

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ISIRGAN TOHURLU BİTKİ KARIŞIMININ ALKOLE BAĞLI
KARACİĞER HASARLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL VE
HİSTOKİMYASAL ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ahmet ERMİŞ**

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali ÇELİK

TEMMUZ 2012

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 101461014 nolu öğrencisi Ahmet ERMİŞ tarafından hazırlanan “**Isırgan Tohumlu Bitki Karışımının Alkole Bağlı Karaciğer Hasarları Üzerine Etkisinin Biyokimyasal Ve Histokimyasal Araştırılması**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir

Tez Danışmanı:
(Jüri Başkanı)


Prof. Dr. Ali ÇELİK (PAÜ)

Jüri Üyesi:


Doç. Dr. Küret GEZER (PAÜ)

Jüri Üyesi:


Yrd.Doç.Dr. Muhammet Kasım ÇAYCI (DPÜ)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
15/08/2013 tarih ve .../.../13... sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Prof. Dr. NURİ KOLSUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

İmza

:



Öğrenci Adı Soyadı :Ahmet ERMİŞ

:

ÖNSÖZ

Yüksek lıasns tez çalışmamda görüş ve önerileriyle yardımcı olan danışman hocam Prof. Dr. Ali ÇELİK'e bilimsel çalışmalarında her zaman bana yardımcı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Recep KUTLUBAY, Prof Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN, Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE ve Yard. Doç. Dr. Nazan KESKİN'e, histolojik çalışmalarında bana yardımcı olan Uzman Pınar İLİ ve Ayşe ÇETİNKAYA' ya, çalışmamda kullandığım bitkisel materayali temin eden NATURİN LİNE A.Ş.'ye, manevi desteklerini her zaman hissettiğim bölümdeki hocalarıma, çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Osman SİNEN'e ve hayatım boyunca bana destek olan aileme teşekkür ederim. Ayrıca 2010FBE035 kodlu proje ile maddi destek sağlayan Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine de şükranlarımı ifade ederim.

Temmuz 2012

Ahmet ERMİŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	viii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Karaciğerin Vücudumuz İçin Önemi.....	1
1.2 Karaciğerin Histolojisi.....	2
1.2.1 Karaciğer Lobülleri.....	3
1.2.2. Hepatositlerin Histolojik Özellikleri.....	5
1.2.3 Hepatositlerin Sitolojik Özellikleri.....	7
1.3 Karaciğer Histofizyolojisi.....	13
1.4 Karaciğerde Rejenerasyon.....	17
1.5 Alkol Metabolizması.....	21
1.6 Etanol Tüketimi.....	25
1.7 Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığında Aminotransferazlar.....	27
1.8 Literatür Özeti.....	28
1.9 Tezin Amacı.....	30
2. ÇALIŞMAMIZDA KULLANILAN KARIŞIM İÇERİĞİNDEKİ BİTKİLER	31
2.1 <i>Urtica pilulifera</i> L. (Isırgan).....	31
2.2 <i>Apium graveolens</i> L. (Kereviz).....	32
2.3 <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertner (Deve Dikeni).....	33
2.4 <i>Curcuma longa</i> L. (Zerdeçal).....	34
2.5 <i>Zingiber officinale</i> Roscoe (Zencefil).....	35
2.6 <i>Nigella sativa</i> L.(Çörek Otu).....	36
2.7 <i>Peganum harmala</i> L. (Üzerlik).....	37
2.8 <i>Brassica rapa</i> subsp <i>rapa</i> L. (Şalgam).....	38
3. TIBBİ BİTKİLERİN KULANIŞ ŞEKİLLERİ	39
4.HİSTOKİMYA	39
5. MATERYAL-METOD	44
5.1 Ekstraksiyonların Hazırlanması ve Uygulaması.....	44
5.2 Histokimya ve Biyokimya çalışmaları	49
6. BULGULAR	52
6.1 Histolojik Bulgular	52
6.2 Biyokimyasal Bulgular.....	56
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	57
KAYNAKLAR	61

KISALTMALAR

ADH	:Alkol Dehidrogenaz
ALDH	:Asetaldehit Dehidrogenaz
ALP	:Alkaline phosphatase
ALT	:Alanine Transaminase
AMP	:Adenozin monofosfat
AST	:Aspartate Transaminase
BUN	:Kan üre nitrojeni
CCl₄	:Karbontetraklorür
DE	:Devlet İstatistik Enstitüsü
EGF	:Epidermal Büyüme Faktörü
G1	:Hücre döngüsü presentetik
GER	:Granüllü Endoplazmik Retikulum
GFAP	:Gliyal fibrilar asidik protein
GGT	:Gama-Glutamil Transferaz
GMP	:Guanozin monofosfat
H&E	:Hematoksilen & Eosin
H₂O₂	:Hidrojen peroksit
HGF	:Hepatosit Büyüme Faktörü
IL-1	:İnterlökin-1
IL-6	:İnterlökin-6
MEOS	:Mikrozomal Etil Alkol Oksitleyici Sistem
NAD	:Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	:Nikotin amid adenin dinükleotid fosfat
N-CAM	:Nöral hücre adezyon molekülü
O.C.T	:Optimal Cutting Temperature-Frozen doku matriksi
PAS	:Periyodik Asit Schiff
RNA	:Ribonükleik Asit
S	:Hücre DNA sentez evresi
SOR	:Serbest Oksijen Radikalleri
STAT₃	:Signal Transducers Activators
TGF-α	:Transforme edici faktör-alfa
TGF-β	:Transforme edici faktör-beta
TNFR-1	:Tümör nekroz faktör reseptörü-1
TNFR-2	:Tümör nekroz faktör reseptörü-2
TNF-α	:Tümör nekroz faktör-alfa
TNF-β	:Tümör nekroz faktör-beta
VLDL	:Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
XO	:Ksantin oksidaz

TABLO LİSTESİ

Tablolar

1.1 : Asetaldehitin olası toksik etkileri	23
5.1 : Hayvan uygulama grupları.	44
6.1 : ALT ve AST enzimleri analiz sonuçları	56
6.2: ALT ve AST enzimleri istatistik sonuçları.....	56

ŞEKİL LİSTESİ

Şekiller

1.1 : Karaciğerin genel görünümü.	2
1.2 : Karaciğer lóbül yapısı	7
2.1 : <i>Urtica pilülifera</i> 'nın L. genel görünümü.....	31
2.2 : <i>Apium graveolens</i> L.'nin genel görünümü	32
2.3 : <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaetner' nun genel görünümü.....	33
2.4 : <i>Curcuma longa</i> L.'nin genel görünümü.....	34
2.5: <i>Zingiber officinale</i> Roscae'nin genel görünümü.....	35
2.6: <i>Nigella sativa</i> L.'nin genel görünümü.....	36
2.7: <i>Peganum harmala</i> L.'nin genel görünümü.....	37
2.8: <i>Brassica rapa</i> subsp. <i>rapa</i> L.'nin genel görünümü.....	38
5.1: Isırgan tohumlu bitkisel karışım ekstraktı hazırlanması.....	44
5.2: Deney hayvanları uygulaması.....	46
5.3: Hayvanların kesimden önce anestezi ile bayıltılması.....	47
5.4: Anestezi ile bayıltılmış sıçanlar.....	47
5.5: Kalpten kan örneklerinin alınması.....	48
5.6: Anestezi ile uyutulmuş hayvanların karaciğer dokularının alınımı.....	48
5.7: Dokuları parafine gömme.....	49
5.8: Bloklanmış dokular ve L levhalar.....	49
5.9: Mikrotom yardımı ile dokulardan kesit alma.....	50
5.10: Oil Red O boyama için kesit alınan Cryo mikrotomu.....	50
6.1: Kontrol Grubu karaciğer dokusu (H-E; X400).....	52
6.2: Kontrol Grubuna ait karaciğer histolojisi (Oil red O; X400).....	52
6.3: Kontrol Grubuna ait karaciğer histolojisi (Oil red O; X1000).....	52
6.4: Alkol Grubuna ait karaciğer histolojisi (H-E; X400).....	53
6.5: Alkol Grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O; X400).....	53
6.6: Alkol Grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O; X1000).....	53
6.7: Alkol+Isırgan grubu grubunun karaciğer histolojisi (H-E; X400).....	54
6.8: Alkol+Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O; X400).....	54
6.9: Alkol+Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O; X1000).....	54
6.10: Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (H-E; X400).....	55
6.11: Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O X400).....	55
6.12: Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O X1000).....	55

ÖZET

ISIRGAN TOHURLU BİTKİ KARİŞİMİNİN ALKOLE BAĞLI KARACİĞER HASARLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL VE HİSTOKİMYASAL ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada deneysel olarak, sıçanlarda oksidatif stres oluşturan ve kronik kullanımda karaciğere toksik etkisi bilinen etanole karşı, ısırgan tohumlu bitkisel karışımın ne derece koruyucu etkileri olduğu araştırıldı.

Çalışmada 20 adet 4 aylık Wistar albino dişi sıçan kullanıldı. Çalışmamızdaki bütün sıçanlara deney süresince, normal standart yem verildi. Sıçanlar dört eşit gruba ayrılarak 10 haftalık uygulama yapılmıştır. Uygulama yöntemi oral yoldan ağıza bırakıp içirilmesi yöntemidir. 1. grup Kontrol grubudur. 2. grubumuz Alkol grubudur, sıçanlarda kronik alkolizm oluşturmak amacıyla %30'lik etanol verildi. 3. grup Alkol+Isırgan tohumlu bitkisel karışım grubudur, bu gruba bitkisel karışım ekstaktı ve %30 luk Alkol oranı olacak şekilde verildi. 4. grup Isırgan tohumlu bitkisel karışım grubudur, bu gruba bitkisel karışım ekstaktı uygulanmıştır. On haftanın sonundaki ilk 24 saat içinde tüm hayvanlardan anestezisi altında uygun teknikler kullanılarak kan ve karaciğer örnekleri alındı. Alınan kanlarda, serum AST ve ALT değerleri "Roche Cobas 6000" cihazında enzimatik yöntemlerle çalışıldı. Alınan karaciğer örneklerinin histolojik incelenmesi sonucu etanol alan grubun, makroveziküler yağlanma, mikroveziküler yağlanma, sinozoidal hücrelerde artış ve parenşim hücrelerinde şişme görüldü. Alkol+Isırgan tohumlu bitkisel karışım grubunun normal parenşim yapısına sahipken, mikroveziküler yağlanma, hepatositlerde şişme tespit edilmesine rağmen alkol grubuna göre çok azdı. Kontrol grubundaki karaciğer örneklerinde ise normal parenşim yapı gözlemlendi. Isırgan grubumuzda kontrol grubuna benzerdir. Oil red O ile boyanan dokularda Alkol grubunun hepatositlerinde çok yoğun bir yağlanma gözlemlendi. Alkol+Isırgan tohumlu bitkisel karışım grubunda hepatositlerinde yağlanma çok azdı bazı bölgelerde hiç yoktu. Isırgan tohumlu bitkisel karışım Alkole bağlı karaciğer hasarını engellediğini histolojik olarak tespit ettik. Biyokimyasal olarak ALT ve AST enzim değerleri ile SPSS analizi yapıldı. Analiz sonucunda $P>0,005$ olduğundan dört grup arasında bir anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Sonuç olarak ısırgan tohumlu bitkisel karışımının alkolik karaciğer koruyucu etkisini histolojik olarak tespit ettik.

Anahtar Kelimeler: Isırgan tohumlu bitkisel karışım, Alkol, Karaciğer, Histokimya, Biyokimya

SUMMARY

HISTOCHEMICALLY AND BIOCHEMICALLY INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF NETTLE SEED HERBAL MIXTURE ON ALCOHOL-DAMAGED LIVER

It was experimentally investigated in this research how protective Nettle Seed Herbal Mixture is against ethanol which causes oxidative stress in rats and causes toxic effects in the liver with chronic use.

20 4-month-old female Wistar male rats were used in the study. All rats in the study were fed with normal pellet Mouse food during the experiment. 10 week application was done by dividing the rats into four equal groups. Application method is orally drinking method. First group is the control group. The second group is the alcohol group. This group was given 30% ethanol in order to cause chronic alcoholism. The third group was the alcohol+ Nettle Seed Herbal Mixture group and the rats in this group were given liquid, which was 30% ethanol,+ Nettle Seed Herbal Mixture extract. Fourth group was Nettle Seed Herbal Mixture extract group and the rats in this group were given liquid, which was Nettle Seed Herbal Mixture extract. At the end of ten weeks, within the first 24 hours, blood and liver species were obtained from the animals under anesthesia using appropriate techniques. Serum ALT and AST values of the obtained blood samples were studied by enzymatic methods in "Roche Cobas 6000" device. At the end of the histological investigation of obtained liver samples, it was observed that ethanol intaking group showed macrovesicular and microvesicular fat, increase in the sinusoidal cells and swelling in parenchyma. The preparations of the third group, the alcohol+ Nettle Seed Herbal Mixture group, showed normal parenchymal cells, microvesicular fat and swelling of the hepatocytes, despite the two groups are less than the liver parenchymal cells of the control group were normal. The fourth group is similar to the control group. In hepatocytes of alcohol group, the tissues stained with Oil red O were observed to have steatosis intensively. In the group of Alcohol+ Nettle Seed Herbal Mixture, steatosis of hepatocytes was very little and was missing in some areas. As a result, Nettle Seed Herbal Mixture was detected to prevent from alcohol-related liver damage histologically. Biochemically ALT and AST enzyme values and statistical analysis with SPSS programme were done. No significant difference was found between these four groups at the end of the analysis because p value was bigger than 0,005.

Consequently, we determined the alcoholic liver prevention effect of the Nettle Seed Herbal Mixture histologically.

