 µl alınıp aynı işlemler uygulanarak 535 nm’de absorbans değerleri okundu ve hazırlanan TMP standart grafiği kullanılarak nmol MDA/ml cinsinden doku homejanatlarındaki MDA miktarı hesaplandı.<sup>30</sup>

### **3.3.8. Karaciğerin Histopatolojik İncelenmesi**

Karaciğer, böbrek ve beyin doku örnekleri % 10'luk tamponlanmış formolde 3 saat fikse edildi. Alkol, aseton, ksilen ve parafin işlemlerinden sonra bloklandı. Beyin, karaciğer ve böbrek bloklarından 5 mikronluk kesitler alındı. Alınan kesitler 45°C'lik su banyosunda açılarak lama aktarıldı. Kesitler 1-2 gün bekletildi. Daha sonra beyin Hematoksin-Eozin boyası ile boyandı, karaciğer ve böbrek dokuları triplet boyama ile boyandı.<sup>31</sup> Boyama işleminden sonra doku üzerine gelmeyecek şekilde entellan (kapatıcı) kullanılarak lamel ile kapatma işlemi yapıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX50 ışık mikroskopunda 40X, 20X ve 10X büyütme ile değerlendirildi. Mikroskoba bağlı olan Olympus marka fotoğraf makinası ile fotoğraflandı. Karaciğer, beyin ve böbrek hasarları değerlendirildi.

### **3.2.9. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizler SPSS for Windows 17.0 paket programı ile bilgisayarda yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar için parametrik varsayımların gerçekleştiği verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandıktan sonra gruplar arası farklılıklar Tukey testi ile belirlendi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak gösterildi. Anlamlılık derecesi,  $p < 0.05$  kabul edildi.

## KAYNAKLAR

1. Yılmaz, C.; Özgüven, A.I. *Alatarım*, **2003**, 2, 4-9.
2. Gurib-Fakim, A. *Molecular Aspects of Medicine*, **2006**, 27, 1-93.
3. Afaq, F.; Saleem, M.; Krueger, C.G.; Reed, J.D.; Mukhtar, H. *International Journal of Cancer*, **2005**, 113, 423-433.
4. Lansky, E.P.; Harrison, G.; Froom, P.; Jiang, W.G. *Investigational New Drugs*, **2005**, 23, 121-122.
5. Neurath, A.R.; Strick, N.; Li, Y.Y.; Debnath, A.K. *Biomedcentral Infectious Diseases*, **2004**, 4, 1-12.
6. Sumner, M.D.; Elliott-Eller, M.; Weidner, G. *American Journal of Cardiology*, **2005**, 96, 810-814.
7. Seeram, NP.; Adams, L.S.; Henning, S.M. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **2005**, 16, 360-367.
8. Temiz, G.M. *Nar (punica granatum)'da Farklı Büyüme Düzenleyicilerinin Ve Farklı Eksplant Kaynaklarının Somatik Embriyogenesis Üzerine Etkileri*, Yüksek Lisans Tez, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, **2009**.
9. Çoban, H.; Küey, E. *Ege Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi*, **2006**, 2, 41-52.
10. Ames, B.N.; Shigena, M.K.; Hagen, T.M. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (U.S.A)*, **1993**, 90, 7915-7922.

11. Macheix, J.J.; Fleuriet, A. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1990**, 1-25.
12. Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganda, G. *Free Radical Biology & Medicine*, **1996**, 20, 933-956.
13. Singleton, V.L. *Proceedings of Grape Wine Centennial Symposium University of California, Davis*, 215-222, **1982**.
14. Palomino, O.; Gomez-Serranillos, M.P.; Slowing, K.; Carretero, E.; Villar, A. *Journal of Chromatography*, **2000**, 870, 449-451.
15. Morris, J.R.; Cawthon, D.L. *American Journal of Enology and Viticulture*, **1982**, 33, 145-148.
16. Bravdo, B.A.; Hepner, Y.; Loigner, C.; Cohen, S.; Tabacman, H. *American Journal of Enology and Viticulture*, **1985**, 36, 132-139.
17. Matthews, M.A.; Anderson, M.M. *American Journal of Enology and Viticulture*. **1988**, 39, 313-320.
18. Iland, P. *Australian Grapegrower & Winemaker*, **1989**, 302, 13-15.
19. Nadal, M.; Arola, L. *Vitis*. **1995**, 34, 151-154.
20. Yılmaz, Y.; Toledo, R.T. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2004**, 52, 255-260.
21. Baydar, G. N.; Özkan, G.; Yaşar, S. *Food Control*, 18, **2007**, 1131-1136.
22. Silinkard, K.; Singleton, V. L. *American Journal of Enology and Viticulture*, **1997**, 28, 49-55.

23. Chandler, S. F.; Dodds, J. H. *Plant Cell Reports*, **1983**, 2, 105.
24. Topçu, G.; Ay, M.; Bilici, A.; Sarıkürkçü, C.; Öztürk, M.; Ulubelen, A. *Food Chemistry*, **2007**, 103, 816-822.
25. Maalesef, D.; Kuntic, V. *Journal of the Serbian Chemical Society*, **2007**, 72, 921-939.
26. Ardestani, A.; Yazdanparast, R. *Food Chemistry*, **2007**, 104, 21-29.
27. İlhan, N.; Seçkin, D. *Fırat Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2005**, 3, 175-179.
28. Padma, P.R.; Umadevi, M. *Food and Chemical Toxicology*, **2009**, 47, 702-179.
29. Balu, M.; Sangeetha, P.; Murali, G.; Panneerselvam, C. *International Journal of Developmental Neuroscience*, **2005**, 23, 501–507.
30. Levine, R.L.; Gorland, D.; Oliver C.M. *Method of Enzymology*, **1990**; 18, 464-78.
31. König, J.; Tolnay, E.; Wiethege, T.; Müller, K. *Clinical Investigations*, **2000**, 67, 36-40.

## TABLÖLAR

**Tablo 3.1.** Çalışma gruplarına verilen yem içeriği.

| Yem Maddesi                | %         | Kullanılan Maddeler                         |
|----------------------------|-----------|---|
| Su                         | 12        |   |
| Ham protein                | 15        |   |
| Ham selüloz                | 10        | Mısır, Buğday, Arpa, Tapiyako, Sorgum, Soya |
| Ham kül                    | 10        | Küspesi, Fındık Küspesi, Ayçiçeği Tohumu    |
| HCL' de çözünmeyen kül     | 1.0       | Küspesi, Çiğit Küspesi, Melas Mayası, Mısır |
| NaCl                       | 1.0       | Proteini, Razmol, Et-Kemik Unu, Balık Unu,  |
| Kalsiyum                   | 1.2-1.8   | Kemik Unu, Mermer Tozu, Tuz, Melas,         |
| Fosfor                     | 0.80      | Promiksler, Kepek, Bankolite, Yağ, Yonca    |
| Sodyum                     | 0.30-0.40 | Unu.  |
| Metabolik enerji (Kcal/Kg) | 2.500     |   |



## **4. BULGULAR**

### **4.1. Toplam fenolik bileşen miktarı tayini**

Nar suyu, üzüm suyu ve üzüm çekirdeği ekstraktının içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı tayini Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapıldı. İçerdikleri toplam fenolik bileşen miktarı gallik aside eşdeğer olarak hesaplandı. Fenolik bileşen miktarı tayininde galik asitin 50, 100, 250, 350 ve 500 µg/mL konsantrasyonları kullanılarak bunlara karşılık gelen absorbans değerleri grafiğe geçirildi (grafik 4.1.). Bu grafikten elde edilen aşağıdaki denklemden toplam fenolik bileşen miktarı tayini yapıldı.

$$\text{Absorbans (A)} = 0,0023 \times \text{gallik asit } (\mu\text{g})$$

Bu eşitlik kullanılarak, nar suyunun 1 ml'sinde, üzüm suyunun 1 ml'sinde ve üzüm çekirdeğinin 1 mg'mının fenolik bileşen miktarı gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı. Nar suyunda  $3501 \pm 282.4$  µg GAE/mL, üzüm suyunda  $1208 \pm 43.0$  µg GAE/mL ve üzüm çekirdeği ekstraktında  $65 \pm 8.9$  µg GAE/mg olarak bulundu (tablo 4.1).

### **4.2. Toplam flavonoid bileşen miktarı tayini**

Nar suyu, üzüm suyu ve üzüm çekirdeği ekstresinin toplam flavonoid bileşen miktarı tayini Moreno, Isla, Sampietro ve Vattvone (2000) yöntemi ile belirlendi. Standart olarak kuersetin kullanıldı. Kuersetinin 1-25 µg/mL konsantrasyon aralığında çözeltileri hazırlandı ve 415 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri grafiğe geçirildi (grafik 4.2.). Bu grafikten aşağıdaki denklem elde edildi.

$$\text{Absorbans (A)} = 0,013 \times \text{quercetin } (\mu\text{g})$$

Bu denklem kullanılarak, nar suyu, üzüm suyu ve çekirdeğindeki toplam flavonoid bileşen miktarı tayini Kuersetine eşdeğer olarak hesaplandı. Nar suyu 161.5

$\pm 1.83 \mu\text{g QUE/mL}$ , üzüm suyu  $5.2 \pm 0.19 \mu\text{g QUE/mL}$  ve üzüm çekirdeği ekstresi ise  $1.7 \pm 0.65 \mu\text{g QUE/mg}$  olarak bulundu (tablo 4.2)

### **4.3. Sıçan Deneyi**

Bu çalışmada  $\text{CCl}_4$  ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda nar suyu, üzüm suyu ve üzüm çekirdeği ekstrasının karaciğer, beyin ve böbrek dokularında koruyucu etkisi araştırılmış ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Ağırlık değişimleri, biyokimyasal parametrelerin tayini (bilirubin, ALT, AST ve albümin), protein miktarı ve doku homejanatlarındaki MDA değerleri tablolarda ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak verilmiştir.

Bu çalışmada, 150-180 g ağırlığında 36 adet Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol grubu (grup 1), karbon tetraklorür ( $\text{CCl}_4$ ) grubu (grup 2), üzüm çekirdeği +  $\text{CCl}_4$  grubu (grup 3), Üzüm suyu +  $\text{CCl}_4$  grubu (grup 4), nar suyu +  $\text{CCl}_4$  grubu (grup 5) ve referans ilaç (ursodeoksikolik asit) +  $\text{CCl}_4$  grubu (grup 6) olmak üzere 6 gruba ayrıldı.

2, 3, 4, 5 ve 6. grup sıçanlara deney süresince haftada 1 olmak üzere 4 sefer  $\text{CCl}_4$  (1 ml/ kg); 3, 4, 5 ve 6. grup sıçanlara ise üzüm çekirdeği (800 mg/kg), üzüm suyu (2 ml/kg), nar suyu (2 ml/kg) ve referans ilaç (ursodeoksikolik asit, 10 mg/kg) mide içi sonda ile sırasıyla uygulandı.

#### **4.3.1. Sıçan Vücut Ağırlığı**

Tüm gruplardaki sıçanların vücut ağırlıkları çalışmanın başında ve sonunda haftada bir toplam dört defa ölçüldü (tablo 4.3.). Bu süre içinde çalışılan gruplardaki sıçanların vücut ağırlıklarında ikinci haftada artış gözlemlendi. Üçüncü haftada, kilo değişimi hemen hemen tüm gruplarda aynı kaldı. Son hafta, sıçan vücut ağırlığı ölçümlerinde, ikinci gruptaki sıçanların kilolarında, kontrol grubuna kıyasla anlamlı

bir düşüş gözlemlendi. Sıçanların ağırlıklarındaki bu düşüşü 3, 4, 5 ve 6. grupların bir miktar önlediği görüldü (tablo 4.3.).

#### **4.3.2. Sıçanların, Karaciğer, Beyin ve Böbrek doku ağırlıkları**

Tablo 4.4. sıçanların deney sonunda alınan karaciğer, beyin ve böbrek doku ağırlıklarındaki değişimini göstermektedir. Grupların karaciğer ve böbrek dokuları incelendiğinde CCl<sub>4</sub> alan grupta karaciğer ve böbrek doku ağırlıklarının, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü,  $p < 0.05$ . Bu düşüşü grup 3, 4, 5 ve 6'nın istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde önlediği görüldü. Beyin ve böbrek doku örneklerine incelendiğinde, sadece CCl<sub>4</sub> alan grupta doku ağırlıklarında hafif bir düşüşün olduğu fakat bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu,  $p > 0.05$ .

#### **4.4. Biyokimyal parametreler**

Dört haftalık deney süresi sonunda bütün sıçanlar dekapite edildi, intrakardiyak yolla kan alındı. Kan plazmasında, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), albümin ve bilirubin seviyelerine otoanalizör ile bakıldı. Tüm gruplardaki sıçanların serum AST, ALT, bilirubin ve albümin serum seviyeleri tablo 4.5. de görülmektedir.

AST ( $143.60 \pm 23.71$  U/L ) ve ALT ( $62.66 \pm 6.50$  U/L) kan serum seviyeleri kontrol grubunda (grup 1) normal değerler içinde bulunmuştur. Sadece CCl<sub>4</sub> alan 2. gruptaki sıçanların ortalama AST ( $2610.70 \pm 23.71$  U/L) ve ALT ( $3242.66 \pm 289.31$  U/L) serum değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Bu artışı diğer gruplar önemli oranda azaltmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen serumlarda AST ortalama değerler grup 3, 4, 5, ve 6 için sırasıyla,  $1758.59 \pm 243.10$  U/L,  $1553.00 \pm 357.03$  U/L,  $1905.33 \pm 164.55$  U/L ve  $1835.00 \pm 126.19$  U/L,

serumda ALT ortalama değerler ise sırasıyla,  $2154.33 \pm 273.87$  U/L,  $2253.66 \pm 224.67$  U/L,  $2410.33 \pm 144.50$  U/L ve  $2238.67 \pm 108.74$  U/L olarak bulundu. 3, 4, 5 ve 6. gruplardaki serum AST ve ALT seviyelerindeki bu düşüş sadece CCl<sub>4</sub> alan 2. grup serum AST ve ALT seviyeleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır,  $p < 0.05$  (grafik 4.3. ve grafik 4.4. sırasıyla).

Tablo 4.5 grupların ortalama albümin değerlerini göstermektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen 1, 2, 3, 4, 5 ve 6. gruplar için değerler sırasıyla  $1.80 \pm 0.17$  mg/dl,  $1.03 \pm 0.20$  mg/dl,  $1.56 \pm 0.13$  mg/dl,  $1.61 \pm 0.17$  mg/dl,  $1.51 \pm 0.23$  mg/dl ve  $1.70 \pm 0.08$  mg/dl, olarak bulundu. Tüm grupların albümin serum seviyeleri incelendiğinde, CCl<sub>4</sub> alan grupta albümin seviyesi, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşmüştür. Bu düşüşe karşılık üzüm çekirdeği, üzüm suyu, nar suyu ve ilaç alan grupların albümin serum seviyelerinde anlamlı bir yükseliş görülmüştür,  $p < 0.05$  (grafik 4.5).

Grup 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 için serum ortalama bilirubin değerleri sırasıyla  $0.25 \pm 0.09$  mg/dl,  $1.40 \pm 0.20$  mg/dl,  $0.55 \pm 0.10$  mg/dl,  $0.53 \pm 0.09$  mg/dl,  $0.52 \pm 0.05$  mg/dl ve  $0.44 \pm 0.15$  mg/dl olarak bulundu (tablo.4.5.). Tüm grupların bilirubin serum seviyeleri incelendiğinde ise, CCl<sub>4</sub> alan 2. gruptaki sıçanların serum bilirubin seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş izlenmiştir. Bu yükseliş 3, 4, 5 ve 6. gruplarda anlamlı bir şekilde azalmıştır,  $p < 0.05$  (grafik 4.6.).

#### **4.5. Protein miktar tayini**

Dört haftalık deney süresi sonunda dekapite edilen tüm sıçanların karaciğer, beyin ve böbrek dokuları çıkartıldı. Tüm gruplardaki sıçanlara ait karaciğer, beyin ve böbrek doku homojenatlarındaki protein miktarları mg/g doku olarak hesaplandı.

#### **4.5.1. Karaciğer doku örneklerinde protein miktar tayini**

Tablo 4.6. da görüldüğü gibi normal diyetle beslenen kontrol grubundaki sıçanların 1 gr karaciğer dokusundaki ortalama protein miktarı  $87.30 \pm 10.10$  mg/g dır. Bu değer normal diyet + CCl<sub>4</sub> grubundaki sıçanlarda ortalama  $44.04 \pm 3.50$  mg/g olarak bulunmuştur. 3, 4, 5 ve 6. gruptaki sıçanların 1 g karaciğer dokularında protein miktarları ise sırasıyla,  $61.50 \pm 14.39$  mg/g,  $69.25 \pm 6.26$  mg/g,  $64.48 \pm 10.20$  mg/g ve  $66.95 \pm 11.10$  mg/g bulunmuştur. Normal diyet + CCl<sub>4</sub> grubundaki sıçanlarda protein miktarları karşılaştırılan tüm gruplara göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur,  $p < 0.05$  (grafik 4.7.).