Key Words: Nettle Seed Herbal Mixture, Alcohol, Liver, Histochemistry, Biochemistry

1. GİRİŞ

Anadolu halkının yabani bitkileri ilaç olarak kullanışı çok eski devirlere kadar uzanmaktadır. Ülkemizde yaşayan birçok insanın, bitki kullanımıyla ilgili yıllar boyu birçok tecrübeden sonra elde ettiği köklü gelenekleri bulunmaktadır. Bunlar bazen geleneksel el sanatlarında boya maddeleri, bazen de gıda katkı maddesi ve bitkilerden ilaç yapımı olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünyada olduğu gibi, ülkemizde de pek çok araştırmacı halk ilaçlarını değişik açıdan inceleyen araştırmalar yapmış ve bu ilaçların içerdiği çeşitli kimyasal maddeleri incelemiştir (Fidan vd., 2004; Kürek, 2007)

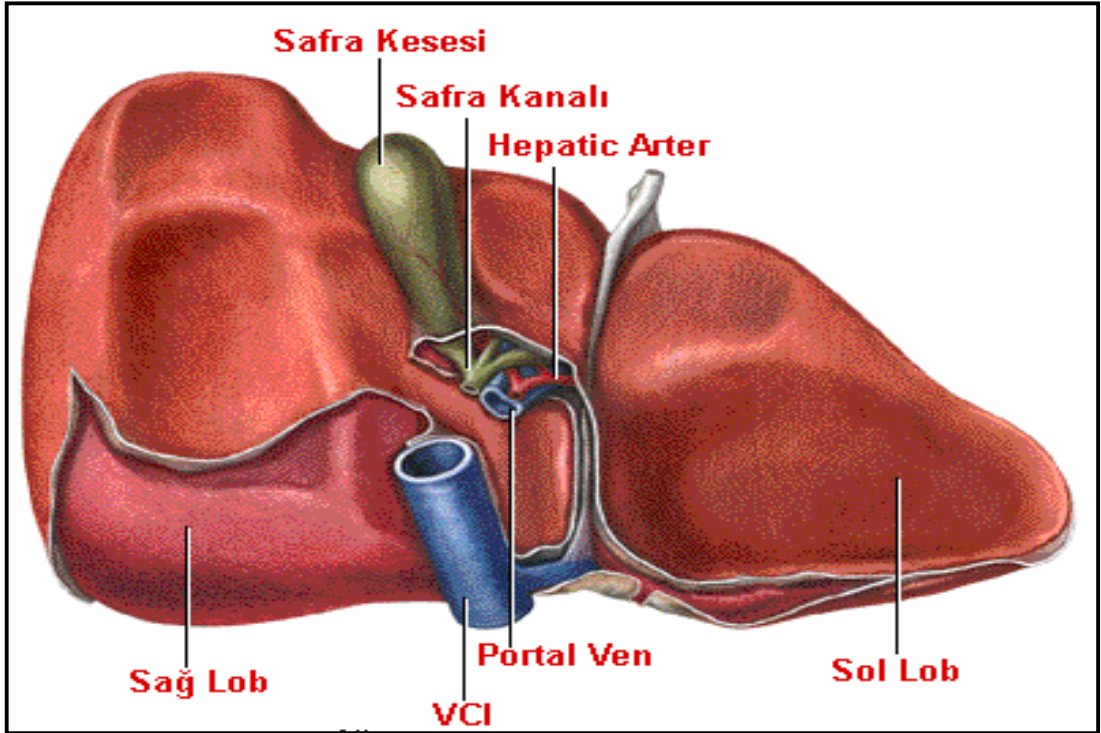
Bitkilerden drog olarak faydalanmak için günümüzde bunların doğal formlarının kültürleri yapılmaktadır. Ülkemiz üç tarafı denizlerle çevrili olması, coğrafik konumu, jeomorfolojik yapısı, farklı toprak tipleri ve iklim çeşitliliğine sahip oluşu nedeni ile değişik vejetasyon tiplerine ve zengin bir floraya sahiptir. Ülkemizde 9000 civarında bitki türü olduğu bilinmektedir (Fidan vd., 2004).

Floramızın bu nedenle zengin olmasına karşın bunlardan ekonomik olarak yeterince yararlanılamamaktadır. Türkiye florasında yetişen 3000 kadar tıbbi ve aromatik bitkiden 200 kadarı ihracat potansiyeline sahip olup bunların 70-100 kadarının ihracatı yapılmaktadır (Fidan vd., 2004)

1.1. Karaciğerin Vücudumuz İçin Önemi

Karaciğer vücudun en önemli organlarından birisidir. Karaciğerde meydana gelebilecek herhangi bir fonksiyon bozukluğu vücuttaki tüm sistemleri etkiler. Kimyasal maddeler, ilaçlar, alkol, kazalar, karaciğer tümörleri, viral kökenli karaciğer hastalıkları, karaciğere doğrudan etkili organların bozukluğundan kaynaklanan hasarlar ve cerrahi girişimler gibi çok sayıda etken karaciğer dokusunun zarar görmesine neden olabilir (Uyanoğlu, 2006). Karaciğer kendisini onarabilme yeteneği ile vücuttaki diğer organlardan daha avantajlıdır. Karaciğer çeşitli nedenlerle zarar görmesi karşısında, fonksiyonel kütlelerini tamamlama yönünde proliferasyon ve replikasyona başlayabilir (Fausto, 2000; Başoğlu vd., 2000).

Tıbbi olarak, hasar görmüş karaciğerin daha çabuk iyileştirilmesi için çeşitli ilaç uygulamaları yapılır. Ancak, birçok kimyasal ilaç tedavisinde olduğu gibi yan etkiler kaçınılmazdır. Bu nedenle, son yıllarda doğal maddelerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu maddelerin büyük çoğunluğunu doğadaki bitkiler oluşturur ve bunlar normal olarak halk tarafından kullanılır. Örneğin, karaciğer sağlığı için kullanılan ve bilimsel olarak yararları kanıtlanmış bir madde olan Silymarin, *Silybum marianum* (L.) Gaertner. bitkisinden elde edilir. Silymarin'in karaciğer rejenerasyonu üzerindeki olumlu etkileri bilinmektedir (Uyanoğlu, 2006).



Şekil1.1:Karaciğerin genel görünümü (<http://www.yeniansiklopedi.com/karaciger>)

1.2.Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer, karın boşluğunun sağ üst bölümünde, diyaframın altında, mide ve barsakların üstünde yerleşmiştir. Karaciğer, vücudun deriden sonra en büyük organı ve en büyük bezidir. Sindirim sistemine ait yardımcı bir bez olarak kabul edilir. Ağırlığı yaklaşık 1,5 kg' dır (Junqueira vd., 1998).

Karaciğer, safra kanalları yoluyla safrayı duodenuma boşalttığından ekzokrin; albumin, globulinler, fibrinojen, lipoproteinler, protrombin gibi proteinleri ve glikoz sentezlemesi ve bu maddeleri kana doğrudan doğruya vermesinden dolayı endokrin bir bezdir (Junqueira vd., 1998; Karaöz, 2002; Paker, 1986).

Karaciğer, diyaframla ve arka yüzünde abdomen duvarıyla temas eden kısımları dışında çepeçevre peritonla örtülüdür. Karaciğeri en dıştan saran bu seröz zara visseral periton adı verilir. Bu zar, tek katlı yassı bir epitel türü olan mezotelyum ve altındaki ince bir bağ dokusundan oluşur.

Peritonun altında bulunan ve organı tümüyle dıştan kuşatan elastik fibrillerden zengin bağ dokusu bulunur ve Glisson kapsülü olarak isimlendirilir. Hilus bölgesinde Glisson kapsülü içeriye doğru girer ve organı loblara ve lobüllere ayırır. Sonuçta karaciğer bu bağ dokusu bölmeleri ile, sayıları yaklaşık 1 milyonu bulan, 1 mm çapında ve 1-2 mm uzunluğunda “karaciğer lobüllerine” ayrılmış olur. Histolojik kesitlerde lobüller, bal peteği gibi yan yana dizilmiş düzensiz altıgenler biçiminde gözlenir. 4 lobdan oluşan karaciğeri lobüllere ayıran bağ dokusu insanlarda çok az geliştiğinden lobül sınırları kolayca seçilemez. Oysa, deve, domuz ve kutup ayısı gibi hayvanlarda, bu bölmeler çok iyi gelişmiştir ve lobüller düzensiz altıgenler biçiminde kolayca birbirlerinden ayrılabilirlerdir.

Lobül içindeki bağ dokusunda yalnızca retikulum lifleri bulunur. Karaciğer hücreleri ile sinüzoidler arasında yer alan retikulum lifleri karaciğer parankimasını taşıyıcı görev yapmaktadır. Lobüllerin birbiriyle birleştiği bölümlerde bağ dokusu artarak, enine kesitlerde üçgen biçiminde seçilen alanlar oluşturur. Arter, ven ve safra duktusunu içeren bu bağ dokusu alanlara portal alan-Glisson üçgeni ya da Kiernan aralığı denir (Erbengi, 1994; Erkoçak, 1982; Gartner ve Hiatt, 1997; Karaöz, 2002; Parker, 1986).

1.2.1.Karaciğer Lobülleri

Karaciğerin parankiması hepatositlerden oluşur. Hepatositlerin parankima içerisinde nasıl düzenlendikleri ve bunun anatomik ve fonksiyonel geçerliliği günümüzde de tartışma konusudur. Karaciğer parankiminin düzenlenmesiyle ilgili kabul edilen üç önemli model vardır.

Klasik karaciğer lobülü

Klasik karaciğer lobülü ortada vena sentralis, vena sentralisten ışınal biçimde periferiye uzanan karaciğer hücre kordonları ve bu kordonların arasında yer alan sinüzoidlerden oluşur. Tam kapsülün altında kalan lobüllerin dışında, çoğunun apeksi hilusa yöneliktir. Lobüllerin sayısı yaklaşık 1 milyondur. Enine kesitlerde lobül altıgen şeklinde seçilir. Lobülün her köşesinde Glisson üçgeni ortasında vena

sentralis bulunur. Vena sentralis çevresinde ışınsal seyirli birbirleriyle anastomozlaşan, dallanan hepatositler bir epitelyal ağ (retikulum) oluşturduklarından karaciğer için retiküler bez terimi de kullanılmaktadır.

Tek bir hücre kalınlığındaki karaciğer hücre kordonlarına Remark kordonları ya da karaciğer hücre kordonları denir. Karaciğer hücre kordonları arasında bulunan sinüzoid tipi damarlar safra yolları ve retikulum lifleriyle birlikte retiküler bir düzenleme gösterirler.

Vena sentralis çevresinde yer alan karaciğer hücrelerinin oluşturduğu altıgen şekilli bu yapı birimine klasik karaciğer lobülü denir. Bu model karaciğerin mikroskopik incelemesinde bir kolaylığa yol açmasına karşın, karaciğer fonksiyonlarını tam açıklayamamaktadır (Erbengi, 1994; Gartner ve Hıatt, 1997; Karaöz, 2002; Paker, 1986).

Portal lobül

Bu model Mall'ın "portal lobül" olarak adlandırıldığı modeldir. Özellikle bazı hastalıkların, karaciğer parankiminin spesifik bölgelerinde dejenerasyona yol açması birçok araştırmacıyı başka yapı modellerini tasarlamaya yöneltmiştir. Portal lobül tanımlamasında safra salgılanışı göz önüne alınmıştır. Portal aralık içindeki bir safra duktusuna safra veren komşu karaciğer hücreleri, portal lobül olarak adlandırılır. 3 klasik karaciğer lobülünün vena sentralislerinin birleştirilmesiyle portal lobülün sınırları çizilir. Portal lobül modeli, klasik karaciğer lobülüne göre daha fonksiyonel bir model olmasına karşın, bazı patolojileri yine de açıklayamamaktadır (Erbengi, 1994; Karaöz, 2002; Paker, 1986).

Portal asinüs (Hepatik asinüs)

Bu modeli Rappaport ve arkadaşları geliştirmiştir. Diğer iki modele karşın daha fonksiyonel ve daha fazla kabul görmüş bir modeldir. İki komşu klasik lobül içinde aynı interlobüler venden kanlanan hücre grupları hepatik asinüs olarak tanımlanır. Lobüller arasında ilerleyen interlobüler ven komşu iki lobüle dağılmaktadır. Sınırları 2 vena sentralis ve 2 portal aralığın birleştirilmesiyle çizilir. Enine kesitlerde baklava biçimindedir.

Çok fonksiyonlu olan organlarda, değişik görevi olan hücreler arasında sitolojik farklılıklar bulunur. Karaciğerde ise hepatosit, birçok değişik görevi bir arada yapabilmektedir. Ancak hepatositlerin kanlanmasındaki özellik dikkate alınınca

fonksiyonel açıdan hepatositleri 3 zona ayırmak mümkündür (Erbengi, 1994; Karaöz, 2002; Paker, 1986).

Periferik zon (Zon I)

Kan damarları lobülün periferinden merkeze doğru ilerlediğinden, glikojen, oksijen ve diğer maddelerden en zengin kanla karşılaşan periferik hücreler, sürekli aktivite gösterirler. Kandaki zararlı maddelerden de ilk etkilenen bu hücrelerdir. Glikojen en çok bu hücrelerde depolanır, daha az olarak da iç zonlarda birikir. Ancak açlık durumunda glikojenin yeniden kana verilmesi söz konusu olduğunda ilk önce sentral hücreler glikojenini boşaltmaktadır. Sentral zondaki hücrelerde glikojen tükenene kadar diğer zonlardaki hücrelerden glikojen verilmez (Aksoy, 2007).

Zon I ayrıca glukoneogeneze daha aktiftir ve diğer bölgelere göre daha fazla alkalin fosfotaz ve transaminaz içerir (Aksoy, 2007).

Ara zon (Zon II)

Periferik ve sentral zon arasında kalan aktivitesi değişen bir zondur.

Santral zon (Zon III)

Vena sentralis çevresindeki dar bir bölgeyi oluşturan dinlenme evresindeki hücrelerdir. Hücrelerin organelleri diğer zonlardaki hücrelerden daha az gelişmiştir. Bu bölgedeki hücreler, özellikle düz endoplazmik retikulumdan zengindir. Karaciğerde patolojik ve fizyolojik yağ birikimi santral zondaki hücrelerde başlar. Diet yetersizliği gibi bazı durumlarda ise yağ depolanması periferik zonda daha fazla olur. Neden ortadan kalkınca depo yağ da kaybolabilir. Santral zonda, ilaç metabolize edici enzimler en yüksek yoğunlukta. Bu bölge viral, toksik ve anoksik karaciğer hasarına en çok maruz kalan bölgedir. (Karaöz, 2002; Paker, 1986)

1.2.2.Hepatositlerin Histolojik Özellikleri

Hepatositler, karaciğer sinüzoidlerinin arasında düzensiz tabakalar şeklinde sıralanmış olan ve yaklaşık 20-30 µm çapında polihedral (çok yüzeyli) parankim hücreleridir. Karaciğer hücre popülasyonunun %80'ini meydana getirirler (Erbengi, 1994).

Santral vende lobülün periferine doğru ışınal şekilde uzanan tek ya da iki hücre kalınlığında hücre kordonları oluştururlar (Aşıcıoğlu, 2005; Azaz vd., 2004).

Hepatositlerden oluşan hücre kordonları arasında kalan boşluklarda da sinüzoidal kapillerler bulunmaktadır (Erbengi, 1994).

Genellikle merkezde yerleşik tek çekirdeğe sahiptirler fakat, iki ve çok çekirdekli hücrelere de sıklıkla rastlanmaktadır ve hücrelerin yaklaşık %20 kadarı iki çekirdeklidir. Çoğunlukla ribozomal RNA yapımında görev alan bir veya daha fazla yapıda çekirdekçikleri vardır (Azaz vd., 2004). Hematoksilin eozinle (H&E) boyanmış kesitlerde, çok sayıda mitokondri ve bir miktar düz endoplazma retikulumunun bulunması nedeniyle hepatositin sitoplazması eozinofiliktir (Editorial, 1999). Bir karaciğer epitel hücresinin üç işlevsel yüzeyi vardır.