#### **4.5.2. Beyin doku örneklerinde protein miktar tayini**

Sıçanların 1g beyin dokularında protein miktarına bakıldığında (tablo 4.6.), normal diyet grubundaki sıçanlarda ortalama  $45.10 \pm 3.40$  mg/g, normal diyet + CCl<sub>4</sub> grubundaki sıçanlarda ortalama  $42.20 \pm 5.00$  mg/g, grup 3, grup 4, grup 5 ve grup 6 da sırasıyla,  $43.60 \pm 3.40$  mg/g,  $44.50 \pm 2.80$  mg/g,  $45.50 \pm 4.34$  mg/g ve  $44.90 \pm 4.09$  mg/g doku olarak bulunmuştur. Tüm grupların beyin dokularından elde edilen verilerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi,  $p > 0.05$  (grafik 4.8).

#### **4.5.3. Böbrek doku örneklerinde protein miktar tayini**

Tüm gruptaki sıçanların 1 g böbrek dokusundaki protein miktarları tablo 4.6 da görülmektedir. Normal diyetle beslenen sıçanların böbrek dokusunda ortalama protein değerleri  $32.16 \pm 3.09$  mg/g olarak bulundu. Grup 3, grup 4, grup 5 ve grup 6 da sırasıyla,  $28.71 \pm 3.94$  mg/g,  $30.24 \pm 2.70$  mg/g,  $31.54 \pm 2.07$  mg/g ve  $31.81 \pm 1.37$  mg/g olarak bulunmuştur. Bu değerler kontrol grubuna göre daha düşüktür, fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (grafik 4.9.). Buna karşın

CCl<sub>4</sub> ile hasara uğratılmış grupta protein miktarı  $21.16 \pm 1.37$  mg/g doku olarak bulunmuştur. Bu düşüş tüm gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır,  $p < 0.05$ .

#### **4.6. Lipit peroksidasyonu**

Dört haftalık deney süresi sonunda dekapite edilen tüm sıçanların karaciğer, beyin ve böbrek dokuları çıkartıldı. Alınan doku örnekleri tartıldıktan sonra homojenize edildi. Karaciğer, beyin ve böbrek doku homojenatlarında lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan Malondialdehit (MDA) düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tüm gruptaki sıçanlara ait karaciğer, beyin ve böbrek doku homojenatlarındaki MDA düzeyi nmol/g doku olarak hesaplandı.

##### **4.6.1. Karaciğer doku örneklerinde MDA düzeyi**

Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen karaciğer doku MDA verileri kontrol grubunda  $3.10 \pm 0.36$  mg/g, sadece CCl<sub>4</sub> alan grupta  $4.70 \pm 0.60$  mg/g, üzüm çekirdeği, üzüm suyu, nar suyu ve ilaç alan gruplarda ise sırasıyla,  $3.00 \pm 1.15$  mg/g,  $2.92 \pm 0.49$  mg/g,  $3.01 \pm 0.33$  mg/g ve  $2.80 \pm 0.34$  mg/g bulundu (tablo 4.7.). Elde edilen bu verilerden yararlanılarak karaciğer dokusundaki MDA miktarları grafiğe geçirildi (grafik 4.10). Sadece CCl<sub>4</sub> alan gruptaki sıçanlarda karaciğer doku MDA düzeyi tüm gruptaki sıçanların karaciğer doku MDA ölçümleri ile kıyaslandığında yüksek bulundu. Üzüm çekirdeği, üzüm suyu ve nar suyu ise bu artışı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde engellediği görüldü,  $p < 0.05$ . İlaç grubuna ait sıçanların ortalama karaciğer doku MDA seviyeleri ise üzüm çekirdeği, üzüm suyu ve nar suyuna ait sıçanların karaciğer doku MDA seviyeleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi.

#### 4.6.2. Beyin doku örneklerinde MDA düzeyi

Yapılan istatistiksel analiz sonucu beyin doku homejanatlarından elde edilen MDA değerleri grup1, grup 2, grup 3, grup 4, grup 5 ve grup 6'da sırasıyla,  $4.80 \pm 1.11$  mg/g,  $7.60 \pm 0.49$  mg/g,  $5.74 \pm 0.96$  mg/g  $5.48 \pm 2.17$  mg/g,  $5.02 \pm 1.09$  mg/g, ve  $5.23 \pm 0.77$  mg/g bulundu (tablo 4.7). Sadece CCl<sub>4</sub> alan grup 2'ye ait sıçanların beyin dokusundaki ortalama MDA seviyesi, kontrol grubununa ait sıçanların beyin doku ortalama MDA seviyesi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek bulundu,  $p < 0.05$ . İlaç grubununa ait sıçanların beyin doku ortalama MDA seviyesi düşük bulundu. Üzüm çekirdeği, üzüm suyu ve nar suyu alan grupları ilaç grubuyla karşılaştırdığımızda ise MDA seviyelerinin benzer olduğu izlendi (grafik 4.11).

#### 4.6.3. Böbrek doku örneklerinde MDA düzeyi

Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen böbrek doku MDA verileri kontrol grubunda  $4.56 \pm 0.32$  mg/g, sadece CCl<sub>4</sub> alan grupta  $25.07 \pm 4.58$  mg/g, üzüm çekirdeği, üzüm suyu, nar suyu ve ilaç alan gruplarda ise sırasıyla,  $13.26 \pm 3.24$  mg/g,  $12.50 \pm 4.47$  mg/g ,  $8.67 \pm 2.63$  mg/g ve  $8.56 \pm 1.57$  mg/g bulundu (tablo 4.7). Sadece CCl<sub>4</sub> alan gruplardaki sıçanlarda böbrek doku MDA düzeyi tüm gruplardaki sıçanların böbrek doku MDA ölçümleri ile kıyaslandığında oldukça yüksek bulundu. Hasara uğratılan grubu, üzüm çekirdeği, üzüm suyu, nar suyu ve ilaç grubu ile karşılaştırdığımızda bu artışın istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde engellendiği görüldü,  $p < 0.05$  (grafik 4.12).

## **4.7. Histolojik Bulgular**

### **4.7.1. Karaciğer Dokularının Histopatolojik Değerlendirilmesi**

#### **1. Grup (Kontrol grubu);**

Karaciğer dokusunun histolojik yönden incelenmesinde Vena sentralis ve Remark hücre kordonlarının düzenli olduğu, hepatositler ve yıldız hücreleri normal izlendi (**Resim-1**).

#### **2. Grup (CCl<sub>4</sub>);**

Karaciğer dokusunun histolojik incelenmesinde Vena sentralis etrafında yoğun perivasküller, lenfohistiyositer infiltrasyon, yine vena sentralisin intemasında kalınlaşma gözlemlendi. Remark hücre kordonlarının bozulması, sinozoitlerin kapanmış olması, yıldız hücrelerinde aktivasyon, hepatositlerde apoptotik olgular izlendi. Karaciğer dokusunda yaygın hidropik ve vakuoller dejenerasyon izlendi. Ayrıca hepatositlerde nekroz alanları yaygındı (**Resim-4**).

#### **3. Grup (üzüm çekirdeği + CCl<sub>4</sub>):**

Karbontetraklorür uygulamasına bağlı şekillenen histopatolojik değişimlerde azalma izlendi. Vena sentralis etrafındaki yoğun lenfohistoyositer infiltrasyonun azaldığı ve damarın intima katında düzelme gözlemlendi. Remark hücre kordonlarında düzen bozuklukları gözlemlenmesine karşın, sinozoitlerin yer yer belirginleşmesi, Yıldız hücrelerinde aktivasyonun azalması ve hepatositlerde apoptotik olguların ortadan kalktığını, ancak vakuoller ve hidropik dejenerasyonun devam ettiğini tespit edildi (**Resim-7**).

#### **4. Grup (üzüm suyu + CCl<sub>4</sub>):**

Karbontetraklorür uygulamasına bağlı şekillenen histopatolojik değişimlerde azalma izlendi. Vena sentralis etrafındaki yoğun lenfohistoyositer infiltrasyonun



ortadan kalktığı ve damarın intima katında düzelme gözlemlendi. Remark hücre kordonlarının düzenli görünümü, sinozoitlerin yer yer belirginleşmesi, Yıldız hücrelerinde aktivasyonun azalması ve hepatositlerde apoptotik olguların ortadan kalktığını, bununla beraber vakuoler ve hidropik dejenerasyonun ortadan kalktığını gözlemledik (**Resim-10**).

#### **5. Grup (nar suyu + CCl<sub>4</sub>):**

Karbontetraklorürü uygulamasına bağlı şekillenen histopatolojik değişimlerde azalma izlendi. Vena sentralis etrafındaki yoğun lenfohistoyositer infiltrasyonun azaldığı ve damarın intima katında düzelme gözlemlendi. Remark hücre kordonlarının düzen bozuklukları gözlemlenmesine karşın, sinozoitlerin yer yer belirginleşmesi, Yıldız hücrelerinde aktivasyonun azalması ve hepatositlerde apoptotik olguların ortadan kalktığını, ancak vakuoler ve hidropik dejenerasyonun devam ettiğini tespit edildi (**Resim-13**). Bu gruptaki görünüm Üzüm suyu verilen gruba yakın idi.

#### **6. Grup ( ilaç; ursodeoksikolik asit):**

Karaciğer dokusunun histolojik incelenmesinde santral ven etrafında yoğun perivasküller, lenfohistoyositer infiltrasyonun, yine damarın santral veninde (intemasında) kalınlaşmanın azaldığı gözlemlendi. Remark hücre kodonlarının düzenli bir yapı kazanması, sinozoitlerin yer yer belirgin olması, ancak Yıldız hücrelerinde aktivasyon varlığı, azda olsa hepatositlerde apoptotik olgular izlendi. Karaciğer dokusunda hidropik ve vakuoller dejenerasyonun azaldığını izlendi. Hepatositlerde nekroz alanlarının ortadan kalktığını gözlemlendi (**Resim-16**).

## **4.7.2. Böbrek Dokularının Histopatolojik Değerlendirilmesi**

### **1. Grup (Kontrol grubu);**

Böbrek dokusunun histolojik incelenmesinde glomerül ve tubul yapıları normal izlendi (**Resim-2**)

### **2. Grup (CCl<sub>4</sub>);**

Böbrek dokusunun histolojik incelenmesinde, böbrekte yaygın kanama odakları ayrıca tübüler de hafif şiddetli düzensizlikler ve yer yer tübül epitalinde desquamasyon (dökülme), Bowman mesafesinde daralma ve glomeruler alanda hiperemik görünüm izlendi (**Resim-5**).

### **3. Grup (üzüm çekirdeği + CCl<sub>4</sub>):**

Böbrek dokusunun histolojik incelenmesinde, böbrek kanama odakları ayrıca tübüler de hafif şiddetli düzensizlikler ve yer yer tübül epitalinde desquamasyon (dökülme), Bowman mesafesinde daralma ve glomerular alanda hiperemik görünüm izlendi (**Resim-8**). Bu bulgular; Karbontetraklorür uygulamasına bağlı şekillenen lezyonların azaldığı izlendi.

### **4. Grup (üzüm suyu + CCl<sub>4</sub>):**

Böbrek dokusunun histolojik incelenmesinde, böbrek kanama odaklarının ortadan kalktığı, tübüler de hafif şiddetli düzensizliklerin ortan kalktığı, sadece çok az sayıdaki tübül epitelinde desquamasyon (dökülme), Bowman mesafesinin normal yapıya dönüşü ve gromelerin alanda hiperemik görünümün ortadan kalktığı izlendi (**Resim-11**).

### **5. Grup (nar suyu + CCl<sub>4</sub>):**

Böbrek dokusunun histolojik incelenmesinde, böbrek kanama odakları ayrıca tübüler de hafif şiddetli düzensizlikler ve yer yer tübül epitalinde desquamasyon

(dökülme), Bowman mesafesinde daralma ve gromelerin alanda hiperemik görünüm gibi lezyonların düzeldiği gözlemlendi (**Resim-14**).

#### **6. Grup ( ilaç; ursodeoksikolik asit):**

Böbrek dokusunun histolojik incelenmesinde, Karbon tetraklorür uygulamasına bağlı şekillenen; böbrek kanama odakları ayrıca tübüler de hafif şiddetli düzensizlikler ve yer yer tübül epitalinde desquamasyon (dökülme), Bowman mesafesinde daralma ve gromelerin alanda hiperemik görünümün azaldığını tespit edildi (**Resim-17**).

#### **4.7.3. Beyin Dokularının Histopatolojik Değerlendirilmesi**

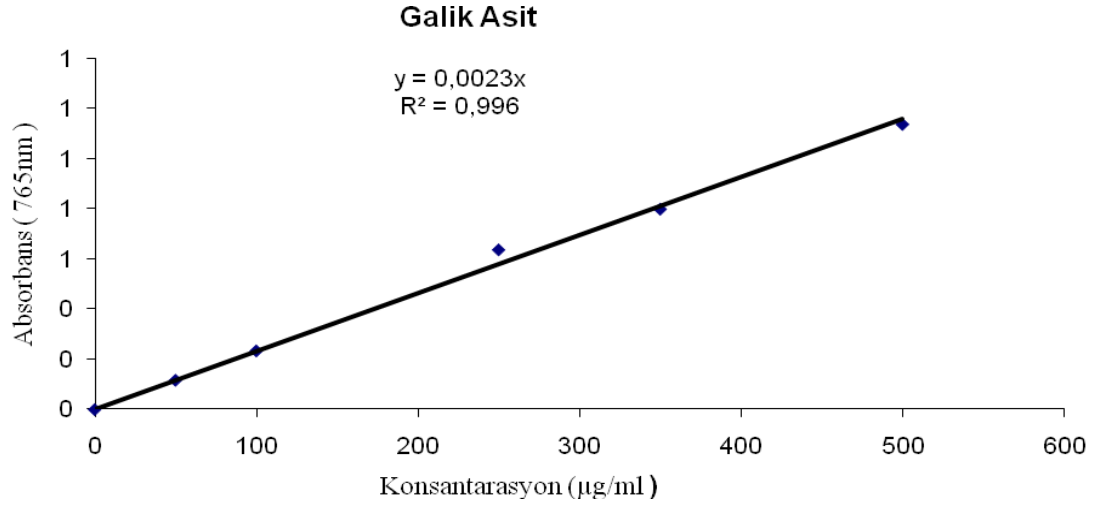
##### **1. Grup (Kontrol grubu);**

Beyin dokusunun histolojik incelenmesinde beyinin korteks tabakasının substansia grisea tabakasında yer alan (beynin korteksinde) nöronların ve kapiler damarların normal olduğu izlendi (**Resim-3**).

**2. Grup (CCl<sub>4</sub>), 3. Grup (üzüm çekirdeği + CCl<sub>4</sub>), 4. Grup (üzüm suyu + CCl<sub>4</sub>), 5. Grup (nar suyu + CCl<sub>4</sub>), 6. Grup ( ilaç grubu ):**

Beyinde herhangi bir histopatolojik değişim gözlenmedi bu durum beyin kan- beyin bariyerinin bozulmamasıyla açıklanabilir (**Resim-3**), (**Resim-6**), (**Resim-9**), (**Resim-12**), (**Resim-15**), (**Resim-18**).