1. Sinüzoidlere bakan yüzü,
2. Safra kanalikülüne bakan yüzü,
3. Komşu hepatosite sıkıca temas eden yüzü

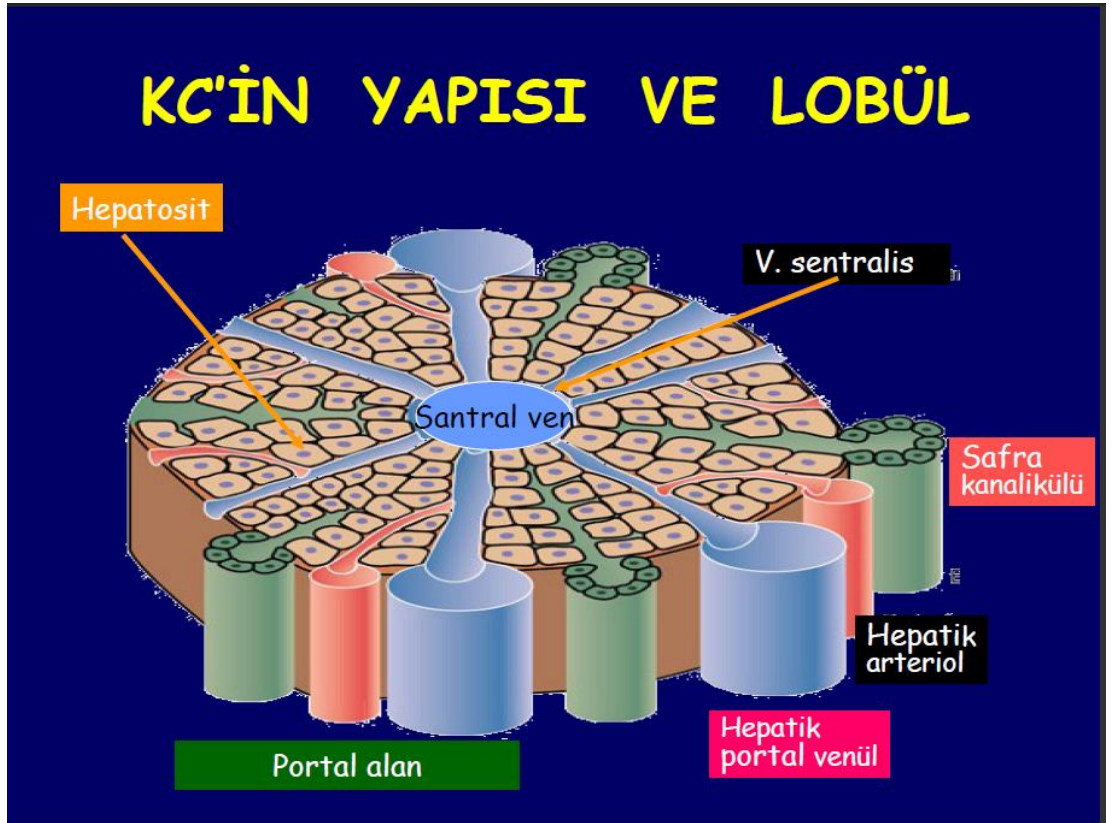
Hepatositlerin sinüzoidlere bakan yüzünde, çok sayıda düzensiz şekil ve büyüklükte mikrovilluslar bulunur. Bu yapılar hücrenin salgılama ve emilim alanını yaklaşık altı kez artırırlar (Aşıcıoğlu, 2005; Erkoçak, 1982).

Hepatosit ile sinüzoidleri döşeyen endotel hücreleri arasındaki boşluğa Disse aralığı denir (Aşıcıoğlu, 2005). Bu aralıkta hepatositlerin mikrovillusları bulunur (Editorial, 1999). Sinüzoidlerdeki kan endotel duvarından kolayca geçer ve hepatosit yüzeyi ile temas eder. Aynı zamanda hepatositte sentezlenen moleküller (Örn: lipoproteinler, albumin, fibrinojen, protrombin ve koagülasyon faktörleri V, VII, IX gibi) disse aracılığıyla sinüzoidlerdeki kana geçer (Karaciğerin endokrin özelliği) (Editorial, 1999; Fickert ve Zatloukal, 2000).

Disse aralığında yerleşik olan İto hücreleri olarak da adlandırılan karaciğer yıldızlı hücreleri bulunur. Bu hücreler mezenşimal kaynaklı olup, yağ içerirler ve A vitaminini lipid damlacıkları içinde retinil esterler halinde depolama kapasitesine sahiptirler (Erbengi, 1994). Patolojik durumlarda, İto hücreleri kollajen üreten hücrelere dönüşürler. Tip I kollajenin sentezine ve salınımına ek olarak, laminini, proteoglikanları ve büyüme faktörlerini salgılamaktadırlar (Fickert ve Zatloukal, 2000). Organel yönünden zayıftırlar. Uzantıları komşu hepatositlerle ilişki kurar. Ancak bağlantı birimleri içermezler (Aşıcıoğlu, 2005).

Safra kanalikülünü oluşturan yüz, safra kanalikülünün ilk salgılandığı bölümün duvarlarını yapar (Aşıcıoğlu, 2005). Karşılıklı olarak komşu karaciğer hücre membranlarının kıvrılmasıyla safra kanalikülü oluşur. Bu yüzde de kısa mikrovilluslar bulunur. Safra salgılanıp salgılanmamasına göre mikrovillusların boyu değişiklik gösterir. Salgı olmadığı zaman mikrovillusların boyu artar ve lümeni kapatır (Erkoçak, 1982).

Komşu hücre ile sıkı ilişkide olan yüzde, özellikle safra kanalikülünün hemen altında ve üstünde kalan bölgelerde hücreler arasında zonula okludens tipi sıkı bağlantı birimleri bulunur. Böylece safra kanalikül dışına sızması önlenmiş olur. Ayrıca hücrelerin fizyolojik aktivitelerinin koordinasyonunda önemli olan, hücrelerarası iletişim bölgelerinden gap junctionlara da hepatositlerde sıkça rastlanır (Aşıcıoğlu, 2005; Erbeni, 1994; Erkoçak, 1982).



Şekil 1.2: Karaciğer lobül yapısı (Dolar, 2002)

1.2.3. Hepatositlerin Sitolojik Özellikleri

Nükleus

Hepatositler bir ya da iki tipik çekirdekçik içeren bir ya da iki yuvarlak çekirdeğe sahiptirler. Çekirdeklerin bazıları poliploiddir; yani haploid kromozom sayısının çift katlarında kromozom içerirler (Editorial, 1999). Erişkin karaciğerinde mitoz nadirdir. (her 15.000 hücrede bir mitoz) fakat hasar sonrası tamir döneminde bol mitozla rastlanır (Erkoçak, 1982).

Mitokondri

Her hücrede yaklaşık 2000 mitokondri bulunmaktadır. Sferik ya da oval biçimli mitokondrilerin kristalları çok sayıdadır. Mitokondriden zengin oluşu hücrenin yüksek metabolik aktivitesine işaret eder (Erkoçak, 1982).

Endoplazmik Retikulum

Hepatosit, plazma proteinlerinin sentezinde yer alan kaba endoplazmik retikulumun (GER) yanı sıra, glikojen, lipit sentezi, detoksifikasyon mekanizmaları ile ilişkili olan düzgün yüzeyli endoplazmik retikulumu (AGER) içerir (Fickert ve Zatloukal, 2000). İlaçlar, toksinler ya da metabolik uyarıların etkimesi sonucunda hepatosit sitoplazmasında en baskın organel AGER olur. Fenobarbital, etanol, anabolik steroidler ve progesteron, bazı kanser ilaçları uygulandıktan sonra AGER hipertrofisi gelişir ve bu ilaçların bağlanmasıyla ilgili enzim aktiviteleri fazlalaşır. Diğer yandan (CCL₄), 3,4-benzopyrene gibi hepatotoksik ajanların metabolizması AGER'de yapılır (Aşıcıoğlu, 2005; Erkoçak, 1982). AGER, karaciğer hücresi tarafından alınan moleküllere hemen reaksiyon oluşturan kararsız bir sistemdir. Hepatositte kaba endoplazmik retikulum (GER) sitoplazma içinde saçılmış kümeler oluştururlar, bunlar bazofilik cisimler olarak adlandırılır. Bu yapılardaki poliribozomlarda birkaç tip protein (örn: albümin, fibrinojen, protrombin) sentezi yapılır. Bu proteinlerin sentezi GER'de bulunan poliribozomlarda gerçekleşir. Genellikle hepatositler proteinleri salgı granülleri halinde sitoplazmalarında depolamaz, sürekli kan dolaşımına verirler (Editorial, 1999).

Hepatositler kandan glikoz fazlasını alarak glikojen şeklinde sitoplazmasında depolarlar. Glikojen adı verilen bu polisakkarit, elektron mikroskopik düzeyde yapılacak olan incelemelerde GER kümeleri içinde toplanmış, kaba ve elektron yoğun granüller biçiminde görülür. Glikojeni görebilmek için Best Karmin ve PAS (Periodic Acid Schiff) uygun boyalardır (Erbengi, 1994). AGER'de aynı zamanda

hidrofobik bilirubin, glukuronik asitle konjuge edilir ve suda eriyebilen bilirubin glukuronid olur. Bilirubin glukuronid oluştuktan sonra sitoplazmadan difüzyon yolu ile safra kanalikülüne geçer ve oradan da safra içerisine salınır (Editorial, 1999; Fickert ve Zatloukal, 2000).

Golgi Kompleksi

Çok sayıdadır ve safra kanaliküllerine yakın yerleşimlidir (Erkoçak, 1982). Sayıları hücrede 50'ye varır. Bu organelin işlevi arasında lizozomların oluşturulması ve plazma proteinlerinin (albumin), glikoproteinlerin (transferin) ve lipoproteinlerin (çok düşük dansiteli lipoproteinler-VLDL) salgılanması vardır (Editorial, 1999).

Lizozom

Lizozomlar pigment granülleri (lipofusin), kısmi olarak sindirilmiş sitoplazmik organeller ve myelin şekillerin çeşitli miktarlarını içerir (Aşıcıoğlu, 2005). Hepatosit lizozomları ayrıca ferritinin yıkım ürünü olan ve eriyebilir ferritin ile eriyemeyen hemosiderin şeklinde bulunan demiri depolamaktadırlar (Fickert ve Zatloukal, 2000).

Peroksizomlar

Hepatositler hücre başına yaklaşık olarak 200-300 peroksizom içerir (Aşıcıoğlu, 2005). Bir peroksizom, değişik metabolik yollarda kullanılacak olan yaklaşık olarak 50 adet enzimi içermektedir (Fickert ve Zatloukal, 2000). Bunlardan bazıları alkol dehidrogenaz, katalaz ve D-amino asit oksidazdır. Peroksizomlar, genel sitoplazmik metabolik aktivitenin bir ürünü olan H₂O₂'nin (su) yıkım yerleridir (Aşıcıoğlu, 2005). Hidrojen peroksitin toksik bir madde olması nedeniyle, katalaz enzimi bu ürünü oksijen ve su açığa çıkartacak şekilde yıkıma uğratar. Bu katalitik olay, hepatositlerde ve böbrek hücrelerinde meydana gelmektedir (Fickert ve Zatloukal, 2000). Bundan başka peroksizomlar, pürinlerin (AMP, GMP) fazlasının ürik aside yıkılması, kolesterol, safra asitleri ve miyelin yapımında kullanılan bazı lipidlerin sentezine katılmaktadır (Editorial, 1999).

Lipid Damlacıkları

Hücresel yapı ya da sayıları farklılıklar gösterir. Karaciğer hücresinde lipid glikojen, AGER miktarının değişik oranlarda bulunuşu hepatositin fonksiyonunun çok yönlü olduğunu gösterir. Lipid damlacıklarını Sudan boyama metodu ile göstermek mümkündür (Erbengi, 1994; Erkoçak, 1982).

Sinüzoidler

Portal aralık çevresinde karaciğer hücreleri, bir hücre kalınlığında periportal bağ dokusuna dayanmış bir tabaka şeklinde (sınırlayıcı plak) bulunur. Bu plak hücreleri arteria hepatica, vena porta ve safra duktusunun dallarıyla delinmiştir ve hücreleri santral karaciğer hücrelerinden biraz daha küçüktür (Aksoy, 2007).

Portal aralıkta bulunan vena portanın ve arteria hepaticanın dalları kanlarını karaciğer hücre kordonları arasında bulunan düzensiz şekilli, özel, her yerde rastlanan kapilerden daha büyük ve sinüzoid adı verilen damar sistemine boşaltırlar.

Sinüzoidler içerisinde hem arter, hem de ven kanı bulunmaktadır. Sinüzoidal damarlar birbirleriyle anostomozlaşarak karaciğer hücre kordonlarını birbirinden ayıran bir kan labirenti oluşturduktan sonra klasik lobülün ortasında bulunan vena sentralise açılırlar. Vena sentralis duvarı birçok sinüzoidin açılmasından dolayı çok sayıda delik taşır ve çevresindeki karaciğer hücreleri de kesintili bir duvar oluştururlar (Aksoy, 2007).

Sinüzoidler yapısal olarak kapillerlerden daha geniş çaptadırlar. Lümen seyri boyunca genişleyip daralarak değişimler gösterirler. Kapiller endotelinde lümeni döşeyen endotel hücrelerinin sınırları gümüşleme ile gösterilebilirken sinüzoid endotel hücreleri gösterilemez. Kapiller çevresinde bağ dokusundan oluşmuş ayırıcı bir tabaka bulunur. Sinüzoidler ise arada bağ dokusu olmaksızın (yer yer ince retikulum lifleri bulunur) karaciğer hücreleri ile temastadır. Sinüzoid duvarında endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, Ito hücreleri olmak üzere 3 tip hücre bulunur (Gartner ve Hiatt, 1997; Karaöz, 2002; Paker, 1986).

Endotel Hücresi

Endotel hücrelerini çok ince retikulum liflerinden oluşan bir bazal membran çevreler. Bazal membran bazı bölgelerde kesintili olup, bazı bölgelerde hiç bulunmaz. Endotel hücreleri aralıklı olarak yerleşirler. Böylece sinüzoid duvarında büyük aralıklar, pencereler bulunur. Nadiren sıkıca yan yana gelen endotel hücrelerine rastlanır. Yassı ve koyu boyanan nükleusları vardır. Sitoplazma az olduğu için, organelleri de azdır. Sitoplazmalarında küçük mikropinositik veziküller bulunur (Karaöz, 2002; Paker, 1986).

Kupffer'in fagositik yıldız hücresi

Sinüzoidleri döşeyen endotel hücrelerinin arasında ya da lümene bakan yüzünde tutunmuş olarak başka bir hücre tipine daha rastlanır. Kupffer hücreleri olarak bilinen bu hücreler, organizmada yaygın bir dağılım gösteren mononükleer fagositik sistemin üyesidirler. Kemik iliği kökenlidirler ve hepatik makrofajlar olarak da bilinirler. Başlıca fonksiyonları, dolaşımdaki zararlı ajanları ve ömrünü tamamlayan yaşlı eritrositleri ortadan kaldırmaktır. Ayrıca, immünmodülatör fonksiyonları olan çeşitli sitokinleri salgırlar. Bu hücreler endotel hücrelerinden daha büyüktür. Nükleusları oval ve büyük, nükleolusları çok belirgindir. Nükleusun soluk boyanması ve biçimi endotel hücrelerinden kolayca ayırt edilmesini sağlar. Endotel hücrelerinin lümene bakan yüzüne komşu olan bu hücrelerin düzensiz sitoplazmik uzantıları yıldız biçimini kazandırır. Kupffer hücrelerinin ne birbirleriyle ne de endotel hücreleriyle sitoplazmik bağlantısı yoktur. Sitoplazmik uzantıları endotel hücreleri arasındaki pencerelele doğru uzanır.

Fagositik hücreler olduğundan sitoplazmalarında bol lizozom ve fagositik ürünler (eritrosit parçalanmasından açığa çıkan demir, pigment gibi) bulunur.

Peroksidaz reaksiyonu pozitifdir, böylece peroksidaz reaksiyonu negatif olan endotel hücrelerinden kolayca ayrılabilir. Yine boya partiküllerini içeren enjeksiyonlar sonucu fagositik özellikleri olan bu hücreleri belirlemek kolaydır. Organel bakımından zengin hücrelerdir (Aksoy, 2007).