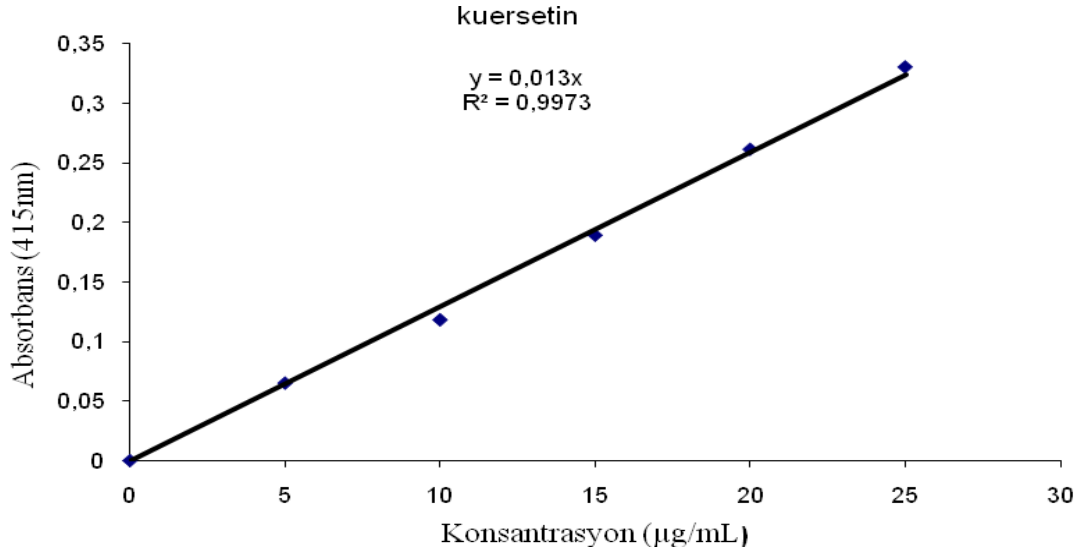
#### **4.8. GRAFİKLER, ŞEKİLLER VE RESİMLER**



**Grafik 4.1.** Gallik asidin artan konsantrasyonlarına karşı ölçülen absorbans değerleri

**Tablo 4.1.** Nar suyu, Üzüm suyu ve Üzüm çekirdeğinin fenolik bileşem miktarı (µg GAE/mg)

|                                    | Nar suyu     | Üzüm suyu   | Üzüm çekirdeği |
|------------------------------------|--------------|-------------|----------------|
| Toplam fenolik miktarı (µg GAE/mg) | 3501 ± 282.4 | 1208 ± 43.0 | 65 ± 8.9       |



**Grafik 4.2.** kuersetin artan konsantrasyonlarına karşı ölçülen absorbans değerleri.

**Tablo 4.2.** Nar suyu, Üzüm suyu ve Üzüm çekirdeğinin flavonoid bileşem miktarı (µg QUE/mg)

|                                      | Nar suyu     | Üzüm suyu  | Üzüm çekirdeği |
|--------------------------------------|--------------|------------|----------------|
| Toplam flavonoid miktarı (µg QUE/mg) | 161.5 ± 1.83 | 5.2 ± 0.19 | 1.7 ± 0.65     |

**Tablo 4.3.** Çalışma gruplarındaki sıçan vücut ağırlıklarının zamana bağlı olarak ortalama değişimi. \* P < 0.05

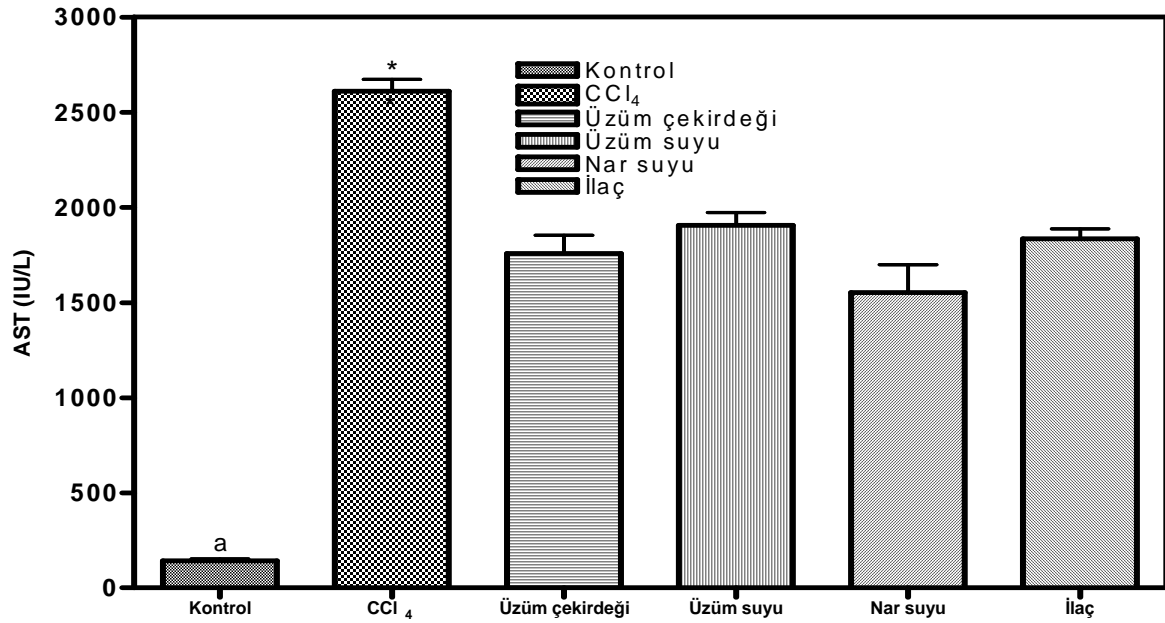
| Zaman   | 1.Grup         | 2.Grup         | 3.Grup        | 4.Grup        | 5.Grup        | 6.Grup         |
|---------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| 1.Hafta | 156.50 ± 8.82  | 153.83 ± 9.41  | 153.50 ± 4.54 | 151.16 ± 8.81 | 153.66 ± 9.45 | 158.33 ± 14.81 |
| 2.Hafta | 266.00 ± 6.08  | 256.00 ± 8.87  | 260.00 ± 6.11 | 261.83 ± 8.10 | 266.50 ± 5.85 | 266.83 ± 7.30  |
| 3.Hafta | 277.00 ± 3.57  | 257.16 ± 20.10 | 272.16 ± 3.18 | 271.83 ± 5.77 | 272.3 ± 4.63  | 263 ± 15.45    |
| 4.Hafta | 257.50 ± 17.69 | *158.50 ± 7.71 | 177.00 ± 5.93 | 176.00 ± 4.87 | 176.60 ± 3.77 | 177.0 ± 2.44   |

**Tablo 4.4.** çalışma gruplarındaki sıçanların karaciğer, beyin, böbrek doku ağırlıklarının ortalama değerleri . \* P < 0.05

|        | Karaciğer dokusu (mg) | Beyin dokusu (mg) | Böbrek dokusu (mg) |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------|
| 1.Grup | 9.29 ± 0.56           | 1.70 ± 0.15       | 1.53 ± 0.12        |
| 2.Grup | *5.42 ± 0.77          | 1.53 ± 0.37       | 1.17 ± 0.04        |
| 3.Grup | 8.65 ± 0.60           | 1.66 ± 0.39       | 1.28 ± 0.12        |
| 4.Grup | 8.12 ± 0.36           | 1.71 ± 0.33       | 1.32 ± 0.07        |
| 5.Grup | 8.49 ± 0.30           | 1.77 ± 0.37       | 1.40 ± 0.09        |
| 6.Grup | 8.32 ± 0.46           | 1.65 ± 0.41       | 1.38 ± 0.08        |

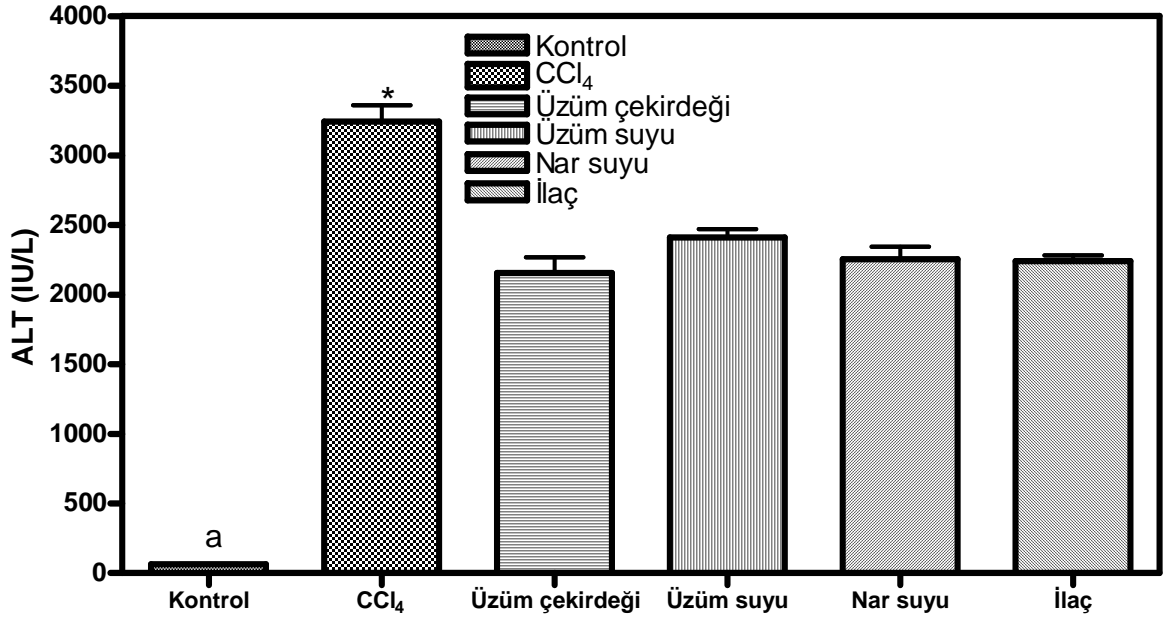
**Tablo 4.5.** Çalışılan grupların ortalama serum AST, ALT, Albümin ve Bilirubin değerleri. \* P < 0.05.

| Enzimleri    | AST (U/L )        | ALT (U/L)         | Albumin (mg/dl) | Bilirubin (mg/dl) |
|--------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| Gruplar      |                   |                   |                 |                   |
| 1.Grup (n=6) | 143.60 ± 23.71    | 62.66 ± 6.50      | 1.80 ± 0.17     | 0.25 ± 0.09       |
| 2.Grup (n=6) | *2610.70 ± 151.05 | *3242.66 ± 289,31 | *1.03 ± 0.20    | *1.40 ± 0.20      |
| 3.Grup (n=6) | 1758,59 ± 234,10  | 2154.33 ± 273,87  | 1.56 ± 0.13     | 0.55 ± 0.10       |
| 4.Grup (n=6) | 1553.00 ± 357.03  | 2253.66 ± 224,67  | 1.61 ± 0.17     | 0.53 ± 0.09       |
| 5.Grup (n=6) | 1905.33 ± 164.55  | 2410.33 ± 144,50  | 1.51 ± 0.23     | 0.52 ± 0.05       |
| 6.Grup (n=6) | 1835.00 ± 126.19  | 2238.67 ± 108,74  | 1.70 ± 0.08     | 0.44 ± 0.15       |

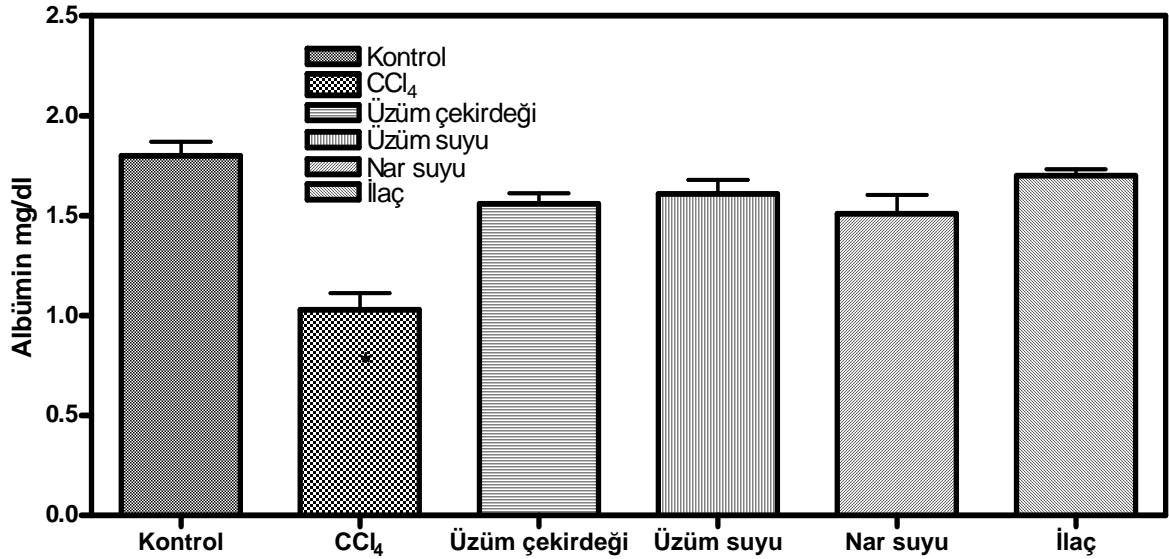


**Grafik 4.3.** Çalışma gruplarında serum AST değeri. \* P < 0.05. (ilaç: ursodeoksikolik asit)

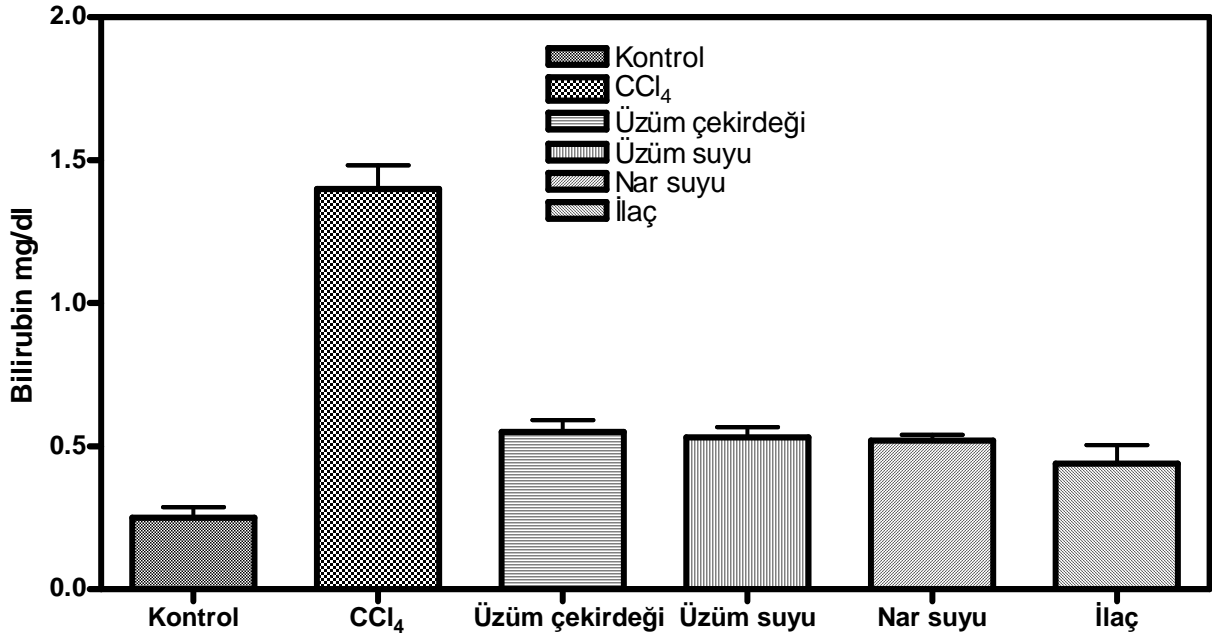




**Grafik 4.4.** Çalışma gruplarında serum ALT değeri. \* P < 0.05 (ilaç: ursodeoksikolik asit)



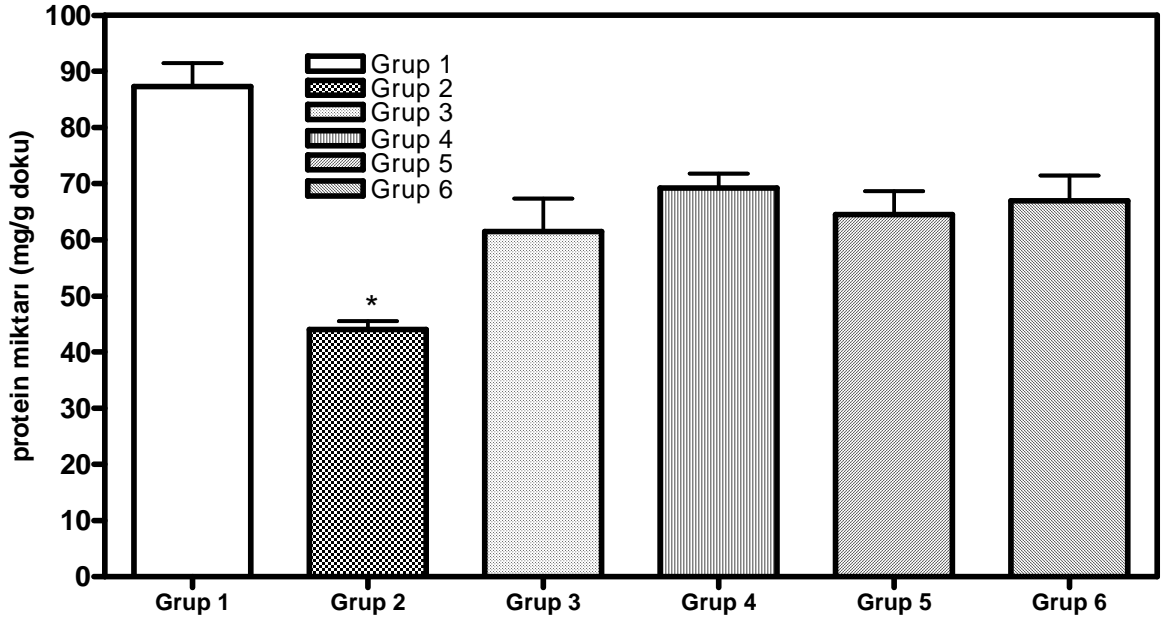
**Grafik 4.5.** Çalışma grplarında serum Albumin değerleri \* P < 0.05 (ilaç: ursodeoksikolik asit)



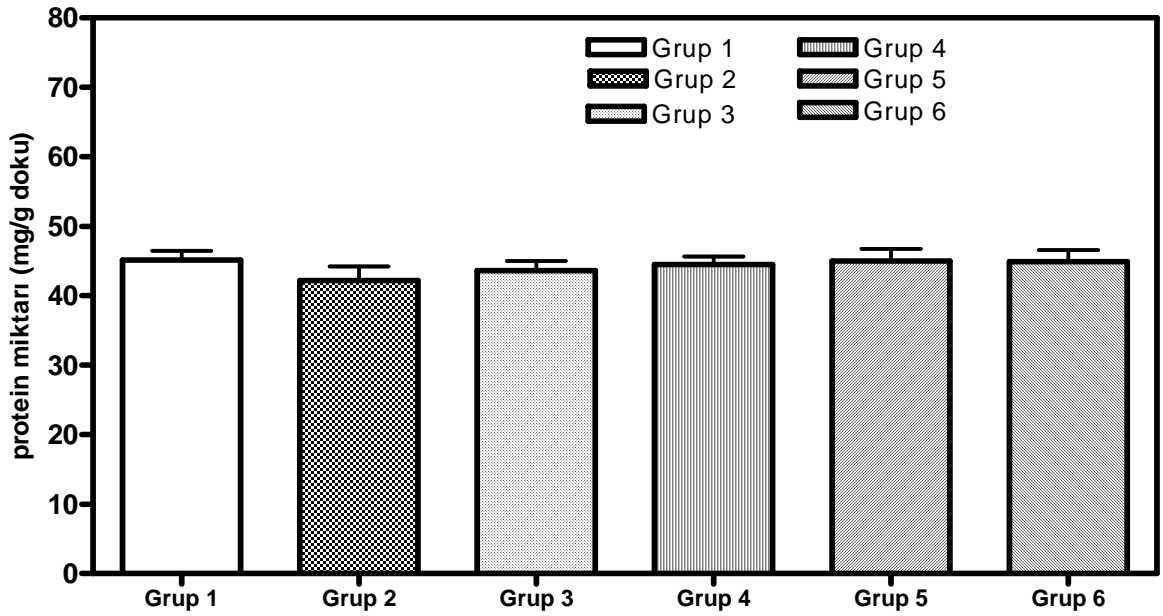
**Grafik 4.6.** Çalışma gruplarında serum bilirubin değerleri (ilaç: ursodeoksikolik asit).

**Tablo 4.6.** Her bir grupta bulunan karaciğer, beyin ve böbrek dokularının ortalama protein miktarının mg/gr doku cinsinden değeri. \* P < 0.05

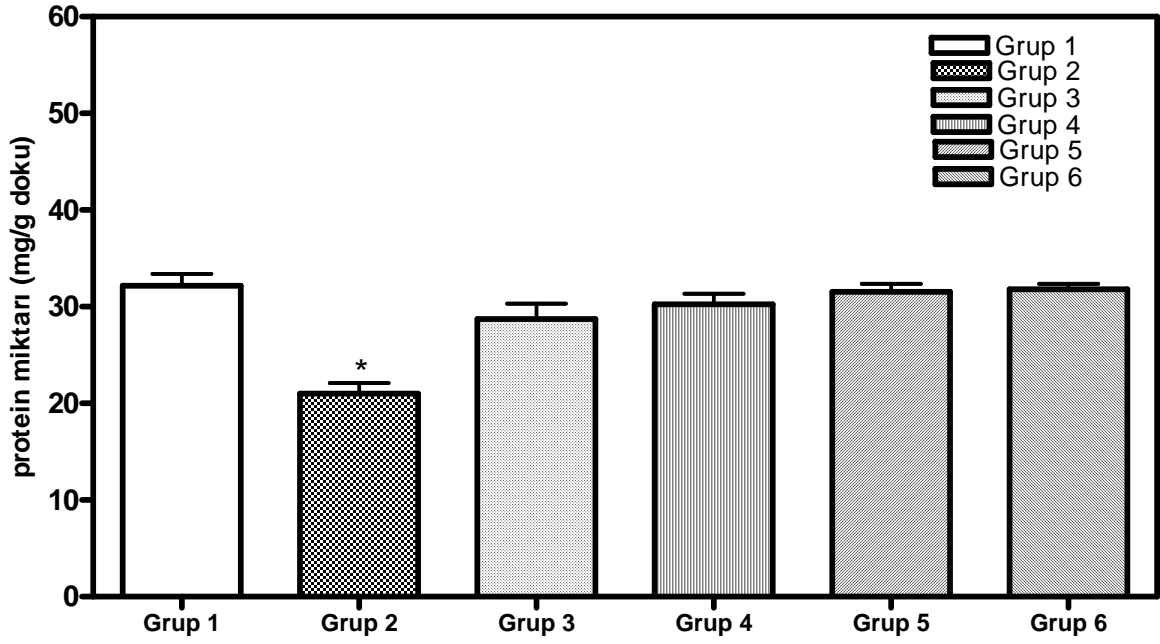
|        | Karaciğerde Protein miktarı (mg/gr) | Beyinde Protein miktarı (mg/gr) | Böbrek protein miktarı (mg/gr) |
|--------|-------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1.Grup | 87.30 ± 10.10                       | 45.10 ± 3.40                    | 32.16 ± 3 .09                  |
| 2.Grup | *44.05 ± 3.50                       | 42.20 ± 5.00                    | 21.02 ± 2.70                   |
| 3.Grup | 61.50 ± 14.39                       | 43.60 ± 3.40                    | 28.71 ± 3.94                   |
| 4.Grup | 69.25 ± 6.26                        | 44.50 ± 2.80                    | 30.24 ± 2.70                   |
| 5.Grup | 64.48 ± 10.20                       | 45.50 ± 4.34                    | 31.54 ± 2.07                   |
| 6.Grup | 66.95 ± 11.10                       | 44.90 ± 4.09                    | 31.81 ± 1.37                   |



**Grafik 4.7.** Karaciğer dokusunda protein miktarı. \* P < 0.05, (Grup 1: kontrol, Grup 2: CCl<sub>4</sub>, Grup 3: üzüm çekirdeği, Grup 4: üzüm suyu, Grup 5: nar suyu, Grup 6: ilaç (ilaç: ursodeoksikolik asit))



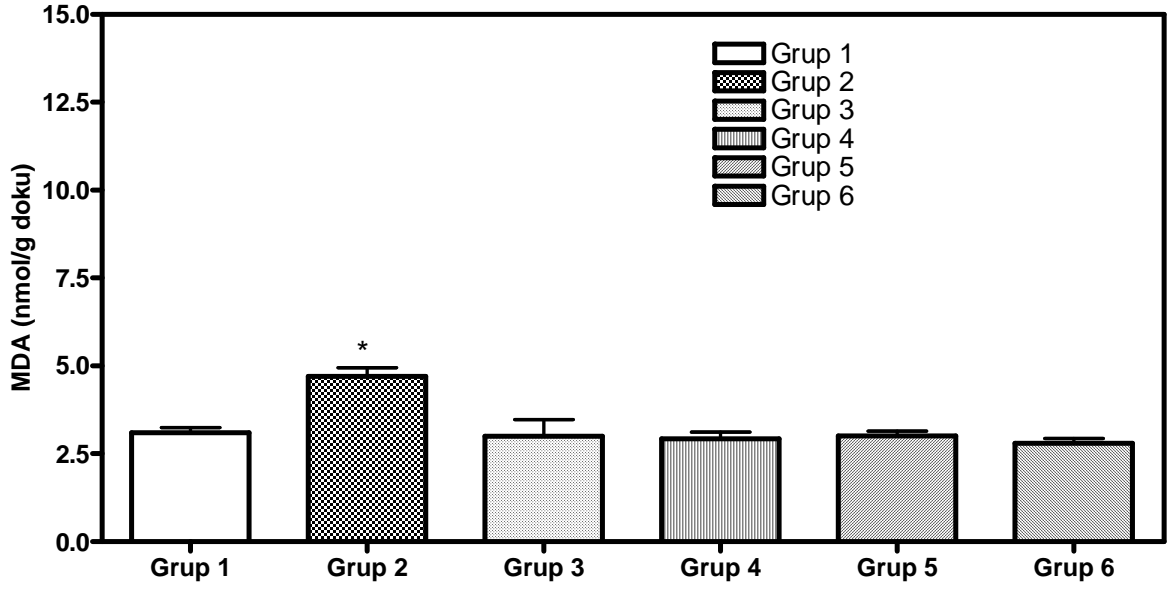
**Grafik 4.8.** Beyin dokusunda protein miktarı. (Grup 1: kontrol, Grup 2: CCl<sub>4</sub>, Grup 3: üzüm çekirdeği, Grup 4: üzüm suyu, Grup 5: nar suyu, Grup 6: ilaç (ilaç: ursodeoksikolik asit))



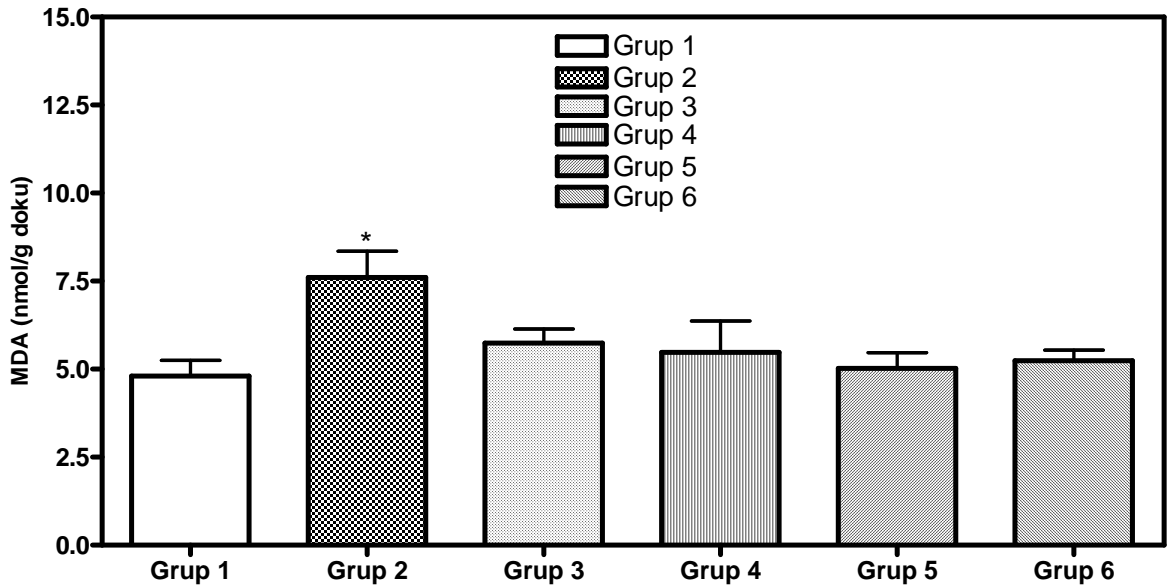
**Grafik 4.9.** Böbrek dokusunda protein miktarı. \* P < 0.05, (Grup 1: kontrol, Grup 2: CCl<sub>4</sub>, Grup 3: üzüm çekirdeği, Grup 4: üzüm suyu, Grup 5: nar suyu, Grup 6: ilaç (ilaç: ursodeoksikolik asit))

**Tablo 4.7.** Her bir grupta bulunan karaciğer, beyin, böbrek dokularının ortalama MDA miktarının nmol/gr doku cinsinden değeri. \* P < 0.05

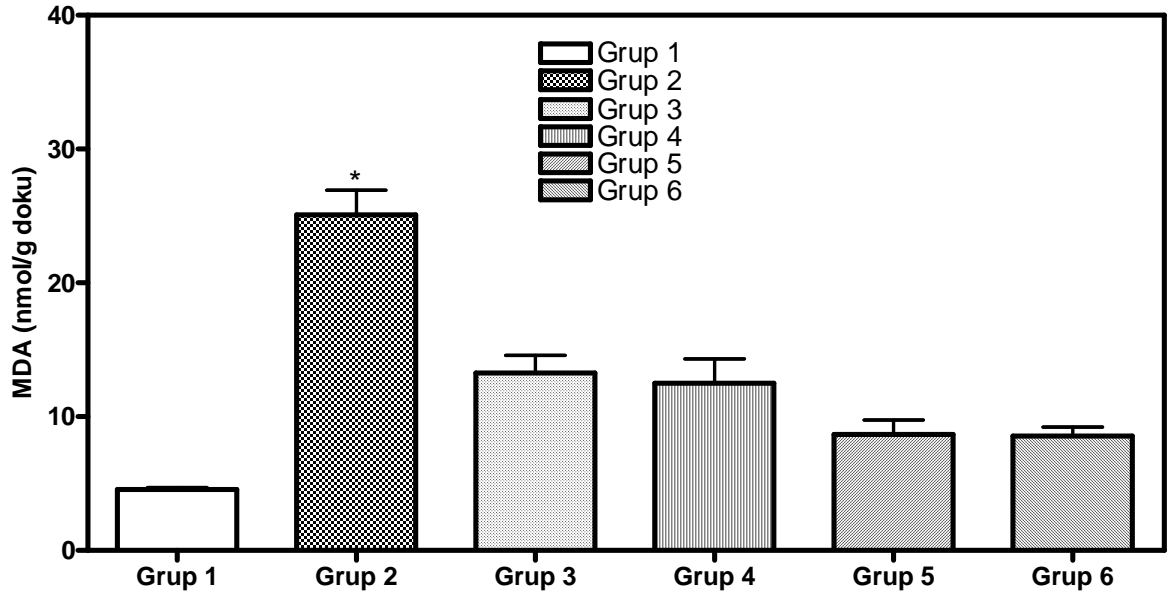
|        | Karaciğerde<br>Lipit peroksidasyonu<br>(nmol/gr) | Beyinde<br>Lipit peroksidasyonu<br>(nmol/gr) | Böbrek<br>lipit peroksidasyonu<br>(nmol/gr) |
|--------|--|--|---|
| 1.Grup | 3.01 ± 0.36                                      | 4.80 ± 1.11                                  | 4.56 ± 0.32                                 |
| 2.Grup | 4.70 ± 0.60                                      | 7.60 ± 1.84                                  | 25.07 ± 4.58                                |
| 3.Grup | 3.00 ± 1.15                                      | 5.74 ± 0.96                                  | 13.26 ± 3.24                                |
| 4.Grup | 2.92 ± 0.49                                      | 5.48 ± 2.17                                  | 12.50 ± 4.47                                |
| 5.Grup | 3.01 ± 0.33                                      | 5.02 ± 1.09                                  | 8.67 ± 2.63                                 |
| 6.Grup | 2.8 ± 0.34                                       | 5.23 ± 0.77                                  | 8.56 ± 1.57                                 |