Diğer makrofajlar gibi kemik iliğinden tüerler, ancak deneysel olarak uyarılardan sonra mitozla çoğaldıkları da görülmüştür. Bazı durumlarda Kupffer hücresi sinüzoid duvarından ayrılarak vena hepatica yoluyla dolaşıma girer. A vitamini depolayabilirler (Karaöz, 2002; Paker, 1986).

İto hücreleri

Disse aralığında İto hücreleri olarak da bilinen yağ depolayıcı hücreler yer alır. Bu hücrelerde A vitamininden zengin lipid çökeltileri bulunur. Sağlıklı karaciğerde bu hücreler, retinoidlerin alınması, depolanması ve salgılanması, bazı ekstrasellüler matriks proteinlerinin ve proteoglikanların sentezi ve salgılanması, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin salgılanması ve prostoglandinler, tromboksan A₂ gibi

çeşitli düzenleyici maddelere yanıt olarak sinüzoid lümen çapının düzenlenmesi gibi bazı işlevler görür.

İto hücreleri endotelin altında ve sinüzoidlerde uzun sitoplazmik uzantıları bulunan, hepatositler arasındaki bağlantıyı sağlayan hücrelerdir. Aynı zamanda birbirleriyle ve sinir sonlanmalarıyla da bağlantı yaparlar.

İto hücrelerinin elektron mikroskopik görünümü; çekirdeği sıkıştırmış yağ damlacıkları, kısmen gelişmiş GER, hücre iskeletini oluşturan yapılarda azalma, az sayıda mitokondriyon ile karakterizedir. İto hücreleri hematoksilin-eozin ile boyanmış kesitlerde tanımlamak zordur. Özel boyama olarak toluidin mavisi, bazik fuksin, Oil red O gibi histolojik boyalar kullanılarak bu hücreleri gözlemek mümkündür. Gümüşleme tekniği ile insan karaciğer doku kesitlerinde sentrolobüler alanlarda çok sayıda İto hücresi gözlenmiştir. İto hücrelerinin gözlenmesi A vitamininin boyanmasına bağlıdır.

İmmunohistokimyasal olarak ito hücreleri, hücre iskeletini oluşturan hücrelere antikor olarak tanımlanabilirler. Sıçanlarda desmin, İto hücreleri için iyi bir tanımlayıcıdır. Normal insan karaciğerinde düz kas α -aktini pozitif olan ito hücreleri bulunmuştur. Mezenşimal kaynaklı birçok hücrede olduğu gibi, insan ve sıçan yıldız hücrelerde vimentin tanımlanmıştır. Sıçan ito hücreleri gliyal fibrillar asidik protein (GFAP) içerir ve bu astrositlerdeki ara filamentlerin ana bileşenidir. İto hücrelerinde nöral hücre adezyon molekülü (N-CAM) de bulunmaktadır.

İto hücrelerine “karaciğer özel perisitleri” de denmektedir. Çünkü bunlar astro gliyal ve nöral kökenli hücre işaretleyicilerine sahip olması ile çarpıcı benzerlik gösterir. Ara filament ekspresyon örnekleri dikkat çekicidir.

İto hücrelerinin normal işlevleri yanında akut ve kronik karaciğer hastalığı, A vitamini intoksikasyonu ve karaciğer tümörlerinde değişik işlevleri vardır. Kronik karaciğer hastalığı, fibrozis ve sirozda, İto hücrelerince birçok miyofibroblast benzeri hücre gözlenir. İto hücreleri, karaciğer fibrogenezinde önemli role sahiptir. Kronik A vitamini intoksikasyonunun erken döneminde, İto hücrelerinin sayısında ve hücre içi yağ damlacıklarının miktarında artış vardır. Hepatosellüler karsinoma ve metastik karsinomada düz kas α -aktini pozitif İto hücrelerinin sayısı artar (Gartner ve Hiatt, 1997; Karaöz, 2002; Paker, 1986).

Disse aralığı-perisinüzoidal aralık-subendotel aralık

Karaciğer hücreleri ile sinüzoid duvarı arasında dar bir aralık bulunur. Bu aralığa Disse aralığı-perisinüzoidal aralık-subendotel aralık adı verilmektedir. Bu aralık elektron mikroskopunda karaciğer hücresi ile endotel arasında seçilebilir ve burada hepatositlerin mikrovillusları bulunur. Disse aralığında retiküler fibriller ve kollajen fibriller bulunursa da gerçek ara madde bulunmaz. Sinüzoidlerdeki kan endotel hücreleri arasından kolayca sızarak bu aralığa geçer ve hepatosit yüzeyi ile temas eder. Buradaki sıvı plazma niteliğinde olmasına karşı Disse lenfatik aralık değil, interstisyel aralıktır. Bununla beraber Disse aralığı karaciğerde çok miktarda yapılan lenf yapımında önemli rol oynar (Paker, 1986).

Disse aralığı lobülün periferinde Mall aralığı ile devam eder. Mall aralığı portal aralıktaki safra duktusu ve damarların çevresinde bulunur. Bu aralıktan kör uçlar halinde karaciğer lenf damarları başlar.

Disse aralığı içinde hem endotel hücresinden, hem de Kupffer hücresinden türeyebilen az sayıda perisinüzoidal hücreler bulunur. Perisinüzoidal hücreler, Disse aralığında tipik fibroblast bulunmadığından, retiküler ve fibrojen fibril sentezleyebilirler. Disse aralığı içindeki fibrillerin gelişim yeri bazı araştırmacılara göre de endotel hücreleridir. Perisinüzoidal hücrelerin sitoplazmalarında yağ damlaları bulunur. Fizyolojik önemleri ise tam olarak bilinmemektedir. Fagositik değildir. Fötal karaciğerde bu hücreler olasılıkla hemopoiezisi sağlayan stem cell olarak görev yapar.

Perisinüzoidal hücreler en çok intermediet ve periferik zonda bulunur, santral zonda az sayıdadır (Paker, 1986).

1.3.Karaciğerin Histofizyolojisi

Karbonhidrat metabolizması

Karaciğer, hipofizin ön lobu ve sürrenal korteks ile birlikte karbonhidrat metabolizmasının her evresinde rol alır. Karaciğer glikoz, fruktoz ve galaktozu glikojene çevirerek depo eder (glikojenezis). Ayrıca alınan karbonhidratların fazlasını depo edilmek üzere yağa çevirir. Gıda alınmadığı hallerde ya da kan şekeri düştüğünde, karaciğer glikojeni parçalayarak enerji gereksinimini karşılamak üzere kan glikozunun normal kalmasını sağlar (glikojenolizis). Hepatositler, lipidlerin

gliserol parçalarını ve aminoasitleri glikoneogenezis denilen enzimatik bir yolla glikoz haline dönüştürür. Tokluk durumunda karaciğer glikojeni glukoza çevirerek kırmızı kan hücreleri ve santral sinir sistemi hücreleri gibi kendi sentez depoları olmayan hücelere gönderir (Karaöz, 2002; Wallach, 2000; www.geocities.com/pakizedemirkalem/shac3c25.htm).

Protein Metabolizması

Karaciğer protein metabolizmasında da önemli rol oynar. Karaciğer, birçok plazma proteinini sentezler. Bunlar; taşıma ve bağlanma proteinleri (albumin, transferrin, seruloplazmin, haptoglobulin), proteaz inhibitörleri (antitrombin III, alfa 1–antitripsin), hemostaz proteinleri (protrombin, fibrinojen) ve doku enflamasyon proteinleridir. Kısaca, bütün plazma proteinleri, gama globulinlerin bir bölümü dışında, karaciğer hücrelerinde yapılırlar. Geri kalan gama globulinler antikordlardır ve başlıca lenfatik dokuda plazma hücelerinde yapılırlar. Karaciğerde plazma proteinlerinin yapım hızı günde maksimum 15-50 gram olabilir. Bu nedenle vücutta plazma proteinlerinin yarısı kaybolursa bile bu miktar bir iki haftada yerine konabilir. Plazma proteinlerinin azalması karaciğer hücrelerinde mitozu hızlandırarak karaciğerin büyümesine yol açar.

Albuminin çoğu karaciğer tarafından üretilir ve karaciğer fonksiyonunu gösterir. Karaciğer hastalıklarında Ig plazma seviyeleri de değişir. Karaciğer ayrıca nitrojen metabolizmasından sorumludur. Aminoasitleri amonyak ve krebs döngüsüyle üreye çevirir. Ağır karaciğer hasarında kanda üre nitrojeni (BUN) azalır, amonyak ve aminoasitler yükselir.

Karaciğerin diğer bir görevi ise aminoasitlerin deaminasyonudur. Amino asitlerin, enerji için kullanılmadan ya da karbonhidrat veya yağlara çevrilmeden önce deaminasyonu gerekir. Vücuttaki diğer dokularda, özellikle böbreklerde az miktarda deaminasyon olsa da, karaciğerdekinin çok küçük bir yüzdesini kapsar. Karaciğerin en önemli fonksiyonlarından biri de bazı amino asitlerin sentezini yapması ve amino asitlerinden önemli kimyasal bileşikler oluşturmasıdır. Örneğin esansiyel olmayan amino asitlerin hepsi karaciğerde sentezlenebilir.

Karaciğer, üre oluşumuyla vücut sıvılarından amonyağı uzaklaştırır. Deaminasyon işlemlerinin ürünü olan büyük miktardaki amonyağa, barsaklarda bakterilerle sürekli olarak yapılıp kana absorbe edilen amonyak da katılır. Bu nedenle karaciğerin üre

yapımı yokluğunda, plazmadaki amonyak konsantrasyonu hızla yükselir ve hepatik koma ile ölüm görülür. Gerçekten, karaciğer kan akımı çok azaldığı zaman bile seyrek olarak, portal ven ve vena kava arasındaki şantlarda çok miktarda amonyak kanda birikerek çok toksik bir durum yaratır (Guyton, 2001, Karaöz, 2002; www.geocities.com/pakizedemirkalem/shac3c25.htm).

Lipit Metabolizması

Yağ metabolizması kısmen vücuttaki bütün hücrelerde yürütülse de, bu metabolizmanın bazı işlemleri başlıca karaciğerde yapılmaktadır. Karaciğerin yağ metabolizmasındaki özgün fonksiyonları şöyle özetlenebilir: vücut fonksiyonları için enerji sağlayacak yağ asitlerinin büyük bir hızla oksidasyonu, lipoproteinlerin birçoğunun oluşumu, büyük miktarda kolesterol ve fosfolipid sentezi, karbonhidrat ve proteinin yağa dönüşümü.

Enerji elde etmek üzere nötral yağlar ilk olarak gliserol ve yağ asitlerine ayrılır. Daha sonra yağ asitleri beta oksidasyonla iki karbonlu asetil köklerine ayrılır. Bunlar da asetilkoenzim A (asetil CoA) yı oluştururlar. Asetil koenzim A, sitrik asit siklusuna girerek okside olur ve büyük miktarda enerji sağlar. Beta oksidasyon vücuttaki bütün hücrelerde yapılırsa da karaciğer hücrelerinde bu olay özellikle hızlıdır. Karaciğer oluşan asetil-CoA'nın hepsini kullanamaz. İki molekül asetil CoA'nın birleşmesiyle oluşan asetoasetik asit çok kolay erir ve karaciğer hücrelerinden ekstrasellüler sıvılara geçip, bütün vücuda taşınarak dokular tarafından absorbe edilir. Dokular da asetoasetik asidi tekrar asetil-CoA'ya çevirerek normal yoldan okside ederler. Bu nedenle, karaciğerin yağ metabolizmasından büyük ölçüde sorumlu olması doğaldır.

Karaciğerde sentezi yapılan kolesterolün yaklaşık yüzde 80'i safra tuzlarına çevrilerek safraya salgılanır. Geri kalanı lipoproteinler içinde kanla vücudun tüm doku hücrelerine taşınırlar. Fosfolipidler de karaciğerde aynı şekilde sentez edilerek başlıca lipoproteinler içinde taşınırlar. Kolesterol ve fosfolipidler hücrelerde membranların, intrasellüler yapıların oluşumunda ve hücre fonksiyonları için önemli olan kimyasal maddelerin yapımında kullanılırlar.

Vücutta karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi büyük ölçüde karaciğerde gerçekleşir. Karaciğerde sentezi yapıldıktan sonra yağ, lipoproteinler içinde yağ dokusuna taşınarak depo edilir (Guyton, 2001, www.geocities.com/pakizedemirkalem/shac3c25.htm).

Vitaminlerin Depo Edilmesi

Karaciğerin vitaminleri depo etme özelliği vardır. Uzun süredir, hastaların tedavisinde karaciğerin mükemmel bir vitamin kaynağı olduğu bilinmektedir. Karaciğerde büyük miktarda depo edilen tek vitamin, A vitamindir. Ancak normal miktarlarda D vitamini ve B₁₂ vitamini de depo edilir. Karaciğer A vitamini eksikliğini on ay kadar uzun bir zaman önlemeye yetecek miktarda A vitamini, D vitamini eksikliğini üç dört ay önleyecek kadar D vitamini, en az bir yıl ya da yıllarca eksikliği önleyecek kadar da B₁₂ vitamini depo edilebilir (Guyton, 2001).

Kan Pıhtılaşması ile Karaciğerin İlişkisi

Kanda koagülasyon işleminde kullanılan maddelerin çoğu karaciğerde sentezlenir. Bu maddeler fibrinojen, protrombin, akseleratör globulin, faktör VII ve birçok öteki önemli koagülasyon faktörleridir. Karaciğerde protrombin, VII, IX ve X faktörlerin oluşumundaki metabolik olaylar K vitamini gerektirir. K vitamini yokluğunda bu maddelerin konsantrasyonu çok düştüğünden pıhtılaşma hemen hemen tamamen ortadan kalkar (Karaöz, 2002; Guyton, 2001).

Demir Depolanması

Vücutta kandaki hemoglobinde bulunan demir dışında, demirin en büyük bölümü karaciğerde ferritin şeklinde depo edilir. Karaciğer hücrelerinde, demirle az ya da çok miktarlarda birleşebilen bir protein olan apoferritin bol miktarda bulunur. Böylece vücut sıvılarında demir miktarı arttığı zaman, apoferritinle birleşerek ferritin oluşur ve gerektiğinde başka bir yerde kullanılmak üzere saklanır. Dolaşımda vücut sıvılarında demir miktarı düştüğünde ferritin demiri serbestleştirir. Böylece, karaciğerdeki apoferritin- ferritin sistemi bir demir deposu görevi yaptığı gibi kan demirinin tamponu işlevini de yürütür (Karaöz, 2002; Guyton, 2001).

İlaçların, Hormonların ve Diğer Maddelerin Karaciğer Tarafından Atılması

Karaciğerdeki çok aktif kimyasal ortamın birçok ilacı; sulfonamid, penisilin, ampicilin, eritromisin gibi zehirsizleştirerek safra ile attığı iyi bilinmektedir. Aynı şekilde iç salgı bezlerinden salgılanan tiroksin, östrojen, kortizol ve aldosteron gibi tüm steroid hormonlar da karaciğer tarafından ya kimyasal olarak değiştirilir ya da

dışarı atılır. Böylece karaciğer harabiyetinde, çok defa bu hormonlardan birinin ya da birçoğunun vücut sıvılarında birikmesi, hormonal sistemin aşırı faaliyetine yol açar. Ayrıca kandaki kalsiyumun başlıca atılma yollarından biri de safraya geçerek feçesle uzaklaştırılmasıdır (Karaöz, 2002; Guyton, 2001).