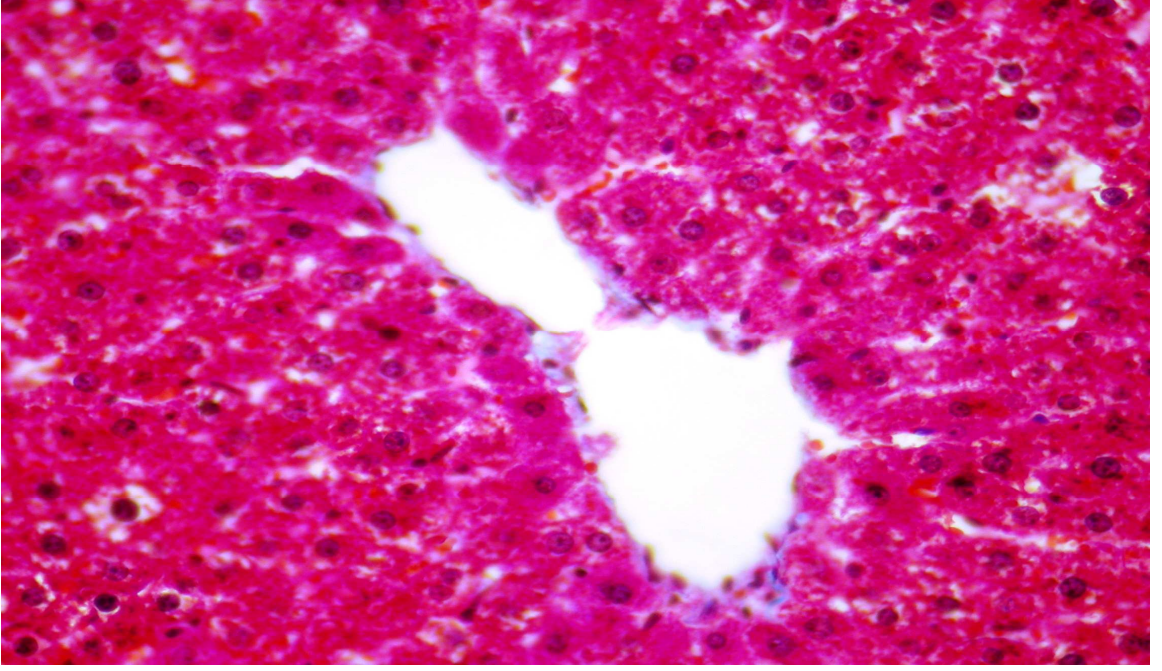
**Grafik 4. 10.** Karaciğer dokusundaki MDA miktarı (nmol/gr doku), \* P < 0.05, (Grup 1: kontrol, Grup 2: CCl<sub>4</sub>, Grup 3: üzüm çekirdeği, Grup 4: üzüm suyu, Grup 5: nar suyu, Grup 6: ilaç) (ilaç: ursodeoksikolik asit)



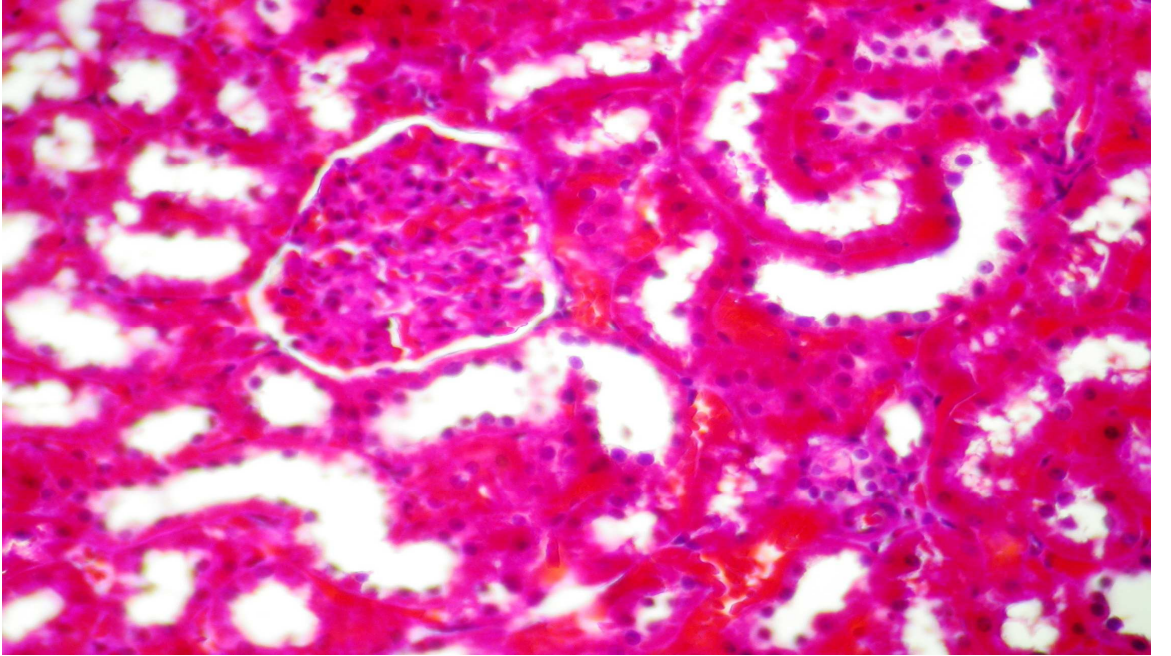
**Grafik 4.11.** Beyin dokusundaki MDA miktarı (nmol/gr doku), \* P < 0.05, (Grup 1: kontrol, Grup 2: CCl<sub>4</sub>, Grup 3: üzüm çekirdeği, Grup 4: üzüm suyu, Grup 5: nar suyu, Grup 6: ilaç) (ilaç: ursodeoksikolik asit)



**Grafik 4.12.** Böbrek dokusundaki MDA miktarı (nmol/gr doku), \*  $P < 0.05$ , (Grup 1: kontrol, Grup 2:  $CCl_4$ , Grup 3: üzüm çekirdeği, Grup 4: üzüm suyu, Grup 5: nar suyu, Grup 6: ilaç) (ilaç: ursodeoksikolik asit)

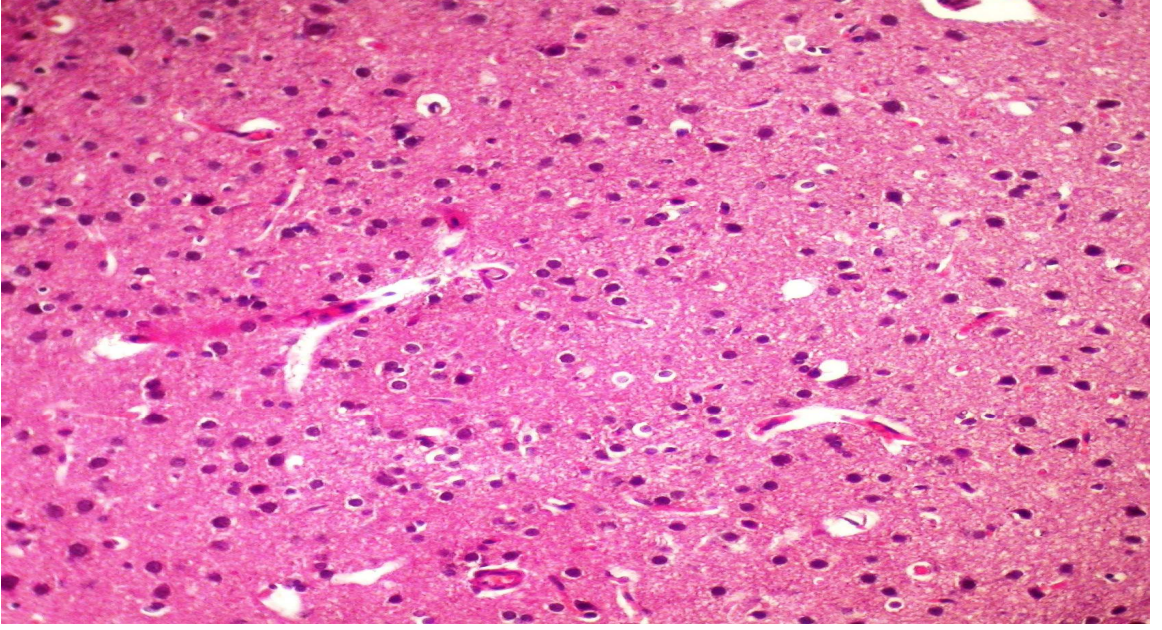


**Resim-1:** Kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. Boyama tiripple, Büyüme X40

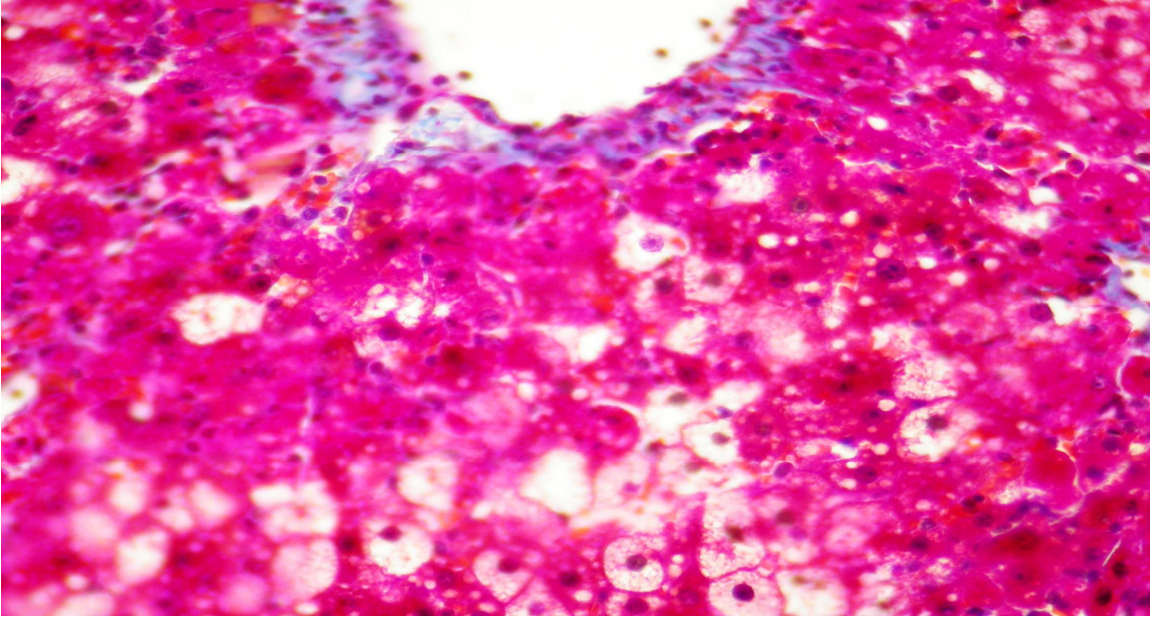


**Resim-2:** Kontrol grubuna ait böbreğin histolojik görünümü boyama tripple, Büyüme X40



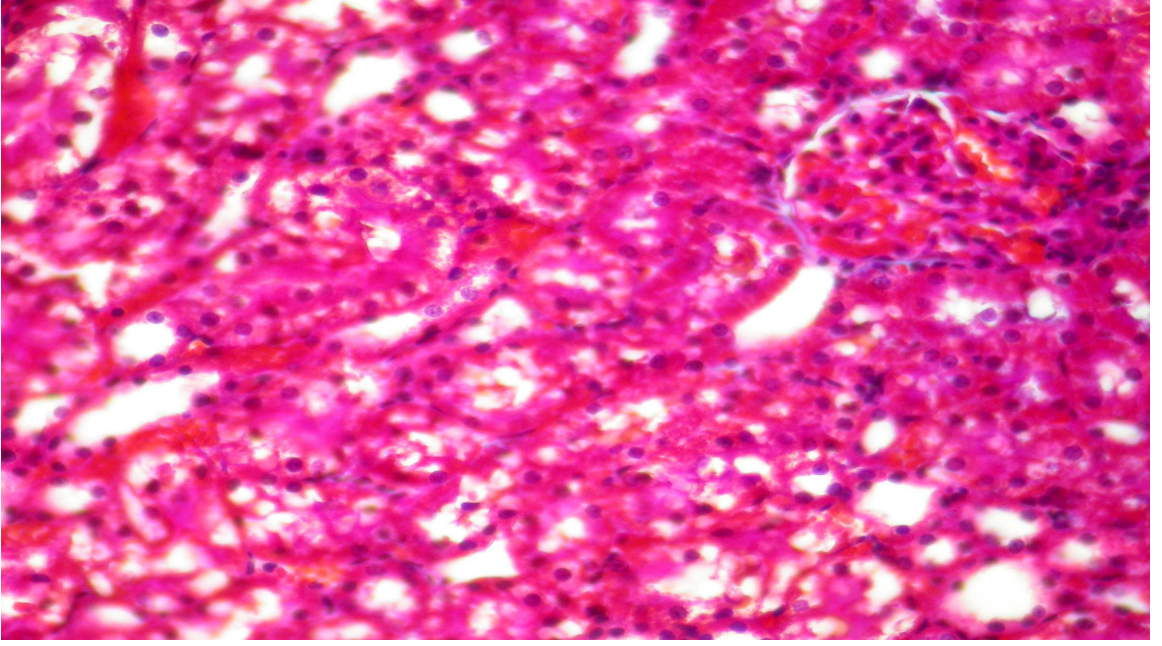


**Resim-3:** Kontrol gurubuna ait beyinin histolojik görünümü. Boyama Hematoksilen-Eozin, Büyüme X20

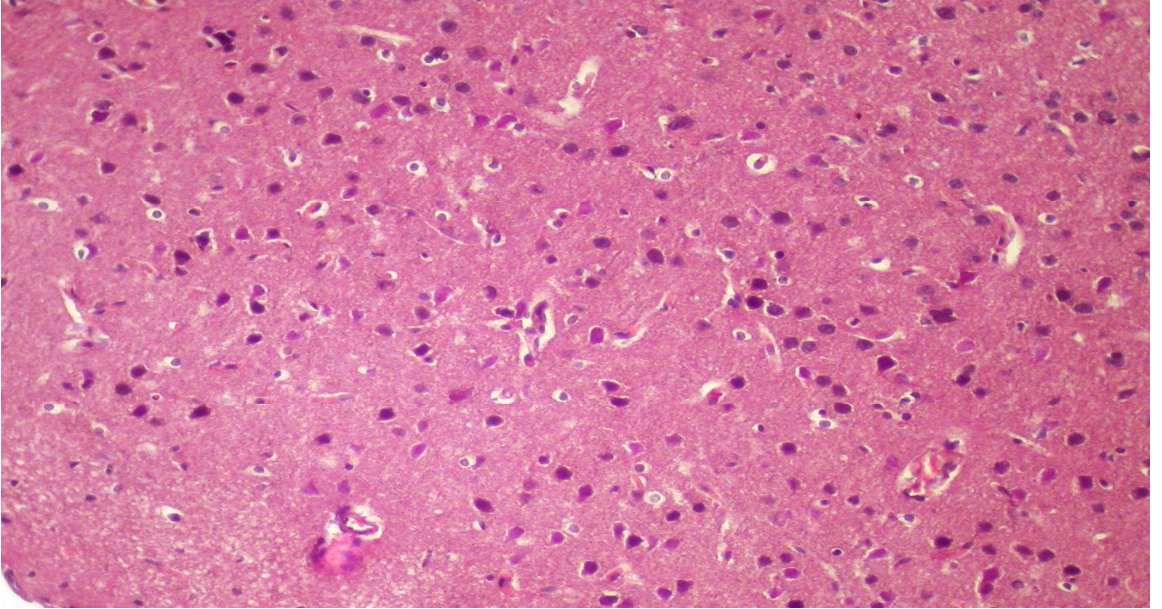


**Resim-4:** Karbontetraklorür uygulanan grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. Boyama: tripple, Büyüme X40.



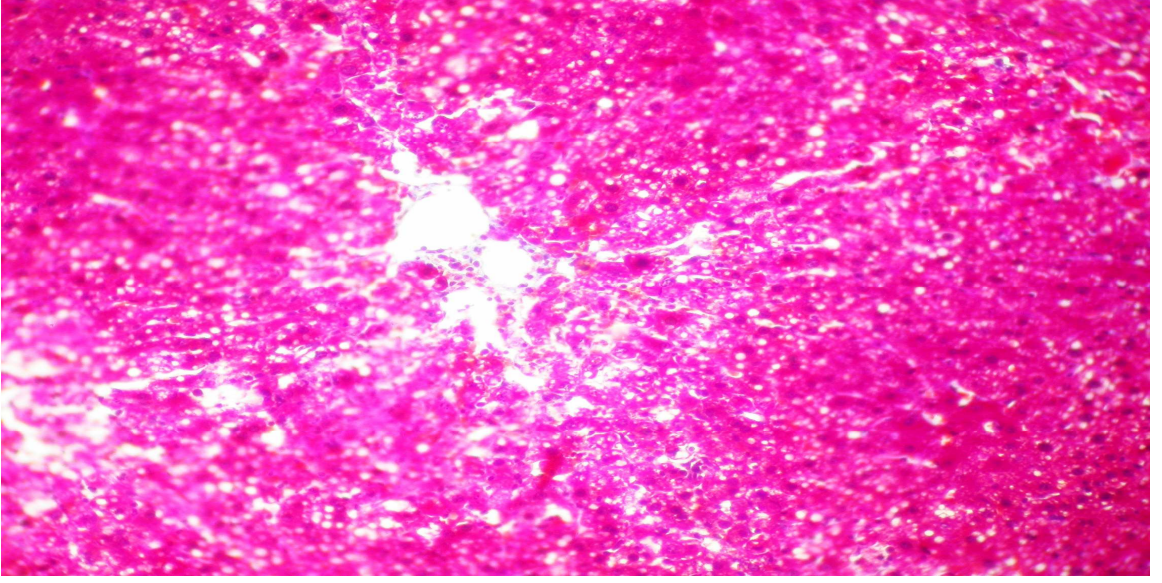


**Resim-5:** Karbontetraklorür uygulanan grubuna ait böbreğin histolojik görünümü. Boyama tripple, Büyüme X40.

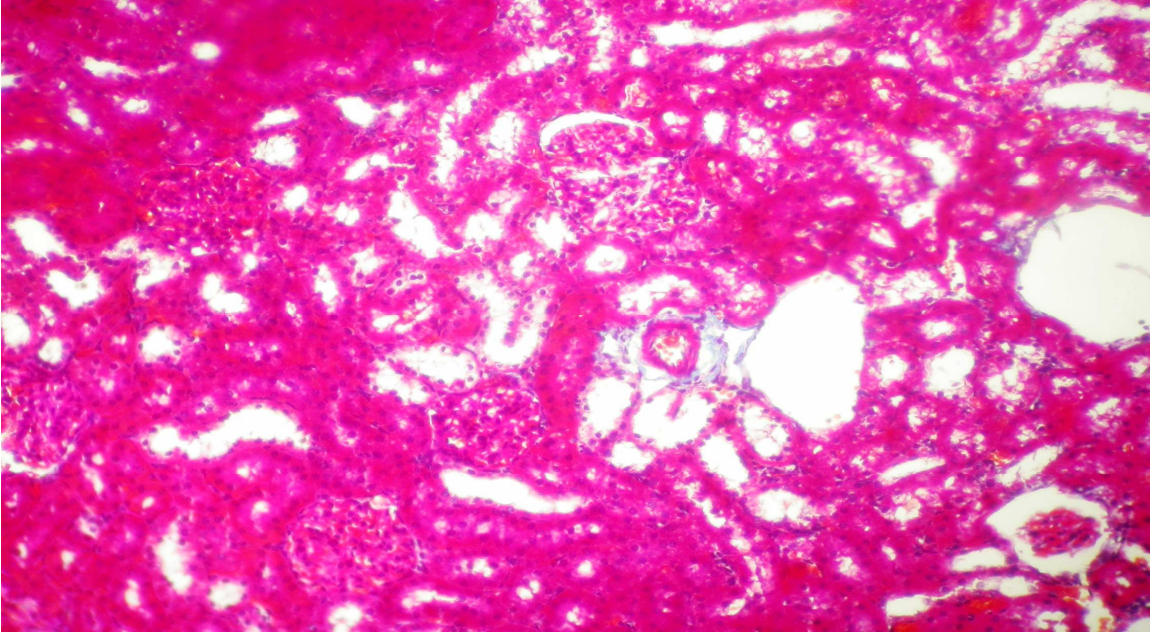


**Resim-6:** Karbontetraklorür uygulanan grubuna ait beynin histolojik görünümü. Boyama Hematoksilen- Eozin, Büyüme X20.



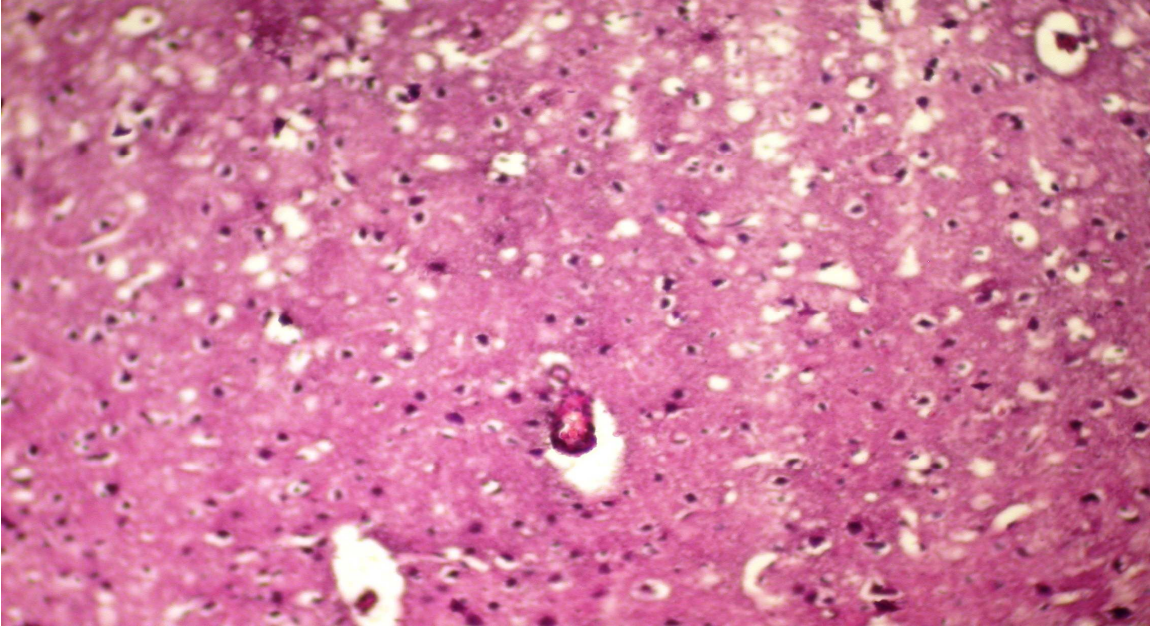


**Resim-7:** Üzüm çekirdeği grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. Boyama tripple, Büyüme X20

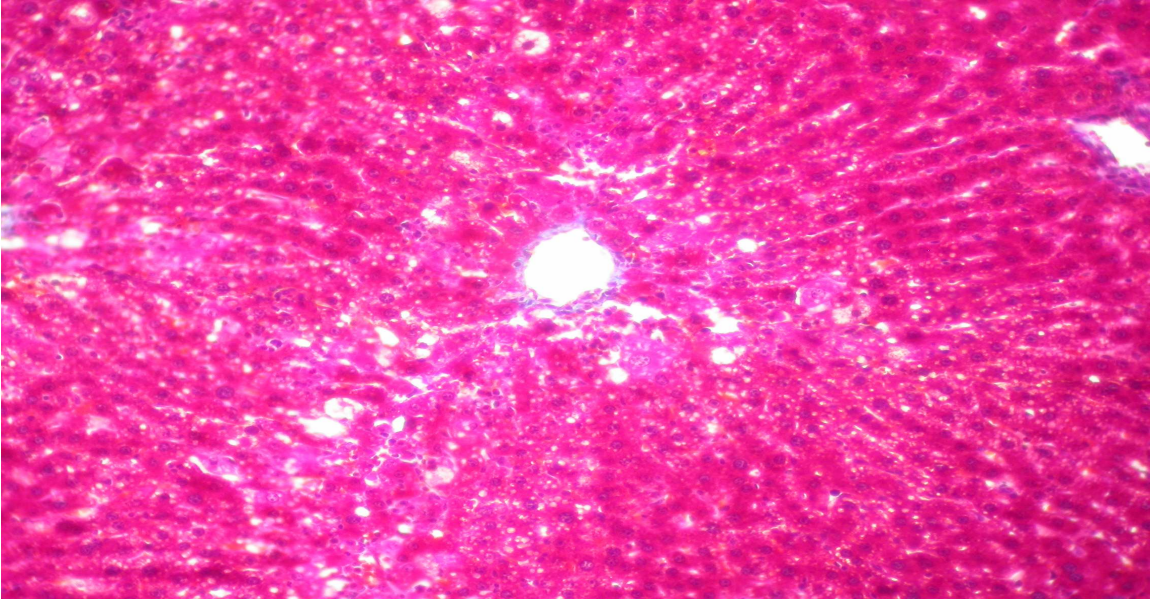


**Resim-8:** Üzüm çekirdeği grubuna ait böbreğin histolojik görünümü. Boyama tripple, Büyüme X20



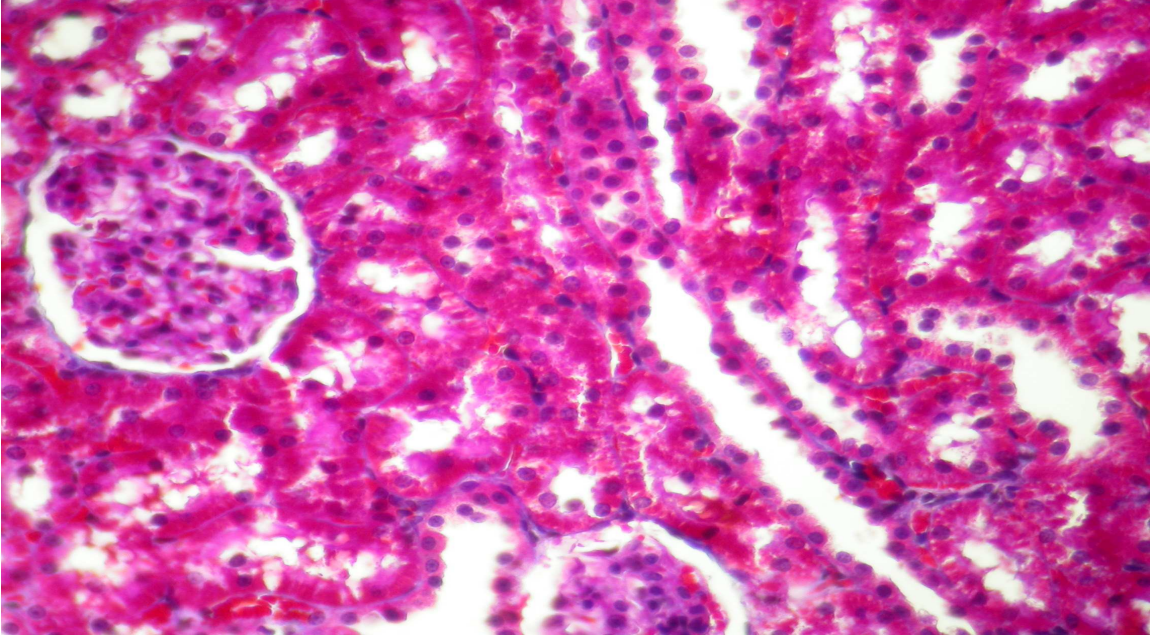


**Resim-9:** Üzüm çekirdeği grubuna ait beynin histolojik görünümü. Boyama Hematoksilen- Eozin, Büyüme X20.

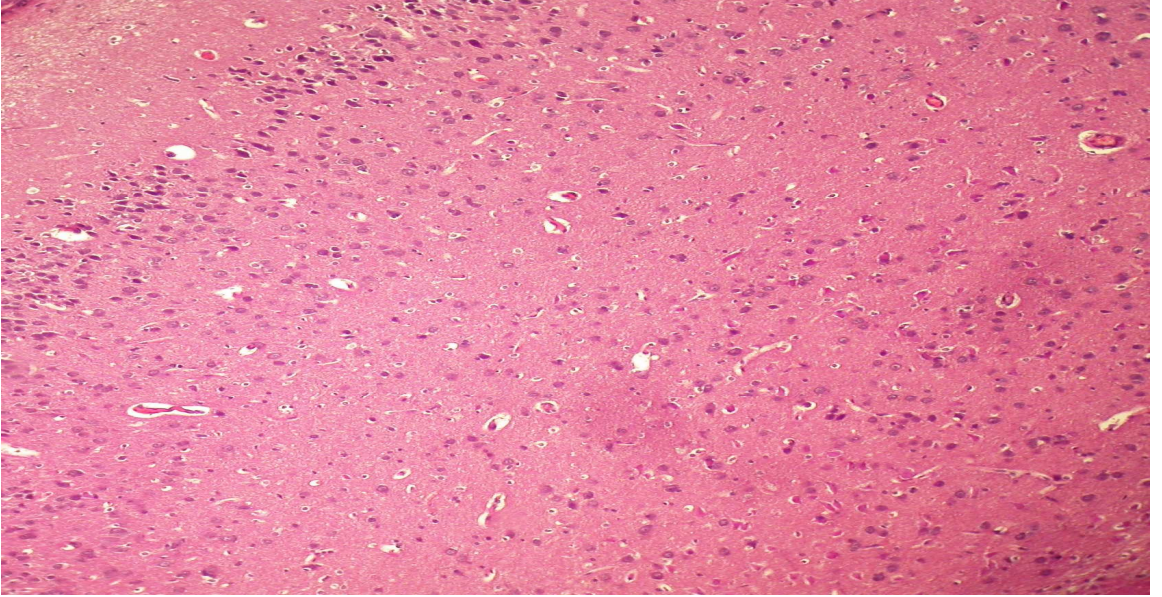


**Resim-10:** Üzüm suyu grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. Boyama tripple, Büyüme X20.



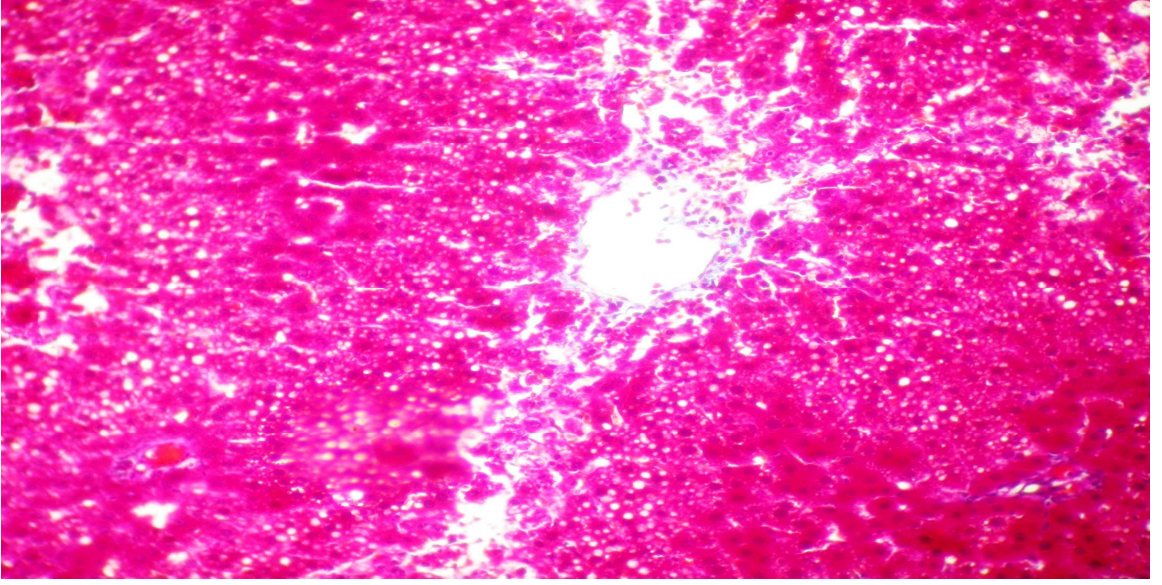


**Resim-11:** Üzüm suyu grubuna ait böbreğin histolojik görünümü. Boyama tripple, Büyüme X40

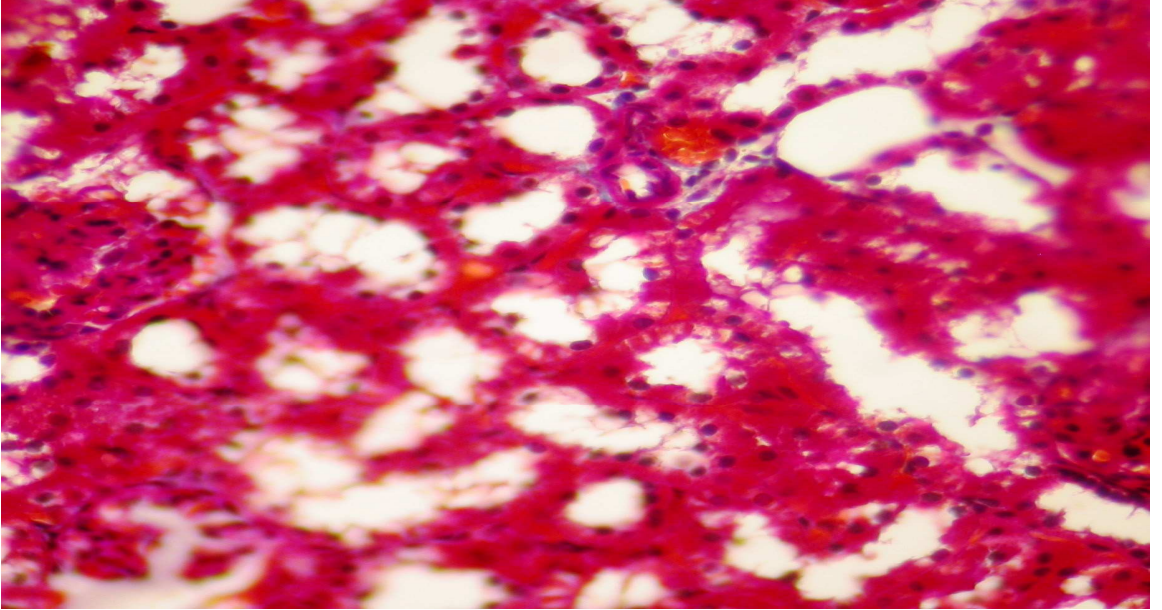


**Resim-12:** Üzüm suyu grubuna ait beynin histolojik görünümü Boyama Hematoksilen- Eozin, Büyüme X10



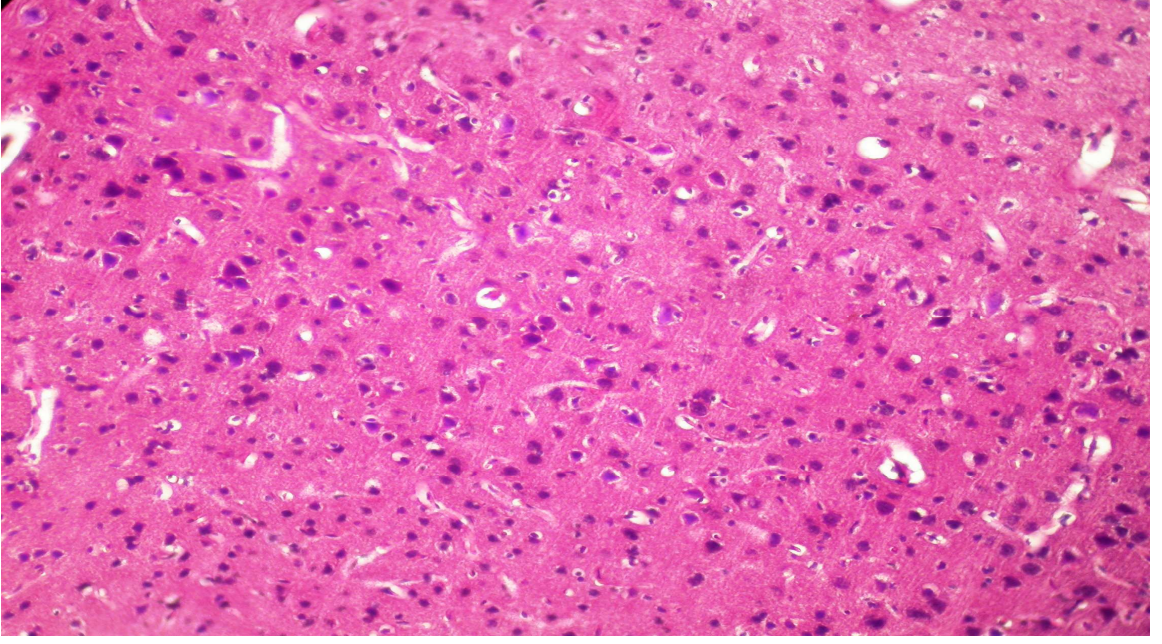


**Resim-13:** Nar suyu grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. Boyama triplet, Büyüme X20

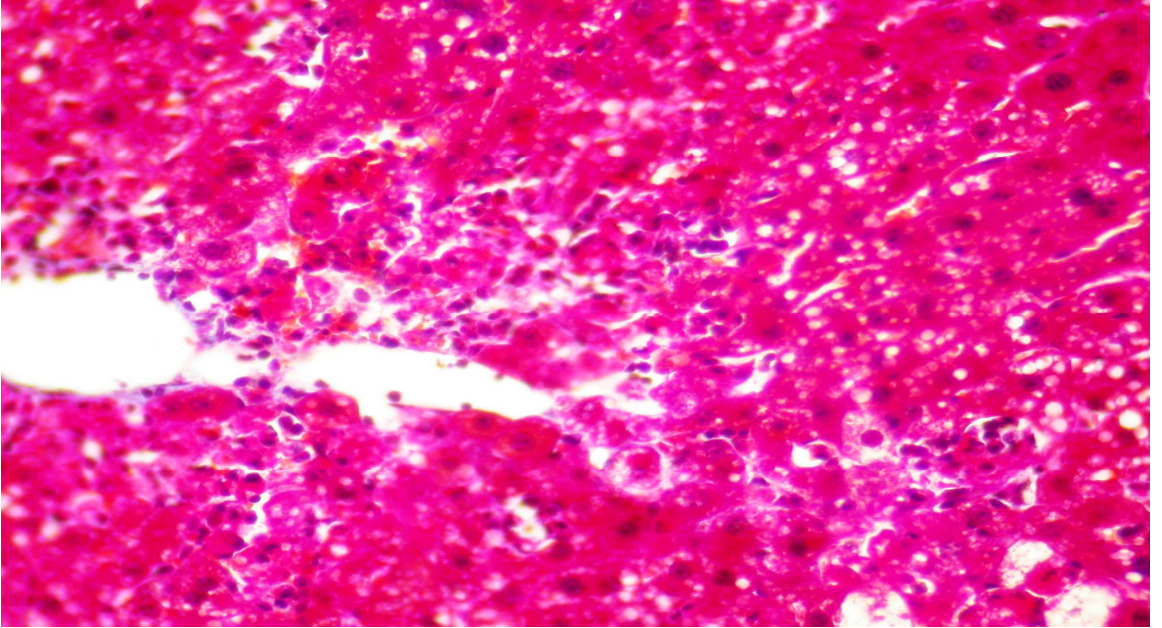


**Resim-14:** Nar suyu grubuna ait böbreğin histolojik görünümü. Boyama tripple, Büyüme X40.



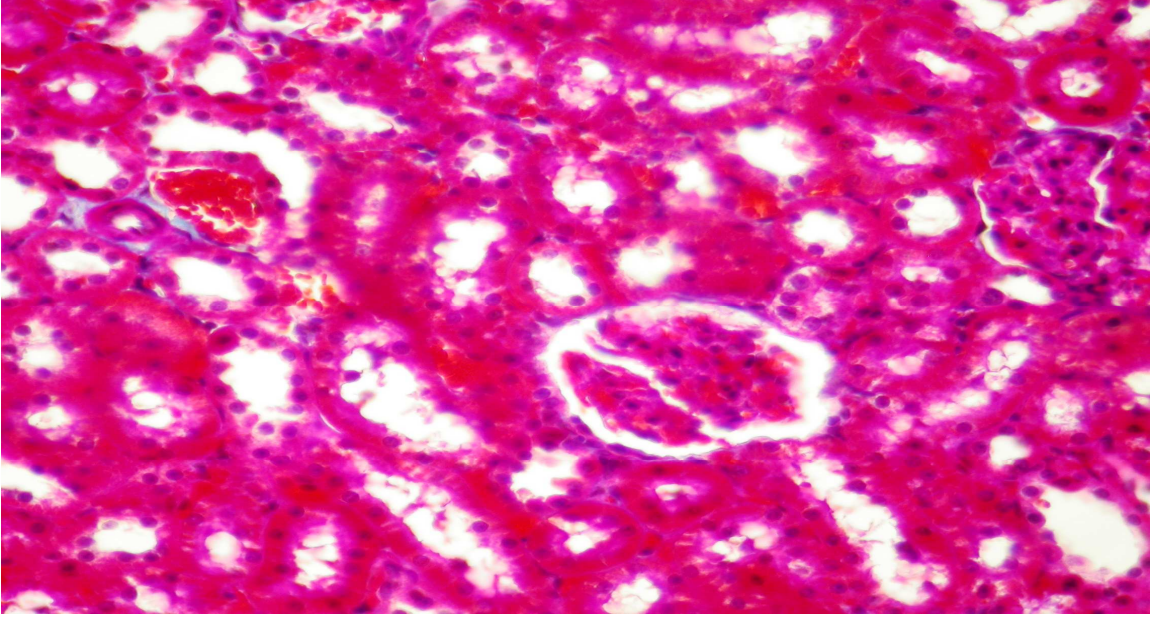


**Resim-15:** Nar suyu grubuna ait beynin histolojik görünümü Boyama Hematoksilen-Eozin, Büyüme X20

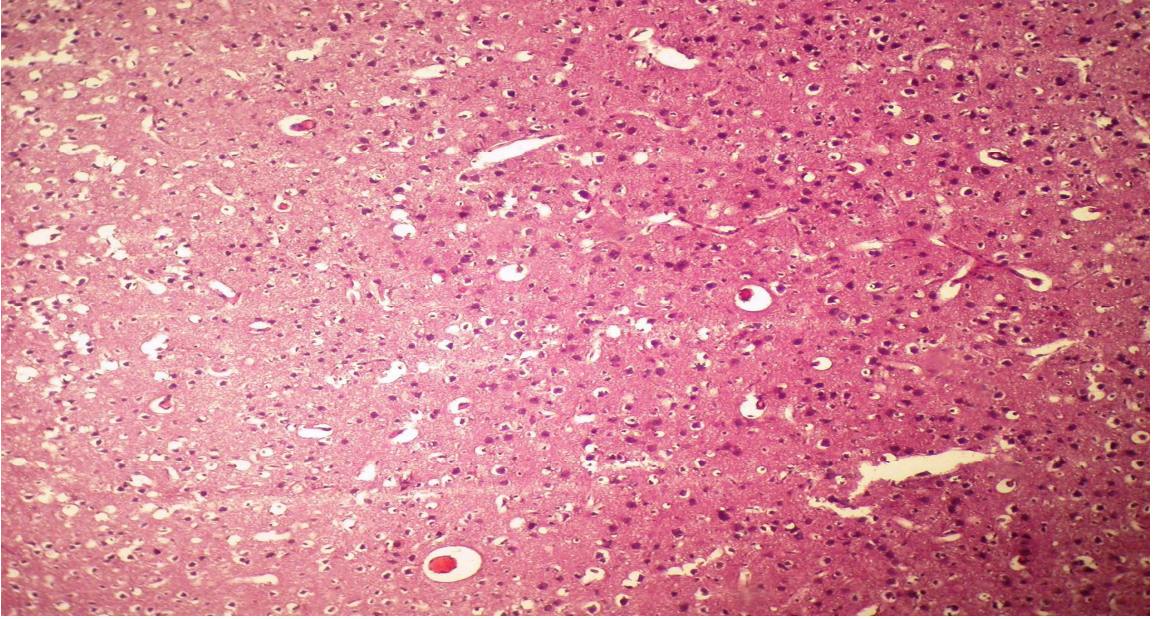


**Resim-16:** İlaç grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. Boyama tripplé, Büyüme X40





**Resim-17:** İlaç grubuna ait böbreğin histolojik görünümü. Boyama tripple, Büyüme X40



**Resim-18:** İlaç grubuna ait beynin histolojik görünümü Boyama Hematoksilen-Eozin, Büyüme X10

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karaciğer gerek oral gerekse paranteral (damardan) yolla alınan hemen hemen tüm ilaçlar, toksik maddeler ve mikrobik ajanlarla karşılaşan ve onların zedeleyici etkilerine maruz kalan bir organdır. Bu ajanlarla sürekli olarak karşılaşan, karaciğer onları detoksifiye eder veya onların oluşturduğu hasara rejenerasyon yeteneğiyle karşılık verir.<sup>1</sup> Dolayısıyla karaciğer bu, fizyolojik ve biyokimyasal rolü nedeni ile ilaçların metabolizmasında ve genel olarak zehirsizleştirmede önemli role sahiptir. Bundan dolayı karaciğerde çeşitli hasarlar oluşabilmektedir. Bu hasarın değişik şekillerinin, oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluştuğu bilinmektedir.<sup>2</sup>

Antioksidantlar veya radikal söndürücü maddelerle bu oksidatif hasarın engellenmesi veya geciktirilmesi, hastalıkların riskini azaltır.<sup>3</sup> Günümüzde antioksidan maddelerin gıda ve ilaç sanayinde kullanımı oldukça yaygın olup hemen hemen tükettiğimiz ürünlerin çoğuna sentetik antioksidan maddeler katılmaktadır. Bunlar gıdaları bozulmaya karşı korumakta ve onların daha uzun süreli saklanması sağlamaktadır. Ancak bunların toksik etkilerinden şüphelenilmektedir. Bu nedenle; son yıllarda, daha güvenli ve ucuz antioksidan maddelerin bulunması için doğal ürünler üzerinde yaygın çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde farmasötik ürünlerin pahalılığından dolayı bazı sağlık problemlerinin çözümünde, bitkisel ürünlerle tedavi alternatif tedavi olarak karşımıza çıkmaktadır. Türkiye’de halk arasında çeşitli amaçlarla kullanılan ve bilimsel aktivitesi bilinmeyen pek çok bitki ve meyve bulunmaktadır. Fenolikler açısından zengin olan meyve ve bitkilerin ham ekstreleri gıda endüstrisinde önem taşımaktadır.