1.4.Karaciğerde Rejenerasyon

Karaciğerde rejenerasyon özelliği oldukça fazladır. Karaciğerin bir bölümünün cerrahi operasyonla çıkarılmasından ya da toksik (hepatotoksik) maddelerin verilmesinden (karbontetraklorür, kloroform gibi) kısa bir zaman sonra organ normal ağırlığını yeniden kazanır. Sıçanlarda karaciğerin %75' i çıkarılırsa bir ay içinde kaybedilen dokunun yerine konduğu görülür. İnsanlarda bu özellik biraz daha sınırlıdır.

Rejenerasyon, geride kalan sağlam hepatositlerin mitozu ve büyümeleri ile sağlanır. Yeniden restore edilen karaciğerde parankimal hücrelerin normalden büyük olduğu ve binükleer hücrelerin çoğaldığı görülür. Ayrıca interlobüler safra duktuslarının tomurcuklanıp farklılaşmalarıyla da yeni karaciğer hücreleri oluşabilmektedir.

Karaciğerde mitoz olayı kanda dolaşan şalon denen mitoz inhibitörü maddelerle kontrol edilir. Doku hasarında ya da kısmen çıkarılmasında yapılan şalon miktarı düşer, mitoz baskısı kalktığından karaciğerde hızlı bir mitoz görülür. Rejenerasyon ilerledikçe yapılan şalon miktarı artar, mitoz giderek azalır ve biter. Bu sistem kendi kendini düzenleyici bir kontrol mekanizmasıdır. Karaciğerden başka diğer dokularda da benzeri mekanizmanın bulunduğu saptanmıştır. Sürekli ya da tekrarlanan karaciğer hasarlarında, karaciğer hücre rejenerasyonu ile birlikte bağ dokusu artımı da hızlandığından giderek karaciğer bağ dokusu miktarı artar ve siroz denen patolojik tablo ortaya çıkar (Kumar vd., 2000; Paker, 1986).

Deneysel olarak deney hayvanlarına karbontetraklorür verilmesi karaciğer lobüllerinin santral zonlarında hücre harabiyetine neden olur. Nekrotik hepatositler otolizle yok edilirken, lobülün periferik zonundaki hücrelerin mitozu ile rejenerasyon başlar. 5-6 gün içinde hücresel hasar tamir edilir.

Eğer karaciğerdeki harabiyet lobülün periferinden başlamışsa (örneğin, safra duktusu tıkanması halinde, bazı hepatotoksik madde verilmesiyle) yine sağlam dokunu her yerinde mitoz görülür, ayrıca büyük ve küçük safra duktus epitellerinde aşırı mitoz

dikkat çeker. Safra duktuslarının sayısı artar. Bu duktuslar hasarlanmış periferik zondan içeriye girerek sağlam bölgedeki safra kanalikülleri ile bağlantı kurar. Böylece periferik hücrelerin harabiyeti ile kesintiye uğramış safra akımı kendine yeni bir yol bulur. Hasar devam ederse duktus sayısı daha da artar. Devam etmediği durumda ise karaciğer normal yapısını çabucak kazanır, yeni duktuslar kaybolur (Paker, 1986).

Karaciğer Rejenerasyonunda Etkili Moleküler Faktörler

Sitokinler ve büyüme faktörleri karaciğer rejenerasyonu ile ilişkili olan biyolojik uyarıcılar olup, hepatik rejenerasyonu uyarak, tetiklerler ve durdururlar.

Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), İnterleukin-6 (IL-6), Hepatocyte Growth Factor (HGF) ve Transforming Growth Factor- α (TGF- α) hepatik rejenerasyonu tetiklerken, İnterleukin-1 (IL-1), Transforming Growth Factor- β (TGF- β) ve aktivin ise başlamış olan rejenerasyonu bloke ederler (Kay ve Fausto, 1997; Ankoma-Sey, 1999; Andıran vd., 2000; Hou vd., 2003). Bunların yanında dolaylı olarak insülin, norepinefrin, gastrin, prostoglandin, E₂, kalsiyum ve D vitamini gibi komitejen maddelerin de temel mitojenler varlığında karaciğer rejenerasyonu üzerine önemli etkileri vardır (Michalopoulos, 1997; Ankoma-Sey, 1999; Andıran vd.,2000).

Hepatositlerin in vitro olarak HGF, Epidermal Growth Factor (EGF) ve TNF- α büyüme faktörlerine tam cevap verebilmesi için ortamda ilk olarak TNF- α ve IL-6 sitokinleri ile sitotoksisite engelleyici diğer ajanlara gerek vardır (Fausto, 2000; Galun ve Axelrod, 2002).

TNF- α karaciğer rejenerasyonu sırasında Kupffer hücrelerinin senteziyle oluşturulan proinflamator bir sitokindir ve serumdaki kaynağı sadece Kupffer hücreleri değil alveolar makrofajlar da olabilmektedir. Karaciğer rejenerasyonu, TNF- α üretiminin baskılanmasıyla inhibe edilmektedir. Bunun tersine TNF- α 'nın aşırı ekspresyonu sonucunda hepatositler hiperplazi göstererek, karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına göre ihtiyaçtan daha fazla artmasına neden olmaktadır. Serbest oksijen radikalleri (SOR) ve glutasyon içeriği, TNF- α 'nın hepatositler üzerine proliferatif ya da apoptatik etkilerinden hangisini uygulayacağını belirler. TNF- α 'nın bu işlevi yerine getirirken, apoptotik veya anti-apoptotik intrasellüler proteinlerin oluşumunu sağlayan bax, bcl-x, bcl-2 gibi genlerin aktivasyonu üzerine etkilidir. TNF- α 'nın inhibitörü olan bir antijen kullanılarak söz konusu genlerin aktivasyonları

durdurulabilir. Galun ve Axelrod' a (2002) göre, bu molekülün TNFR-1 ile TNFR-2 olmak üzere iki hücre yüzey reseptörü bulunur ve bu reseptörlerin bloke edilmesi durumunda TNF- α fonksiyonel durumunu yitirir. Yapılmış olan bir araştırmada, TNFR-1 eksikliğinde, farelere CCl₄ enjeksiyonu yapılarak karaciğer hasarı oluşturulmasına rağmen, hepatositlerdeki DNA sentezi inhibe olmaktadır (Yamada ve Fausto, 1998).

HGF, “scatter faktör” olarak da bilinen ve sıçan kan pulcuklarından olduğu kadar karaciğer yetmezliği olan hastaların plazmalarından da izole edilebilen bir moleküldür. HGF karaciğer rejenerasyonunun kontrol ve düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bu önemli rolü ise karaciğer rejenerasyonunda özellikle yüksek düzeyde mitojen nitelik göstermesidir. Bu molekül hem in vitro hemde in vivo şartlarda büyüme faktörü olma özelliğindedir. Rekombinant HGF, primer kültürde sıçan ve insan hepatositleri için potansiyel bir mitojendir. HGF, kimyasal hasarlı ve akut hepatitli sıçanlarda daha fazla hasarın oluşmasına engel olmak için karaciğer rejenerasyonunu uyarır. HGF karaciğerde, hepatositler haricindeki intrahepatik ve ekstrahepatik mezenşimal hücrelerde üretilir ve hepatositler üzerine mitojenik etkisi endokrin ve parakrin etkileşim şeklindedir. HGF gibi bazı büyüme faktörlerinin en önemli kaynağı pankreasın ekzokrin kısmı olduğu için, HGF parakrin mekanizmayla hepatositler üzerine etkilidir. HGF'nin mitojen etkisi sadece hepatositler ile sınırlı olmayıp farklı hücre tipleri üzerinde de benzer etkiler yapar. HGF'nin bu şekilde farklı hücrelerde benzer etkisi henüz netlik kazanmamakla birlikte, bu faktörün hücre yüzey reseptörlerinin hedef hücrelerde bulunmasından kaynaklanmaktadır. HGF transgenik farelerde aşırı üretilirse aşırı hacimli diploid ve replikasyon özelliğini devam ettirebilen hücrelerin sayısal oranları artar ve büyük bir karaciğer gelişimine neden olur (Aksoy, 2007).

IL-6 sıçanlarda karaciğer rejenerasyonunu uyarıcı önemli bir mitojen ve anti-apoptotik bir faktördür. Rejenerasyon uyarısına cevap verirken, TNF- α aktivasyonu ile etkinlik kazanan IL-6, farklı hedef hücre tipleri üzerine çok yönlü biyolojik aktiviteler gösteren pleiotropik bir sitokindir. Bu sitokin hemapoietik sistem düzenlenmesinde, lenfosit fonksiyonlarında ve hücre farklılaşmasında görev alan önemli bir mediatördür. İnflamatör sitokinlerin önemli kaynağı Kupffer hücreleri ve sinüzoidlerdeki endoteldir. Ayrıca, TNF- α , IL-6 ve HGF ile heparine bağlı EGF' nin temel kaynağı, karaciğerde parankimal olmayan hücrelerde

olabilmektedir. IL-6 sitokininin hepatosit büyümesi üzerine etkisi otokrin mekanizma ile olabilir. Ayrıca IL-6'nın karaciğeri toksik hasarlardan korumada da önemli rolü vardır.

Sıçan ve farelerde tükrük bezlerinden salgılanan EGF, hepatositler için temel bir mitojendir. EGF'nin plazmadaki seviyesi düşerse sıçanlarda hasarlı karaciğer rejenerasyonu son bulmaktadır. Bir diğer temel mitojen olan TGF- α ise EGF'den daha sonra rejenerasyona katılır. Hepatositler tarafından sentezlenen TGF- α otokrin uyarı ile etki eder.

Hücre döngüsünde yer alan ve potansiyel transkripsiyon faktörlerinden olan Signal Transducers Activators of Transcription (STAT₃)'ün aktivasyonu IL-6 sitokininin serbest kalmasına ve EGF'nin uyarısına bağlıdır. Bu açıdan hücre döngüsünün ilerlemesinde IL-6 varlığı oldukça önemlidir. STAT₃'ün hücre büyümesi, farklılaşması ve pek çok sistemde hücrelerin G1'den S fazına geçişlerinde önemlidir. Hepatositlerin G1'den S fazına geçişinde, HGF ve TGF- α büyüme faktörlerinin de varlığında STAT₃ aktivasyonu gereklidir.

Karaciğerde rejenerasyonu durduran ve büyümeye engel olan önemli sitokinlerden ikisi TGF- β ile IL-1'dir. TGF- β 'nin karaciğerde parankimal olmayan hücreler tarafından üretilir. Karaciğerde normal ya da patolojik durumların her ikisinde de bu sitokin önemlidir. Hepatositler üzerine parakrin yolla etkili olan TGF- β 'nin büyüme durdurucu özelliği ile ilgili in vitro çalışmalar vardır (Date vd., 1998; Nakamura vd., 2004). İn vitro ortamda konsantrasyonu artırılan TGF- β oksidatif strese neden olur ve daha fazla hepatosit apoptozisine yol açar (Aksoy, 2007).

IL-1 molekülü de akut faz cevabında TNF- α , IL-6 gibi oluşturulan proinflamatuvar bir sitokin olarak tanımlanır. Buna ek olarak, yine diğer sitokinler gibi çok yönlü fonksiyonları olan bir molekül olarak ifade edilir. En önemli fonksiyonu karaciğer rejenerasyonunun düzenlenmesinde büyümeyi durdurucu etkisidir. IL-1 ve TNF- α , karaciğer rejenerasyonunda apoptozise engel olarak rejenerasyonun sürekliliğini sağlayan sitokinlerdir.

Karaciğer rejenerasyonunun tetiklenmesi, durdurulması ya da kontrolünün sağlanmasında önemli tüm bu faktörlerin birbirleriyle olan karmaşık ilişkilerinin açıklık kazanması, rejenerasyonun daha anlaşılır olmasını sağlayacaktır. Karaciğerde

rejenerasyona neden olabilecek herhangi bir uyarıcının varlığında meydana gelen hücresel olaylar zinciri, rejenerasyon mekanizmasının şekillenmesine olanak sağlar (Uyanoğlu, 2006; Aksoy, 2007).

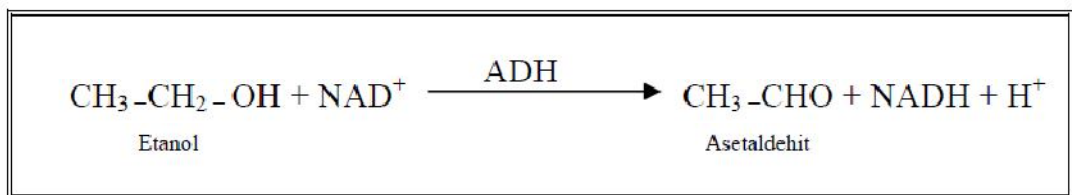
1.5.Alkol Metabolizması

Alkolik karaciğer hastalığı, uzun süreli fazla miktarda alkol tüketimine bağlı, şiddeti değişik derecede olan karaciğer hasarı ile karakterize bir tablodur. Aşırı miktarda alkol tüketimi, kişilerde karaciğer yağlanması, alkolik hepatit ve alkolik siroza kadar giden bir klinik spektrum meydana getirir. Ciddi karaciğer hastalığı alkol kullananların yaklaşık %20'sinde gelişir. Yatkinlığı olan şahıslardaki hazırlayıcı faktörler kesin belli olmamakla birlikte, içilen alkolün miktarı ve süresi en önemli sebeptir (Dolar, 2002; You ve Crabb, 2004).

Alkolün karaciğer hastalıklarına yol açmasının altında yatan esas neden, alkolün başlıca karaciğerde metabolize olmasıdır. Midenin ihmal edilebilir küçük katkısını göz ardı edersek, alkol metabolizmasında asıl sorumlu olan organ karaciğerdir. Alkolün %90'dan fazlası karaciğerde metabolize olduğundan, alkolle indüklenen oksidatif stress de karaciğerde çok daha fazla etkindir. Hepatositlerde alkol metabolizmasından sorumlu üç ana yolak bulunur;

1. Hepatosit sitozolünde bulunan alkol dehidrogenaz (ADH) yoluğı,
2. Hepatosit endoplazmik retikulumunda bulunan mikrozomal etanol okside edici sistem (MEOS),
3. Hepatosit peroksizomunda bulunan katalaz yoluğı, (Aşıcıoğlu, 2005; İter ve Tekin, 2005).

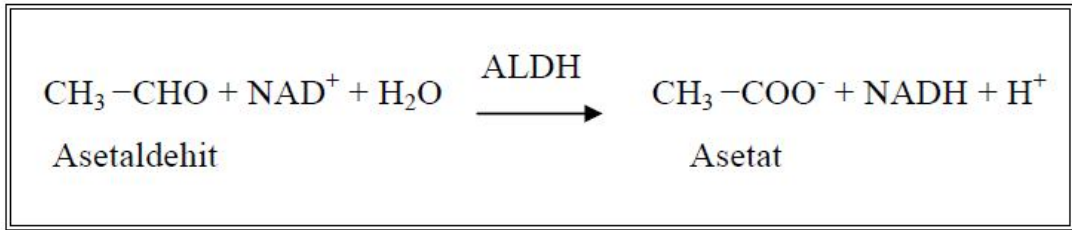
Sitoplazmik bir enzim olan ADH, alkolün, karaciğer hepatositlerinde asetaldehite çevrilmesini katalizler ve alkolün parçalanmasında en etkin rolü oynar (Fickert ve Zatloukal, 2000). Bu oksidasyon sonucunda, NAD^+ redükte formu olan $NADH + H^+$ çevrilir.