Fenolik maddeler doğal antioksidantların en önemli gruplarını oluştururlar.<sup>3</sup> Fenoller içerdikleri hidroksil gruplarından dolayı radikal söndürücü özellikleri olan çok önemli bitki bileşenleridir.<sup>4</sup> Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşenlerdir, en yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Flavonoidlerin lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir.<sup>3</sup> Son zamanlarda doğal yeni bir antioksidan maddenin veya maddelerin doğal kaynaklardan elde edilmesi oldukça önem kazanmış ve bu konuyla ilgili çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Antioksidanlar sadece gıda değil ayrıca sağlık alanında da önemli maddelerdir. Tüm bu konular göz önüne alındığında bu araştırmanın önemi daha açık görülmektedir.

Bu çalışmada, Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetiştiriliciği yapılan meyvelerden olan üzüm (üzüm suyu ve çekirdeği) ve nar (nar suyunun)'ın CCl<sub>4</sub> ile karaciğer hasarı oluşturulmuş farelerde *in-vivo* lipit peroksidasyonunu önleme etkilerini araştırıldı ve immunohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Çalışmada karaciğer hasarını oluşturmak için CCl<sub>4</sub> kullanıldı. CCl<sub>4</sub>, deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturmasında en iyi bilinen ve en sık kullanılan kimyasal maddelerin başında gelir. CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan deneysel karaciğer hasarları, insanlardaki karaciğer hasarları modeline uygunluk göstermektedir. CCl<sub>4</sub>'ün en önemli toksik etkisi, sitokrom P-450 sisteminin en fazla olduğu karaciğerin sentrilobüler bölgesindeki tek hücrenin ölümünden başlayarak tüm organ boyunca ağır hücre ölümlerine neden olabilecek şekilde gelişir. Hasar ani olabileceği gibi, haftalar, hatta aylar içinde gelişebilir. Belirgin hepatosit nekrozu ve kolestaz ile

karşılaşabileceği gibi yavaş ve hafif bir karaciğer fonksiyonu bozukluğu da söz konusu olabilir.

Karaciğer gibi çok sayıda endojen ve eksojen etkenlere devamlı maruz kalan bir organın korunması şüphesiz önemlidir. Bu nedenle, karaciğeri koruyucu aktiviteye sahip maddelerin araştırılması da hem çok önemli hem de günceldir.

Deney hayvanları ile çalışmaya başlamadan önce nar suyu, üzüm suyu ve üzüm çekirdeği ekstresinin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı gallik aside eşdeğer olarak hesaplandı. Yapılan istatistiksel analiz sonucu toplam fenolik ve flavonoid bileşen miktarları çalışılan gruplar içinde en fazla nar suyunda bulundu. Nar suyunu, üzüm suyu ve çekirdeği izledi.

**Ricci ve ark<sup>5</sup>** *Punica granatum* (nar) meyvesi ile yaptığı antioksidant aktivite çalışmasında bu meyvenin polifenolik içeriği  $0.063 \pm 0.0003$  mg/g (kuru ağırlık) gallik asite eşdeğer olduğunu bulmuştur. **Çam ve ark<sup>6</sup>** tarafından İzmir yöresinden toplanmış çeşitli nar (*Punica granatum*) meyvelerinin sularında yapılan antioksidant aktivite sonunda bu meyve türlerinin fenolik içeriğini, **1-Izmir 8, 2-Izmir 10, 3-Izmir 23, 4-Izmir 26, 5-Izmir 1264, 6-Izmir 1479, 7-Izmir 1499 ve 8-Zivzik türlerinde** sırasıyla;  $309.0 \pm 2.0$  mg/100ml,  $286.1 \pm 9.5$  mg/100ml,  $208.3 \pm 1.9$  mg/100ml,  $221.2 \pm 1.2$  mg/100ml,  $283.1 \pm 0.6$  mg/100ml,  $280.0 \pm 1.0$  mg/100ml,  $343.6 \pm 6.4$  mg/100ml,  $231.6 \pm 1.6$  mg/100ml gallik asite eşdeğer olduğu bulunmuştur.