Böylece sitozolün redoks potansiyeli belirgin şekilde değişir. $NADH / NAD^+$

oranındaki belirgin artış çok önemli metabolik sonuçlar doğurur. Laktat/Piruvat oranı artar ve bu da laktik asidoza yol açar. Kandaki yüksek laktik asit düzeyi hiperürisemiyeye neden olur. Alkol tarafından indüklenmiş ketoz ve artmış purin yıkımı da hiperürisemiyeyi arttırabilir (Montgomery, 1996). Artan purin indirgenmesinin diğer bir olası sonucu, ksantin oksidaz (XO) tarafından ROS'ların üretimidir (Janssen vd., 1993). Artmış NADH /NAD⁺ oranı lipogenezin artmasına ve hipoglisemiyeye neden olur. Sitrik asit siklusunun aktivitesi azalır. Yağ asidi oksidasyonunun azalmasına bağlı olarak trigliserid sentezi artar. Bu durumda karaciğer yağlanması ortaya çıkar.

Asetaldehit de primer olarak mitokondrial bir enzim olan asetaldehit dehidrogenaz (ALDH) tarafından oksidasyona uğratarak asetat ile karbondioksit ve suya çevrilebildiği gibi, sitrik asit siklusuna girerek yağ asitleri gibi önemli biyokimyasal maddelere dönüşür. Bu sistemde kofaktör olarak NAD⁺ kullanılır ve ortamda NADH miktarında artış görülür.



Asetaldehit, metabolik olarak son derece reaktif ve toksiktir. Proteinlere ve diğer makromoleküllere bağlanır ve bu bileşiklere karşı antikor oluşumuna neden olur. Dolayısıyla alkolik karaciğer hastalığı olanların serumlarında genellikle bu antikorlara rastlanır. Hücrelerdeki mikrotübüler sistem asetaldehit etkisiyle bozulur ve protein atılımı durur. Tutulan proteine eş miktarda su da tutulur ve bundan dolayı karaciğer hücreleri şişer. Asetaldehit, glutatyonun 3 aminoasidinden biri olan L-sistein ile hemiasetal oluşturur ve glutatyon kaybına yol açar. Ayrıca, aldehit oksidaz tarafından okside edilerek, demir varlığında serbest radikal oluşumuna neden olur. Yine, serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyon ürünleri olan, MDA ve hidroksinonenal (4-HNE) ile kompleksler teşkil ederek sitokrom P 450 E2 sistemine bağlanır ve hücre yüzeyinde antijenik yapılar oluşturarak immünolojik hasara yol açar (Albano, 2002; Aşıcıoğlu, 2005; Augustyniak vd., 2005; Carbone vd., 2005; Şentürk, 2004; Tuma, 2002).

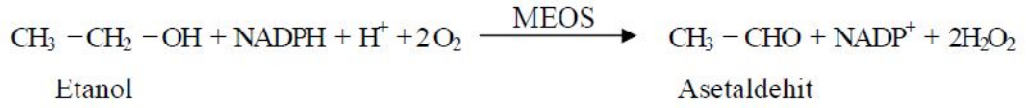
Tablo1.1: Asetaldehitin Olası Toksik Etkileri (Aşıcıoğlu, 2005)

<p>1. Metabolik</p> <ul style="list-style-type: none">- Mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulması- Lizil ve diğer serbest amino asitlere bağlanarak enzim inhibisyonu- Mikrotubuler protein atılımında bozulma <p>2. Oksidatif</p> <ul style="list-style-type: none">- Glutasyon ve antioksidan mekanizmalarda bozulma- Lipid peroksidasyonu ve serbest radikal artışı- Toksik lipid aldehitlerde birikim <p>3. İmmunotoksik</p> <ul style="list-style-type: none">- Protein + asetaldehit antijenitesi <p>4. Proinflamatuvar ve Profibrotik</p> <ul style="list-style-type: none">- Liposit kollajen üretiminin aktivasyonu- Sitokin salınımında artma

Gastrik ADH; 3 izoenzim halinde bulunur. Gastrik ADH'nın etanole afinitesi düşük de olsa, etanol alımını takiben midede etanol düzeyi yüksek olacağı için bu enzimin de alkol metabolizmasında rolü olacaktır (İlter ve Tekin, 2005).

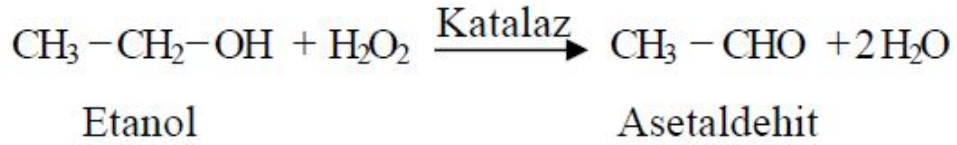
Alkol metabolizmasında rol alan diğer bir enzim sistemi MEOS ise etanolü mikrozomal sitokrom P450 2E1 enzimi tarafından oksidasyona uğratar. Fazla miktarlarda akut olarak alınan etanolün tersine, kronik etanol alımını takiben spesifik bir sitokrom olan ve CYP2E1 adı da verilen bu enzimin aktivitesinde artış meydana gelir. Bu enzimin hangi mekanizmalarla aktivitesinin arttığı henüz açıklanamamıştır. CYP2E1 enzimi sadece etanolü değil, aynı zamanda birçok hepatotoksik ajanın da metabolizmasında görev alır. Kronik etanol alımı, mikrozomal enzim indüksiyonuna yol açarak, etanol ile beraber alınan diğer ilaçların metabolizmasını etkilemektedir (İlter ve Tekin, 2005; Jaeschke vd., 2002).

Mikrozomal enzimler, ADH yolağı kadar etkili olmasa da, etanol metabolizmasında önemli rol oynarlar. Bu reaksiyonlar sonucunda bir reaktif oksijen radikali olan H_2O_2 oluşur. Bu molekül glutasyon ile nötralize edilmediğinde lipit peroksidasyonuna yol açar. Lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranının kalsiyuma geçirgenliği artar, hücre içinde kalsiyum birikimi olur ve bu olaylar sonucu yağlanmış karaciğerde inflamasyon ve fibroz başlar, sonuç siroza kadar gidebilir.



MEOS, alkolün oksidasyonunda rolü çok az olup, ancak yüksek kan ve doku etanol düzeyinde devreye girer. Kronik alkol tüketimi enzimin upregulasyonuna sebep olur. Bu nedenle kronik alkol hastalarda etanol oksidasyonu hızlanmıştır. Bu sistemde ortaya çıkan ROS'lar hepatosellüler hasara sebep olabilmeye ve/veya provoke edebilmeye yeteneğindedir. Hücresel asetaldehit artışı sonucu bu yan ürünün albumin, kollajen ve lipoproteinlerce alkilasyonu hızlanır. Bu yeni kombinasyonlar, neoantijen olarak etki göstererek immün cevaba yol açar ve sonuçta inflamatuvar mekanizmaları başlatır (Aşıcıoğlu, 2005; Lumeng, 1994).

Katalaz ise alkolü okside eden ancak fizyolojik şartlarda alkol metabolizmasında önemli rolü olmayan peroksizomal bir enzimdir (Dolar, 2002).



Organizmada etanol metabolizması esnasında meydana gelen artmış lipid peroksidasyonu, ya karaciğerde oluşan peroksidatif sürece bağlı olarak indirekt, ya da etanolün dolaşan lipidler ve hücre membranları üzerine direkt etkisinden ileri gelebilir.

Aşırı NADH oluşumu, hipermetabolizmaya ve bu olayda doku hipoksisine neden olur. Hipoksinin en belirgin olduğu bölge Zone 3 yani perisentral bölgedir. Karaciğerin kan akımı periferden merkeze, yani portal alandan Zone 1'e sonra Zone 2'e sonra Zone 3'e ve sonra da santral vene doğrudur. Ortaya çıkan perisentral hipoksi hücre içi laktat miktarında artmaya yol açar ki, bu da fibrozisi tetikleyen bir olaydır (Dolar, 2002; You ve Crabb, 2004).

Non-parenkimal hücreler, örneğin kuppfer hücreleri, endotel ve yağ depolayan İto hücreleri toksik süreçte ve fibrosiz gelişiminde devreye girerler. Alkol, kuppfer hücrelerinden TNF- α , TGF- β ve IL-6 salınımına neden olur. TNF- α , direkt olarak karaciğer hücre nekrozuna neden olur, lökosit adherens ve aktivasyonunu provoke

eder, hepatosit ve kuppfer hücrelerinden IL-8 üretimini stimüle ederek, nötrofil kemotaksisine sebep olur. TGF- β ve IL-6'da fibrozis gelişiminde rol alır. Asetaldehit, doğrudan ito hücrelerini aktive ederek kollajen artımına yol açar. İntestinal endotoksinler ve neo-antijen oluşumu kuppfer hücrelerini aktive ederek, kuppfer hücrelerinden salgılanan TGF- β ile ito hücrelerinin uyarılmasına neden olur. Diyetteki çoklu doymamış yağlar, lipid peroksidasyonu yaparak ve lipid aldehytleri oluşturarak sitokrom yoluyla serbest oksijen radikallerini artırır, bir yandan da ito hücrelerini aktive eder. Sonuçta hücrel toksisite, fibrosiz ve alkolik hepatit tablosu yani inflamasyon oluşur (Lieber, 2004; Jaeschke, 2002; Dolar, 2002; You ve Crabb, 2004, Lieber, 1995; Aşıcıoğlu, 2005).

1.6.Etanol Tüketimi

Etanol tüketimi tüm Dünya'da özellikle gelişmekte olan ülkelerin kırsal alanlarında belirgin olarak artmaktadır (Sivapiriya vd., 2006). Toplum tarafından yaygın olarak tüketilen bir madde olan etanolün vücudun canlı dokularında oksidatif stres ortaya çıkarttığı gösterilmiştir (Scott vd., 2000) ve bu etkisi tek bir bölgeden ziyade geniş oranda hücrel hedefleri etkiler (Majchrowicz, 1975; Bondy, 1992). Alkolik karaciğer hastalığı alkole bağlı önemli hastalıklardan birisi olarak genellikle kronik alkol tüketenlerde meydana gelir ve yüksek oranda morbidite ve mortaliteye neden olur (Lankisch ve Banks 1998; NIAAA, 2000). Aşırı alkol karaciğerde patolojik olarak 3 farklı hastalığa sebep olur: Yağlı karaciğer, alkolik hepatit ve siroz (NIAAA 2000; Ivester vd., 2007). Karaciğer yağlanması olarak bilinen alkolik karaciğer hastalığının erken evresi geri dönüşümlüdür ki hepatite (inflamasyon ve hücre harabiyeti), fibrozise ve alkolik hastaların % 5-15 kadarında siroza ilerleyebilir (Sorensen vd., 1984; Lieber, 1997). Sindirim yoluyla alınan alkolün büyük bölümü karaciğerde alkol dehidrogenaz tarafından asetaldehite metabolize edilir (Rognstead ve Grunnet, 1979; Osna vd., 2005). Kronik alkol tüketiminin hepatik alkol dehidrogenaza bağlı etanol metabolizmasını bozduğu bilinmektedir (Nuutinen vd., 1983; Panes vd., 1993; Kutlubay vd., 2008).

Çok eski çağlardan beri insanlar kolay mutlu olmak için bazı keyif verici maddeleri kullandıklarını gösteren kanıtlar vardır. Bunlardan en eskisi ve en yaygın olanı alkoldür (Sencer, 1988). Çağdaş teknoloji ve kimya biliminin de katkısıyla kalitesi daha da iyileştirilmiş olan alkollü içkiler, çekici ambalajlar içerisinde tüketiciye sunulmaktadır. Dini inançlar ve kültürel özelliklerden etkilenmekle birlikte alkollü

İçkiler dünyanın hemen her yerinde yaygın olarak tüketilmektedir. Ülkemizde hızlı nüfus artışı, ekonomik gelişme, geleneksel aile baskısının azalması, stresli şehir hayatı, yoğun mesai, çağdaş yaşama biçimlerine özenme ve çeşitli psikolojik nedenlerle alkollü içki tüketimi hızla artmaktadır (Sencer, 1988; Aktuna, 1993). Alkolün çeşitli sağlık ve sosyal problemlere sebep olduğuna dair çok sayıda yayın vardır. Aşırı alkol tüketiminin karaciğer dokusunda harabiyete ve birçok olumsuz metabolik değişime neden olduğu ve bu olumsuzlukların alınan doza ve süreye, bireysel dayanıklılığa diyete ve diğer faktörlere bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Murray vd., 1988). Alkol metabolizmasının gerçekleştiği başlıca organ karaciğerdir ve bu yüzden çeşitli fonksiyonel ve dönüşümsüz değişiklikler için duyarlıdır. Alkole bağlı karaciğer hastalıkları; karaciğer yağlanması, alkolik hepatitis ve karaciğer sirozu olarak tanımlanmaktadır. Karaciğer hücre bütünlüğü etkilendiğinde ve parankim hücrelerinin dejenerasyonunda serumda GGT, AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin yükseldiği vurgulanmıştır (Karayılanoğlu vd., 1991). Günümüzde keyif verici maddelere bağımlılığın sürekli olarak arttığı ve bu maddelerin başında alkolün geldiği bir gerçektir. Karaciğer yağlanmasının gizli seyrettiği, çoğunlukla ikincil hastalıklara ve insanlarda verimliliğin azalmasına neden olduğu bilinmektedir. Bu gizliliğin ortaya çıkarılması ve kayıpların önlenmesi için bu tip maddelerin metabolizmaları ve etkilerinin detaylı olarak incelenmesi gerekmektedir. Çünkü var olan tüm tedavi yöntemlerinin günümüzde her zaman başarılı olmadığı da bir gerçektir (Özcan ve Mengi, 1998).

Ülkemizde alkol tüketimin durumu

Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde alkol tüketimi ve alkole bağlı sorunlar hızla artmaktadır. Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE) verilerine göre (1987-1991-1995) Tekel'in ürettiği alkollü içkilerde çok önemli bir değişiklik olmamıştır. Ancak özel girişimcilerin ürettiği bira tüketimi üçe katlanmıştır. Yine özel girişimcilerin ürettiği şarap ve yurt dışından getirilen sert içkilerin (viski, votka, vb) tüketimi de hızla artmaktadır. Yine DİE verilerine göre; trafik kazalarından ölüm ve yaralama olayları da artmaktadır. Bu olaylarda alkol birincil sorumludur (American Psychiatric Association, 1995; Çelikkol, 1996).

Alkol alımının gerginliği azaltan, rahatlatan özellikleri gibi olumlu pekiştirici yanları ilk alkol alımından sonra bu davranışın sürmesine katkıda bulunur. Kişiler sıkıntı ve sorunlarla baş etmede zorlukları olduğunda alkole yönelirler ya da aldıkları alkol

miktarını arttırmaları böylece alkol alımı istismarı ve alkole kronik bağıllık (Alkol bağımlılığı) gelişir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) alkol bağımlısını "uzun süre ve alışılmışın dışında alkol alan, alkole bağılı ruhsalbedensel- toplumsal sağlığı bozulan, buna karşın durumunu değerlendiremeyen; değerlendirse bile alkol alma isteğini durduramayan, sağaltıma gereksinimi olan bir hastadır" diye tanımlar. Bir başka tanımında ise; alkolün işine engel olduğunu değil de işinin alkol almasına engel olduğunu düşünmeye başlayan kişiyi alkol bağımlısı olarak görür (Yenigün, 2007 ;American Psychiatric Association, 1995; Çelikkol, 1996).