**Hogan ve ark<sup>7</sup>** tarafından, kuzey Fransa'nın çeşitli bölgelerindeki Virginia siyah şaraplık üzümlerinde ise, Cabernet Franc 1, Cabernet Franc 2 ve Cabernet Franc 3 olmak üzere üç çeşidin toplam fenolik içeriğine bakılmış ve sonuç olarak sırasıyla  $1.82 \pm 0.07$ mg/g,  $1.47 \pm 0.05$ mg/g,  $0.63 \pm 0.02$  mg/g gallik asite eşdeğer olarak bulunmuştur. Bu üzüm çeşitlerinin toplam flavonoid içeriği ise  $1.19 \pm 0.03$

mg/g,  $0.99 \pm 0.04$  mg/g,  $0.48 \pm 0.01$  mg/g olarak bulunmuştur. **Tounsia ve ark**<sup>8</sup> ise üç çeşit kırmızı üzüm çekirdeğinin metanol ekstraktında toplam fenolik miktarına bakmışlar ve kuru ağırlıklarında Muscat, Syrah ve Carignan türleri için sırasıyla 427.00 mg/100g, 218.00 mg/100g ve 112.81 mg/100g gallik aside eşdeğer olarak bulunmuştur. **Yang ve ark**<sup>9</sup> ise 14 çeşit şaraplık üzümün toplam flavonid ve fenoliğine bakmıştır sonuçları aşağıdaki tabloda görüldüğü gibi rapor etmiştir

**Tablo.5.1.** 14 üzüm çeşidinin toplam fenol ve toplam flavonoid içeriği

| Çeşit          | Renk          | Toplam fenolik (mg/100 mL) | Toplam flavonid (mg/100 mL) |
|----------------|---------------|----------------------------|-----------------------------|
| Vinifera       |               |                            |                             |
| Cabernet Franc | koyu mor/mavi | $424.6 \pm 3.8$            | $180.9 \pm 15.3$            |
| Chardonnay     | yeşil         | $201.1 \pm 4.9$            | $166.4 \pm 20.4$            |
| Pinot Noir     | koyu mor/mavi | $396.8 \pm 12.4$           | $301.8 \pm 6.2$             |
| Riesling       | yeşil         | $255.8 \pm 8.8d$           | $133.5 \pm 13.7$            |
| Hybrid         |               |                            |                             |
| Baco Noir      | koyu mor      | $217.0 \pm 14.1$           | $97.8 \pm 9.8$              |
| Catawba        | pembe         | $311.7 \pm 9.1$            | $180.9 \pm 5.4$             |
| Cayuga         | beyaz yeşil   | $206.3 \pm 8.2$            | $176.1 \pm 10.7$            |
| Chancellor     | koyu mor/mavi | $325.8 \pm 21.7$           | $140.0 \pm 18.8$            |
| Concord        | kırmızı, mor  | $334.0 \pm 13.6$           | $168.2 \pm 6.0$             |
| DeChaunac      | koyu mavi     | $293.5 \pm 21.6$           | $113.9 \pm 12.0$            |
| Marechal Foch  | koyu mor      | $312.5 \pm 10.9$           | $127.0 \pm 14.2$            |
| Niagara        | yeşil         | $229.6 \pm 3.9$            | $173.1 \pm 11.3$            |
| Sheridan       | kırmızı, mor  | $331.4 \pm 8.2$            | $166.8 \pm 1.3$             |
| Vidal Blanc    | yeşil         | $228.0 \pm 5.5$            | $100.7 \pm 9.4$             |

Bu çalışmada elde edilen değerler, daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında bölgemizdeki nar ve üzüm meyvelerinin toplam fenolik ve flavonoid içeriği bakımından literatürle uyum içerisinde olduğu ve hatta fenolik ve flavonoid içeriğinin bazı çeşitlerle kıyaslandığında daha yüksek olduğu bulunmuştur.

*In-vivo* çalışmalarda, karaciğer hasarını oluşturmak için karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) kullanıldı. CCl<sub>4</sub> deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturmasında en iyi bilinen ve en sık kullanılan kimyasal maddelerin başında gelir. CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan deneysel karaciğer hasarları, insanlardaki karaciğer hasarları modeline uygunluk göstermektedir.

Daha önce yapılmış olan deneysel çalışmalarda CCl<sub>4</sub>'ün toksisitesine bağlı olarak kan serum örneklerinde bazı biyokimyasal parametrelerin değiştiği, karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki lipit peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyinin arttığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, CCl<sub>4</sub> sonucu oluşan sıçanlardaki biyokimyasal değişiklikler ve doku hasarlarına karşı üzüm çekirdeği, üzüm suyu ve nar suyunun koruyucu etkisine bakıldı. Üzüm çekirdeği, üzüm suyu ve nar suyunun koruyucu etkisini karşılaştırmak amacıyla karaciğer tedavisinde yaygın olarak kullanılan ve etkisi bilinen bir ilaç olan Ursodeoksikolikasit pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Ursodeoksikolikasit'in önemli etkisinden biri hücre membranlarının stabilizasyonudur. İlacın özellikle hepatositlerin membranındaki kolesterol ve fosfolipidlerin çözünürlüğünü azaltarak toksik safra tuzlarının hepatotoksik etkisini engellediği düşünülmektedir.<sup>10</sup>

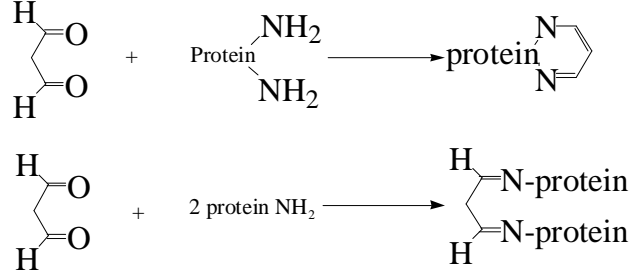
Ursodeoksikolikasit tedavisinin en yoğun biçimde uygulandığı kolestatik karaciğer hastalığı primer biliyer sirozdur.<sup>11</sup> Bu hastalarda ursodeoksikolikasit tedavisi ile serum bilirubin, alkalin fosfataz, aminotransferazlar ve glutamil transpeptidaz düzeylerinde belirgin düşme olduğu gösterilmiştir.<sup>12,13</sup>

Yaygın hepatik nekroz durumunda yani çok sayıda karaciğer hücresinin (hepatosit) ölmesi durumunda kandaki AST ve ALT düzeyleri yükselir. Akut viral hepatitler (Hepatit A ve Hepatit B), belirgin karaciğer toksisitesi olan ilaçların kullanımı (asetaminofen), kardiyovasküler kollaps (şok) durumlarında (ki bu durumda karaciğere gelen kan akımı azalacak ve karaciğer hücrelerinin beslenmesi bozulacaktır) karaciğer hücreleri hasar görecektir ve kandaki transaminaz düzeyleri artacaktır. Bu enzimler normalde karaciğer hücreleri olan hepatositlerde bulunurlar. Karaciğerde bir hasar meydana geldiğinde kana karışırlar ve kandaki seviyeleri yükselir.

Çalışma sonunda, çalışma gruplarından elde edilen kan serum örneklerinde, biyokimyasal parametrelerin, karbontetraklorür alan grup ile karşılaştırıldığında bizim kullandığımız, nar suyu, üzüm suyu ve çekirdeğinin AST, ALT, bilirubin ve albümin seviyelerinde anlamlı bir oranda düzelme görülmüştür. Çalışma gruplarından elde edilen bu sonuçlar ilaç grubu için elde edilen değerler ile uyum içindedir.

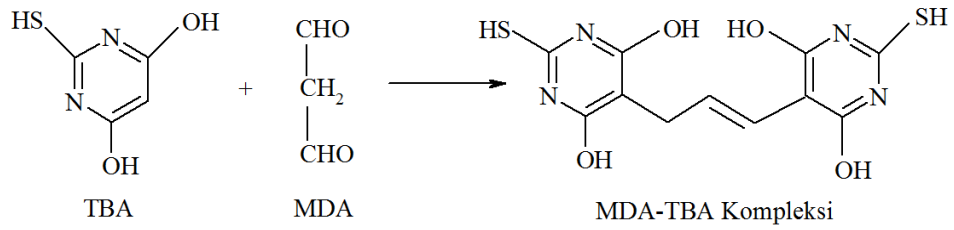
Lipit peroksidasyonu organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla başlar.<sup>14</sup> En önemli peroksidasyon ürünü malondialdehittir. Oluşan malondialdehit hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin üzerinde olumsuz sonuçlara neden olur. Proteinlerin amin grupları ile Schiff bazı oluşturarak ya da tiyol grupları ile etkileşerek proteinlerin çapraz bağlanmasına neden olabilir (şekil 5.1).<sup>15</sup> Hücreler ve organellerin membranlarında oluşan lipit peroksidasyonunu

endoplazmik retikulum, mitokondri ve diğ er mikrozomal komponentlere zarar verdiğ i bildirilmiş tir.<sup>16</sup>



**ř ekil 5.1.** MDA 'nın proteinlerle etkileş mesi

Yapılan ç alış mada dokudaki MDA miktarı TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) metoduyla ölç üldü. Kolay uygulanması ve güvenilir sonuç vermesi nedeniyle bu metod tercih edildi. Bu metod MDA'nın TBA (tiyobarbitürik asit) ile kırmızı renkli kompleks oluşturarak 530 nm'de absorbans vermesi esasına dayanır (ř ekil 5.2)



**ř ekil 5.2.** TBA'nın MDA'a ile oluşturduğ u kompleks

MDA oldukça kararsız bir yapıdadır. TMP asidik ortamda MDA'ya dönüşür. Bu nedenle standart olarak TMP (1,1,3,3-tetrametoksipropan) kullanıldı.

Çalışmamızda, sadece CCl<sub>4</sub> alan gruplardaki sıçanların karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki MDA seviyeleri oldukça yüksek bulunurken, üzüm çekirdeği, üzüm suyu, nar suyu ve ursodeoksikolik asit alan gruplardaki sıçanlarda MDA seviyesinin anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Bu sonuçların, daha önceki yapılmış çalışmalar ile uyumlu olduğu izlendi. **Orhan ve ark**<sup>17</sup> sıçanlarda CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan akut karaciğer hasarında *Vitis vinifera* meyvesinin etanol ekstraktının hepatoprotektif etkilerini önlediğini göstermişlerdir. Dokuda ve serumda MDA miktarına ve kan serum örneğinde ALT ve AST değerlerine, toplam fenolik ve toplam flavonid içeriğine bakmışlardır. Yine, **Srivastava ve ark** yaptıkları çalışmada *D. hamiltonii* bitkisinin köklerinin sulu ekstraktlarının farelerde karaciğer hasarında ve oksidatif etki gösteren CCl<sub>4</sub>'e karşı karaciğeri koruyucu aktivitesi olduğunu bildirmişler. Aynı çalışmada biyokimyasal parametrelerin (ALT, AST) anlamlı bir şekilde düzeldiği görülmüştür. **Kılıçgün ve ark** ise *Rosa canina*'nın (*Rosa canina L.*) plazma ALT ve AST etkisi, karaciğer lipit peroksit, karaciğer protein oksidasyonu ve glutasyon düzeylerini anlamlı bir şekilde düşürdüğü görülmüştür. Bu bulgular *Rosa canina*'nın antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada, **Yüce ve ark** nar suyu tüketiminin sıçanların karaciğer ve testis dokusundaki lipit peroksidasyonu azalttığını ve antioksidan aktiviteyi arttırdığını rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar nar suyunun güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olabileceğini desteklemektedir. **Yassa ve ark** *shahani* siyah üzüm tanelerinin farklı kısımlarının serbest radikalleri söndürme aktivitelerini ve lipit peroksidasyonunu araştırmışlar, çekirdeğin metanol ekstraktı ve hekzan ekstraktı çok yüksek, üzüm posası ekstraktı orta düzeyde ve üzüm suyu en düşük düzeyde lipit peroksidasyonunu inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada, **Çelik ve ark**, karaciğer, beyin, böbrek

ve kalp dokularındaki MDA içeriğini, artan ALT, AST değerlerini *Punica granatum* (nar) meyvesinin önemli ölçüde düşürdüğünü bildirmişlerdir. **Erdoğan ve ark.** ise yaptıkları çalışmada vitamin C ve E'nin karaciğer hasarını önleyici etkilerinin kuvvetli olduğunu anason (*Pimpinella anisum*)'un ise hepatoprotektif bir özelliğinin olmadığı, hatta karaciğer fonksiyonlarının kısmen daha da olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir. **Bayram ve ark** CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan akut karaciğer hasarının C ve E vitamini ile histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerin (AST, ALT, indirekt bilirubin) anlamlı bir şekilde düzeldiğini rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada, son olarak sıçanların karaciğer, böbrek ve beyin dokularında hasarı gösteren histopatolojik değişiklikler incelendi. Karaciğer ve böbrek dokularında CCl<sub>4</sub> alan grupta önemli doku hasarları görülmüştür fakat bu hasarı üzüm çekirdeği, üzüm suyu ve nar suyunun önlediği ve ayrıca ilaç gurubu ile karşılaştırdığımızda ise doku örneklerinin birbirlerine benzer olduğu görülmüştür. Beyin dokusunda ise oluşan hasar histopatolojik olarak incelendiğinde tüm çalışma gruplarında normal doku görüntüleri izlenmiştir. CCl<sub>4</sub>'ün uygulama süresinin az olmasına ve beyinde kan-beyin bariyerinden aşamadığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak üzüm çekirdeği, üzüm suyu ve nar suyu yüksek fenolik ve flavonoid içeriklerine sahip olmaları, kan serum örneklerinde biyokimyasal parametrelerin anlamlı bir şekilde düzelttiği ve doku MDA seviyelerini azalttığı izlenmiştir. Bu sonuçlar bölgemizde yetiştiriciliği yapılan nar ve üzüm meyvelerinin güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olabileceğini göstermektedir. Histopatolojik incelemeler bu sonuçları desteklemektedir.



## 5.1 KAYNAKLAR

1. Orrego, H.; Blake, J.E.; Blendis, L.M.; Medline, A. *Gastroenterology*, **1987**, 92, 208-214.
2. Ning, Q.j.; Qin, S.W.; Xu, C.S. *World Journal of Gastroenterology*, **2006**, 21, 6966-6972.
3. Pietta, P. G. *Journal of Natural Products*, **2000**, 63, 1035-42.
4. Hatano, T.; Edamatsu, R. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1989**, 37, 2016-2021.
5. Ricci, D.; Giamperi, L.; Bucchini, A.; Fraternali, D. *Fitoterapia*, **2006**, 77, 310–312.
6. Cam, M.; Hışıl, Y.; Durmaz, Y. *Food Chemistry*, **2009**, 112, 721–726.
7. Hogan,S.; Zhang, L.; Li, J.; Zoecklein, B.; Zhou, K. *Food Science and Technology*, **2009**, 42, 1269–1274.
8. Saidani Tounsia, M.; Ouerghemmi, I.; Wannas, W.A.; Ksouri, H.Z.; Marzouk, B.; Kchouk, M.E. *Industrial Crops and Products*, **2009**, 30, 292–296.
9. Yang, J.; E. Martinson, T.; Liu, R.U. *Food Chemistry*, **2009**, 116, 332–339.
10. Guldutuna, S.; Zinimer, G.; Imhof, M. *Gastroenterology*, **1983**, 104, 1736-1744.
11. Stiehl, A. *Annals of Medicine*, 1994, 26, 345-9.
12. Poupon, R.E.; Eschwege, E.; Poupon, R. *The UDCA-PBC Study Group. Journal Hepatol.* **1990**, 11, 16-21.
13. Mizoguchi, Y.; Kioka, K.; Seki, S.; Kobayashi, K.; Morisawa, S. *Osaka City Medical Journal*, **1989**, 35, 71-82.
14. Nizamlioğlu, N.M.; Nas, S.; *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **2010**, 20-35.

**15.** Emen, S. *Cyclotrichium niveum* Bitkisinin Farklı Polariteye Sahip Çözücüler İle Hazırlanan Ekstraktlarının Antioksidant Ve DNA'yı Serbest Radikallerden Koruma Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Diyarbakır, 50s, **2006**.

**16.** Kılıç, N.; Kalkan, A.; Özden, M.; Denk, A.; *Turkish Journal of Infection*, **2005**, 19, 5-9.

**17.** Orhan, D.D.; Orhan, N.; Ergun, E.; Ergun, F. *Journal of Ethnopharmacology*, **2007**, 112, 145–151.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mihdiye PİRİNÇÇİOĞLU

Doğum Yeri: Derik

Doğum Tarihi: 23/09/1980

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Fatih Lisesi-2001

Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü-2007

Yüksek Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya  
Anabilim Dalı