1.7.Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığında Aminotransferazlar

Karaciğer hasarının belirlenmesinde iki önemli enzim yer alır. Alanin amino transferaz (serum glutamat – pruvat amino transferaz) ve aspartat amino transferaz (serum glutamat – oxaloasetat amino transferaz). Adlarından da anlaşılacağı üzere alanin ve aspartik asidin amino gruplarını α - keto glutarata taşırlar. Böylece glutamat ve ALT ile pruvat ve AST ile oksaloasetat oluşur. B6 vitamini her iki enzimin de kofaktörüdür (Wallach, 2000; Li vd., 2004; Samir vd., 2004).

AST ve ALT karaciğer hasarını saptamada rutinde sık kullanılan belirleyicilerdir. AST karaciğerde olduğu kadar kalp, kas, beyin, pankreas, böbrek, akciğer, beyaz küre ve kırmızı kürelerde de yoğun olarak bulunmaktadır. Buna karşılık ALT yoğun olarak yalnızca karaciğerde bulunur. ALT ve AST kronik aşırı içme belirleyicisi olarak kullanılmaktadır (Wallach, 2000). Yaklaşık olarak hepatositte bulunan AST'nin %80'i mitokondridedir. Oysa ALT'nin predominant formu non mitokondrial olanıdır. Bu nedenle hafif hepatosellüler hasarda, hepatosit membranı hasara uğramış ancak mitokondrial membranı sağlam ise sitoplazmik AST ve ALT seruma salınır (Wallach, 2000; Fickert ve Zatloukal, 2000). Her ne kadar bu enzimler karaciğer hücre harabiyeti için duyarlı belirteçler ise de, tek başlarına ideal marker özelliği taşımazlar (sensitivitesi yüksek ancak spesifitesi düşüktür). Alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında AST ve ALT seviyeleri sağlıklı bireylere göre bir çok kat artış gösterir. Orta şiddette ve ağır alkolik karaciğer harabiyetinde de bu enzim miktarlarında artış olur ancak bu artış nonalkolik hastalıklara nisbeten oldukça azdır. Serum aminotransferazları kronik hepatitlerde ve akut viral hepatitlerinin hafif vakalarında ve ilaca bağlı hepatitlerde orta derecede artar (Fickert ve Zatloukal, 2000; Tietz, 2005a). Sirozda, nonalkolik hepatosteatozda kolestatik karaciğer

hastalıklarında karaciğer yağlanmasında ve karaciğer tümörlerinde serum aminotransferazları hafifçe artar. Daha ciddi hepatosellüler hasarlarda mitokondri membranında da hasar olur ve mitokondrial AST salınımı ile sonuçlanır. Böylece AST/ALT oranı yükselir (Fickert ve Zatloukal, 2000; Dolar, 2000).

AST/ALT oranı bazı karaciğer hastalıklarında tanıya yardımcı olabilir. Alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında bu oranın azaldığı gözlenirken alkolik karaciğer hasarında AST/ALT oranı artar. Alkolik karaciğer hastalıklarında pridoksal-5-fosfat eksikliği olur. Bu vitamin her iki aminotransferazın yapımı için gereklidir, ancak hepatik ALT'yi daha fazla düşürerek bu oranın yükselmesine neden olur (Fickert ve Zatloukal, 2000; Li, 2004; Samir, 2004; Tietz, 2005a; Tietz, 2005b).

Bazı araştırmalarda alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıklarını alkole bağlı olan karaciğer hastalıklarından ayırmak için AST/ALT oranının kullanılması önerilmiştir. Alkole bağlı karaciğer hastalıklarında genellikle AST'nin ALT'ye göre biraz daha arttığı ileri sürülmüştür. Bu oran (AST/ALT) 1,5'tan büyük ise hasarın alkole bağlı olduğu, 1'den küçük ise alkol kullanımına bağlı olmadığı düşünülmelidir (Wallach, 2000; Li, 2004; Samir, 2004).

Mitokondrial AST / Total AST oranı alkolik hepatiti diğer karaciğer hastalarından ayırmada kullanılabilir. AST nin ALT ye oranına DeRitis oranı denir. Normalde AST/ALT=1 dir. Bazen hafifçe yüksek olabilir. Alkolik karaciğer hastalığında tanı amaçlı kullanılabilir. ALT normal iken veya normale yakın iken oranın 3 ile 1 arasında olması diagnostiktir. Alkolik hepatitte AST ve ALT'de ılımlı bir artış görülür (Fickert ve Zatloukal, 2000; Samir, 2004, Tietz, 2005b; Aşıcıoğlu, 2005).

1.8.Literatür Özeti

Karaciğer toksisitesinde çeşitli bitkilerin koruyucu etkileri araştırılmıştır. sıçanlara oral olarak alkol(etanol) verilerek karaciğer yağlanması tespit edilmiştir (Özcan vd., 1996). Sıçanlarda ısırgan otu (*Urtica dioica* L.) yaprağı ile beslenmenin akut karbon tetraklorür (CCl₄) uygulamasına bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine antioksidan etkisi belirlenmiştir (Göker ve Özmen, 2009). Rezene uçucu yağının CCl₄ ile oluşturulan akut karaciğer toksisitesi üzerinde anlamlı derecede koruyucu etkisi belirlenmiştir (Özbek vd., 2004). Vitamin E + Selenyum ve Çörek otunun karaciğer nekrozunu engelleyebildiği ortaya konmuştur (Şahin vd., 2003). *Nigella sativa* L.'nin, sıçanlarda CCl₄'ün indüklediği hepatotoksistide lipid peroksidasyonunu

önlemek, antioksidan savunma sistemini aktivitesini artırmak ve karaciğer hasarını önlemek için kullanılabileceği bildirilmiştir (İlhan ve Seçkin, 2005). Flavonoid, fenolik bileşikler, saponin ve tannin içeren *Ziziphus mauritiana* Lam. bitkisi yaprağı ekstraktının, CCl₄ ile oluşturulmuş karaciğer hasarlarında güçlü antioksidan etkisini göstermişlerdir (Dahiru vd., 2005). Kronik alkol tüketiminin sıçanlarda karaciğer yağlanması ve hepatotoksitite üzerine çeşitli bitkisel karışımların etkilerinin araştırıldığı çalışmada, bitkisel karışımın tedavi edici özelliği ortaya konmuştur (Kim vd., 2006). Isırgan otu ekstresinin 7,12 dimetilbenzantrasen(DMBA) verilen tavşanlarda nitrik oksit oksidasyon ürünleri, lipit peroksidasyon ürünleri ve antioksidan maddeler düzeyleri üzerine etkileri incelenerek lipit peroksidasyonuna karşı bir koruma özelliği olduğunu bulunmuştur (Ertekin vd., 2008). Karaciğer ve böbrek üzerine etanolün toksisitesi ve L-NAME'in koruyucu etkisi bulunmuştur (Kutlubay vd., 2008). Kronik alkol tüketiminin sonucu sıçan pankreaslarında mast hücre mediatörlerinin salınmasına neden olarak, organdaki mast hücre sayısını azalttığı saptanmıştır (Vardı vd., 2002). Sıçanlarda oral olarak verilen alkolün serum, karaciğer ve böbrek \sqrt -GT, ALT VE AST aktiviteleri ile serum total kolesterol ve lipit düzeylerine etkileri bulunmuştur (Özcan ve Mengi, 1998). *Urtica dioica* L. (ısırgan) tohum ekstraktının aflotoksin enjekte edilmiş sıçanlarda antioksidand ve hasarlı karaciğere karşı koruyucu etkileri bulunmuştur (Yener vd., 2009). Oral yola yeşil çay içirilerek yeşil çayın karaciğer koruyucu etkileri bulunmuştur (Avwioro vd., 2010). Sıçanlara parenteral yolla verilen phalloidin verilerek E vitamini, N-asetil sistein, penisilin-g ve *Urtica dioica* L. tohumu eterik yağının karaciğer üzerindeki toksisitenin erken dönemlerinden itibaren önleyebileceği bulunmuştur (Özbek vd., 2005). Melatonin ve C Vitamini'nin kronik alkolik sıçanların testis dokusundaki hasara karşı koruyucu etkileri bulunmuştur (Sönmez vd., 2010). Yine bir çalışmada domates suyundan elde edilen likopenin alkolik karaciğer harabiyetine karşı koruyucu etkileri bulunmuştur (Aşıcıoğlu, 2005). *Cimicifuga racemosa* L. (Siyah yılan kökü) bitkisinin köklerinden elde edilen ekstaraktının sıçanlara oral olarak verilmesi sonucu karaciğer koruyucu özellikleri tespit edilmiştir. (Mazzanti vd., 2008). HV-P411 kodlu HVLS CO., LTD. şirketine ait bitkisel karışımının (*Vitis vinifera* L., *Schisandra chinensis* Turcz. Baill. ve *Taraxacum officinale* F.H. Wigg) karbontetra klorürün karaciğer üzerinde oluşturduğu hasara karşı koruyucu özellikleri tespit edilmiştir (Kim vd., 2011). Van otlı peynirinin ve peynirin içeriğindeki bitkilerin sıçanlara yem şekline getirilerek yedirilmesi ile sıçanlardaki

kan parametreleri üzerine etkileri ve sindirim sistemi üzerine etkileri tespit edilmiştir (Özbek vd., 2005). Sıçanlara oral yolla yoğurt içirilmesi ile yoğurtun kan serumundaki parametreleri üzerine olumlu etkileri biyokimyasal yöntemler kullanarak tespit edilmiştir (Bayıroğlu vd., 1999). *Chrysanthemum balsamita* L., *Echinacea pallida* Nutt., *Calendula officinalis* L., *Veronica officinalis* L., *Oenothera biennis* L., *Lycopodium clavatum* L., *Cichorium inthybus* L., *Corylus avellana* L., *Hyssopus officinalis* L. ve *Rosmarinus officinalis* L. bitkilerinin ayrı ayrı ekstraktları sıçanlarda Karbon tetraklorür tarafından oluşturulan karaciğer hasarına karşı koruyucu etkileri hem histolojik hemde biyokimyasal yöntemlerle tespit edilmiştir (Rusu vd., 2005). *Epaltes divaricata* L. bitkisinden elde edilen ekstraktın fare karaciğerinin Karbon tetraklorürle oluşmuş hasara karşı koruyucu etkisi hem histolojik hemde biyokimyasal yöntemlerle tespit edilmiştir (Hewawasam vd., 2004). Aflotoksin verilmiş sıçanlara *Urtica dioica* L. tohumlarından elde edilen ekstrakt ile *Urtica dioica* L. tohumunun antioksidan özelliği bulunmuş ve karaciğerde oluşan hasara karşı koruyucu özellikleri tespit edilmiştir (Yener vd., 2009).

1.9.Tezin Amacı

Alkol karaciğerde patolojik olarak bazı hasarlara yol açar. Yağlanma, hepatit ve siroz bilinen alkole bağlı hasarlardandır. Bu durumlarda karaciğerde enzim değerlerinde ve histomorfolojik olarak bazı değişiklikler meydana gelir.

Karaciğer hasarlarında da çeşitli bitkilerin koruyucu etkileri yoğun olarak çalışılmaktadır. Bu çalışmada ısırgan tohumlu bitki karışımının alkol ile hasar görmüş sıçan karaciğerine olan etkileri biyokimyasal parametreler ve histokimyasal yöntemlerle araştırılacaktır.

2.ÇALIŞMAMIZDA KULLANILAN KARIŞIM İÇERİĞİNDEKİ BİTKİLER

2.1.*Urtica pilulifera* L. (Isırgan)

Urtica pilulifera L. türü Urticaceae familyası içerisinde yer almaktadır. Anavatanı Asya'dır. Türkiye'de başta Karadeniz Bölgesi olmak üzere her bölgede yetişir. Üzeri batıcı tüylerle kaplı otsu bir bitkidir. Meyveler esmer renkte, fındıksı, küçük, katı şeklinde bir tohumdur (Şekil.2.1).

Bu tür halk arasında gıda olarak tüketilir ve halk hekimliğinde değişik hastalıkların tedavisinde kullanılır. En yaygın tedavide kullanım alanları astım önleyici, kan temizleyici, saç problemleri, idrar söktürücü, hipoglisemi gibi hastalıkların tedavisi (Grieve, 1984; Launert, 1981; Lust, 1983; The Herb Society, 1986; Bown, 1995; Chopra vd., 1986). Bitkinin yaprakları çay ve sebze olarak tüketilir (Rates, 2001; Evans, 1995; Dünder ve Arslan, 2000; Pietta, 2000).

Bitkinin kuru ağırlığının % 18 protein, %14 albüminli maddeler, %2,5 yağlı maddeler, % 6 demir trioksit içerir (Lust, 1983). Yaprakları flavon, C vitamini, demir, mineral tuzlar, bitki asitleri, beta sitosterin; tohumları müsilaj, protein, sabit yağlar; kökleri tanen, sterolen, lignan, steril glosid, klorofil ve tüyleri formik asit, asetilkolin, histamin içerir (Eröztürk, 2000; Çöllü, 2007).



Şekil 2.1: *Urtica pilulifera* L. 'nın genel görünümü(<http://fr.wikipedia.org>)

2.2. *Apium graveolens* L. (Kereviz)

Apiaceae familyasına ait bir tür olan *A. graveolens* L. 30-60 cm yüksekliğinde çok yıllık otsu bir bitkidir. Çiçekleri sarı renkli, yapraklar bileşik ve kokuludur (Şekil.2.2). Kuzey, Batı ve Güney Anadolu da yayılış gösterir ve kültürü yapılmaktadır (Seçmen vd., 2004; Baytop, 1999).

Birçok ülkede tarımı yapılmakta olup sebze olarak tüketilmektedir (Asif, 2011). Kuzeybatı Himalayaların dağ eteklerinde, Himachal Pradesh ile Uttar Pradesh'in uzak tepelerini kapsayan coğrafyada yetişmektedir. (Bahar vd., 2002). *A. graveolens* tıbbi amaçlı veya baharat olarak kullanılan önemli bitkilerdendir. Bitkinin özellikle yaprak ve kökleri spesifik tat ve aromatik kokuya sahiptir (Popoviç vd., 2006).

Kereviz tohumunun karminatif, diüretik, antiinflamatuvar ve analjezik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Sultana vd., 2005; Popoviç vd., 2006). Daha önce yapılan çalışmalarda kereviz tohumu uçucu yağının antibakteriyel ve antifungal özellikleri göstermiştir (Lewis vd.,1985; Atta ve Alkofahi, 1998; Başak ve Candan, 2008).



Şekil 2.2: *Apium graveolens* L.'nin genel görünümü (<http://www.liseed.org/apiaceae>)

2.3.*Silybum marianum* (L.) Gaertner (Deve diken)

Silybum marianum (L.) Gaertner. Asteraceae familyası içerisinde yer almaktadır. Bu tür 30–100 cm. yükseklikte, 1–2 yıllık otsu bir bitkidir. Yapraklar soluk yeşil renkli ve dikenli, çiçekler baş şeklin de bir arada, mor renklidir (Şekil.2.3). Akdeniz ülkeleri, Güney Rusya ve Kuzey Afrika’da yaygın olmasıyla birlikte ülkemizde Ege ve Marmara bölgelerinde sıkça görülmektedir (<http://devedikeni.gen.tr/>; Kıran, 2006). Bitki tanen, rezin, uçucu yağ ve acı maddeler taşımaktadır. Meyvede sabit yağ, nişasta, tanen bulunur (Tümen, 2011).

Bu bitki 2000 yıldır, karaciğer ve safra kesesi hastalıklarında; hepatit, siröz, sarılık ve diğer karaciğer hastalıklarından etkin bir korunma, zehirlenmelere karşı (kimyasal ve çevre toksinleri, yılan ısırması, böcek sokması, mantar zehirlenmeleri v.b.) ve alkolün sebep olduğu hasarlarda kullanılmaktadır.

Theoprastus M.Ö. 4.yüzyılda bitkiyi “Pternix” adıyla tarif etmiştir. Daha sonra Dioscorides, *Materia Medica* (M.S. 1. yüzyıl) ve Plinius (M.S. 1. Yüzyıl), daha sonra pek çok tıbbi bitki gibi tarihinin derinliklerine gömüldü, binlerce yıl sonra yeniden günışığına çıkmaya başladı ve önemi her geçen daha da artmaya başladı. (Baydar, 2005; Baytop, 1999).



Şekil 2.3: *Silybum marianum* (L.) Gaertner.’un genel görünümü (<http://doctorschar.com/archives/milk-thistle-silybum-marianum/>)

2.4. *Curcuma longa* L. (Zerdeçal)

Curcuma longa L. Zingiberaceae familyasına ait olup, sarıçiçekli, çok yıllık otsu bir bitkidir (Şekil.2.4). Hindistan, Çin, Endonezya, Jamaika, Peru ve Pakistan olmak üzere Asyanın tropik bölgelerinde yetişir. Bitkinin toprak altındaki ana kökleri yumurta ve armut şeklinde, yan kökleri ise parmak (rizom) şeklindedir (Chan vd., 2008; Masuda vd., 1992).

Bitkinin kullanım alanı da oldukça geniştir zerdeçal, ipek kumaşlar ve ince derilerin boyanmasında, kına yakmada da renklendirici olarak ve yemeklerde çeşni olarak kullanılmaktadır. Hindistan tıbbında büyük bir öneme sahip olan zerdeçalın; nezle, öksürük, karaciğer rahatsızlıkları, romatizma, sinüzit ve anoreksia tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir. Ayrıca ayurveda'da kan temizleyicisi, tonik ve deri hastalıkları tedavisinde de kullanılmaktadır (Ammon vd., 1992; Auddy vd., 2003; Miquel vd., 2002).



Şekil 2.4: *Curcuma longa* L. genel görünümü (<http://zh.wikipedia.org>)

2.5. *Zingiber officinale* Roscoe (Zencefil)

Zingiber officinale Roscoe Zingiberaceae familyası içinde yer almaktadır. Bu tür 100 cm kadar uzayabilmekte, yapraklar mızrak gibi, çiçekler bir arada sarı-beyaz renklidir (Şekil.2.5). Zencefilin vatani Güney Asya olmakla beraber asıl orjin merkezi tam olarak bilinmemektedir. Subtropikal ve özellikle tropikal bölgelerde (deniz seviyesinden 1500m' ye kadar olan alanlarda) tarımı yapılmaktadır (Anandaraj vd., 2001; Baytop, 1999).

Zencefil bitkisi çok yıllık yumru veya rizom köklere sahiptir, rizomlar taze ve kuru olarak ta tüketile bilemektedir. Binlerce yıldır Çin ve Hindistan'da baharat ve tıbbi bitki olarak yetiştirilip kullanılmaktadır (Foster, 2000; Kemper, 1999; Zeybek ve Zeybek, 2002). 2500 yıl önce Çin'de kullanımı; sindirime yardımcı, mide bulantısını giderici, diş ağrısına karşı, kanamayı düzenleyici, romatizmal etkili, kelliği giderici, yılan sokmalarına ve solunum düzenleyici şeklindedir (Felter ve Loyd, 2002).



Şekil 2.5: *Zingiber officinale* Roscoe'in genel görünümü (<http://www.flickr.com>)

2.6. *Nigella sativa* L.(Çörek Otu)

Nigella sativa L. türü Ranunculaceae familyası içerisinde bulunmaktadır. Bu tür 20 – 30 cm. yükseklikte, az çok tüylü, bir yıllık otsu bir bitkidir (Şekil.2.6). Bileşiminde sabit yağ, uçucu yağ, acı madde ve saponinler bulunur (Baytop, 1999). Bu türün anavatanı Doğu Akdeniz ülkeleri, Doğu ve Güney Avrupa'dır. Buradan dünyanın diğer ülkelerine yayılmıştır. İkinci vatanının Kuzey Afrika, Hindistan ve Türkiye olduğu söylenmektedir (Türker ve Bayrak, 1997).

N. sativa 2000 yıldan fazla bir süredir Orta Doğu ve Uzak Doğu'da doğal bir ilaç olarak kullanılmıştır. Müslümanlar için *N. sativa*'nın asıl önemi Hz. Muhammed tarafından söylenen kutsal ifadelerden ileri gelmektedir. Tohumun ölüm dışında bütün hastalıklara deva olduğu inancı benimsenmiştir. (Al-Jishi ve Hozaiifa, 2003; Ali ve Blunden, 2003).

N. sativa tohumu gıda amaçlı olarak ve farmasötik alanda çeşitli kullanımlara sahiptir. Bu kullanımlara ilave olarak tohumları doğal bir ilaç olarak kullanıldığı gibi baharat, karminatif, çeşni ve aromatik amaçlı olarak geniş kullanıma sahiptir (Uras, 2009).



Şekil 2.6: *Nigella sativa* L.'nin genel görünümü (www.flickr.com)

2.7. *Peganum harmala* L.(Üzerlik)

Peganum harmala L. Zygophyllaceae familyası içerisinde yer almaktadır. Bu tür 70 cm kadar uzayabilen beyaz çiçekli, çok yıllık ve çalı görünüşünde bir bitkidir (Şekil.2.7). *P. harmala* tohumları halk arasında üzerlik olarak bilinmekte ve meyvelerinden nazarlık, tohumlarından ise nazara karşı tütsü yapılmaktadır (Baytop, 1999; Küsmenoğlu, 1996). Tohumlarda bulunan alkaloidler β -karbolin (trisiklik pyrido[3,4-b]indol) halka yapısı taşımaktadır (Tanker ve Tanker, 1990).

Tohum ve kök kurt düşürücü, adet söktürücü, uyuşturucu, terletici ve yatıştırıcı etkilere sahiptir. Tohumlar, kavrulduktan sonra dahilen basura karşı kullanılmaktadır. Köklerinin dekoksasyonu hemoroid, idrar güçlüğünde, tohumlar kavrulduktan sonra dahilen prostatta istek dışı idrar kaçırmayı durdurmak için, tohumları ise mide ağrılarına karşı balla lapa yapılarak kullanılır (Oral, 2007).



Şekil 2.7: *Peganum harmala* L.'nin genel görünümü (commons.wikimedia.org)

2.8. *Brassica rapa* subsp *rapa* L. (Şalgam)

Brassica rapa subsp *rapa* L. toksonu Brassicaceae familyası içerisinde yer almaktadır. *B.rapa* subsp *rapa* taksonu İki yıllık bitkiler. Kök etli, turp şeklinde (Şekil.2.8). Taban yaprakları nadiren 10'a kadar adette, rozet şeklinde değil veya az çok rozete benzer, petiol ince, ne etli ne kanatlı; yaprak ayası lirat pennatifit veya nadiren sinuatdentat (Wu ve Peter, 2001; Davis, 1965).

Hem kök, hemde gövdenin alt kısımları etlidir. 4000 yıldan beri yetiştirilmektedir. Avrupa'dan dünyadan yayılmıştır. Serin iklimlerde yetiştirilir. Köklerin şekli ve renkleri bakımından farklı tipleri vardır. Yumruları salata olarak kullanılmaktadır. Yabani alt türüne (subsp. *sylvestris*) Avrupa ve Asya'da rastlanılmaktadır. (Ketenoğlu vd., 2011)



Şekil 2.8: *Brassica rapa* subsp *rapa* L. ' nın genel görünümü (<http://www.flickr.com>)

3.TIBBİ BİTKİLERİN KULANIŞ ŞEKİLLERİ

Bitkisel droglar ilaç olarak alınabilmek için uygun bir şekle konulmalıdır. En basit yol drogu toz ederek olduğu gibi veya bir güllaç içinde almaktır. Bununla beraber alma şeklindeki kolaylık ve alınan miktarın saptanması bakımından hap, infuzyon ve dekoksasyon şekilleri de kullanılmaktadır. Bu ilaç şekillerinden başka tentür, hulasa, draje, tablet vs. gibi şekillerde bulunmakta ise de bu şekiller ancak bir eczacı tarafından hazırlanabileceğinden burada bahsedilmemiştir (Yarar, 1948). Tıbbi bitkiler toz (pulveres), hap (pilulae), infuzyon (infusa), dekoksasyon (decocta), merhem (unguenta), tıbbi yağ (olea medicata), kokulu yağ (olea aromatica), tentür (Tincturae) ve hulasa (extracta). İnfuzyon ve dekoksasyon yöntemi en çok kullanılan yöntemlerdendir.(Baytop,1999).

4.HİSTOKİMYA

Histokimya Pears'ın tanımı ile, maddeleri hücre ve doku düzeyinde ayırt etmeye, yerleşimlerini ve miktarlarını saptamaya yarayan kimyasal tekniklerin ortak adıdır. Bu amaçla spesifik maddeler, reaktif gruplar ve enzim katalizörleri kullanılabilir. Raspail ve Pears doku ve hücrenin mikroskopik incelenmesi amacıyla kimyasal reaksiyonların kombinasyonunu 1825'te gerçekleştirmiş olmalarına karşın, tekniğin histoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılması 1860'larda başlamış ve vazgeçilmez olarak nitelendirilmesi 1930'ları bulmuştur. Histokimyasal analizlerin kimyasal zemininin değerlendirilip açıklandığı ilk kitap 1930'da basılmış, ardından 40 yıllık bir duraksama dönemi yaşanarak nihayet 1970'de bu bilgiler geliştirilerek güncelleştirilmiştir.

Bundan sonra immünohistokimyasal prosedürler geliştirilmiş, in situ hibridizasyon ve moleküler biyolojik teknikler histokimyaya eklenmiştir. Patolojik tanı için hemotoksilen-eosin boyası çoğu zaman yeterli iken, nadir olmayarak ek histokimyasal boyalara ihtiyaç duyulur. Son yıllarda sıklıkla karşımıza çıkan "Non-immünolojik, nükleik asit temeli olmayan prosedürlerin günümüzde değeri var mıdır?" Sorusuna verilecek yanıt ise tek kelime ile "Evet" olmalıdır. Çünkü

histokimya daha ucuzdur, tanısal önemini korumaktadır, geliştirilebilir ve daha çok uzun yıllar patolojinin önemli bir yardımcısı olmayı sürdürecektir (Doran, 2005).

Histokimyanın İlkeleri

Histokimyasal prosedürler doku ya da hücrelerin temel özellikleri esas alınarak uygulanır. Tüm boyama yöntemleri için şu sorulara yanıt verilebilmelidir:

- a. Boya hangi doku komponenti için yapılmaktadır?
- b. Niçin bazı komponentler boya alır, bazı komponentler ise almaz?
- c. Her doku komponenti için boya yapılabilir mi?

Klasik olarak histokimyasal reaksiyonlar 4 temele dayanır:

1. Basit iyonik etkileşimler
2. Aldehitlerin Schiff reajanı veya gümüş bileşikleriyle reaksiyonları.
3. Aromatik diazonyum taşlarının proteinler veya hormonlardaki aromatik tuzlar ile birleşmesi
4. Enzimlerin primer reaksiyon ürünlerinin renklendirilmiş çökeltiye dönüştürülmesi

Bazı maddeler yukarıdaki reaksiyonlar ile direkt olarak ayırt edilmezler. Bu durumda oksidasyon gibi indirekt kimyasal değişiklikler gerekir. Histokimyasal reaksiyonların özgünlüğü bazı modifiye reaksiyonlarla; örneğin oldukça spesifik substratlar veya inhibitörlerin kullanımı ile pH 'ın değiştirilmesi gibi tekniklerle kontrol edilebilir. Çünkü tüm histokimyasal metodlar reajanların selektif olarak doku içine alımı ya da dokudan uzaklaşması faktörlerine bağlıdır.

İdeal histokimyasal boyamanın gerçekleşebilmesi için;

1. Test edilen komponentin dokudaki yerleşimi veya korunmasında bir yetersizlik olmamalı
2. Tüm reajanlar hücre veya dokuya aynı oranda penetre olabilmeli
3. Reaksiyon rölatif olarak spesifik olmalı
4. Son renklendirilmiş reaksiyon ürünü tespit edilebilmeli ve bu boya kalıcı olmalıdır

Bu durumda histokimyada iki fazın gerekliliğinden söz edilebilir:

- a. Doku kurduğunda boyayı kuvvetle almış olmalıdır.

b. Afinite zorlamalar ile mutlaka geliştirilmiş olmalıdır.

Her bir hücre için geçerli değişik biyokimyasal maddeler vardır. Ancak bazı özel hücreler görece özgün bir yapı içerebilir veya her hücre için değişik miktarlarda kimyasal madde kullanımı gerekebilir.

Genel olarak hücre içindeki şu komponentlerin histokimyasal analizleri yapılabilir:

1. Nükleik asitler.
2. Proteinler ve peptidler (enzimler ve hormonlar)
3. Mukosubstanslar
4. Lipidler
5. İnorganik tuzlar

Bu maddelerin pek çoğu geleneksel histokimyasal prosedürler kullanılarak gösterilebilir. İmmünohistokimyasal reaksiyonlar veya in situ hibridizasyon ise özgün proteinlerin veya nükleik asitlerin ayırt edilmesini sağlar. Ayrıca bazı maddelerin değişik karbonhidrat gruplarına seçici bağlanmasını sağlayan teknikler de vardır (Doran, 2005).

Spesifik Organlarda Uygulama(Karaciğer)

Histokimyasal boyalar karaciğerin histolojik incelenmesi için standarttır. Retikülin boyaları ve kollajen boyaları karaciğerin yapısal çatısını ve patolojik durumlardaki fibrotik reaksiyonları gösterir. PAS boyası diastazla muameleden önce karaciğerin glikojen depolama durumunu, sitoplazmik inklüzyonların dağılımını ve ceroid pigmentinin hepatosit içindeki varlığını gösterir. Perls reaksiyonu ise demirin varlığı ve dağılımı işaretlemeye özel bir önem taşır. Bakırın varlığı direkt p-dimethylaminobenzylidene rhodamine veya copper-associated proteinlerinin orsein metodu ile boyanması sayesinde gösterilebilir. Bakır safra içinde ekskrete edilir ve karaciğerin bilier obstrüksiyonlarında birikir. Hem copper-associated protein hem bakır siroz veya primer sklerozan kolanjitte periferik bölgede izlenebilir. Bu depositlerin yoğunluğunun artması hastalığın evresi ile ilişkilidir. Siroza yol açan diğer hastalıkların pek çoğunda sirozun ortaya çıkmasından önce bakır depozisyonu çok azdır ya da yoktur. Siroz oluştuktan sonra ise bakır depozitleri artar ve yamasal bir dağılım sergiler. Nadir hastalıklardan Hindistan çocukluk çağı sirozunda yoğun ve diffüz bir bakır depozisyonu mevcuttur. Yamasal depozitler Wilson'un sirotik

evresinde de görülmesine rağmen daha erken dönemlerde izlenmez. Alfa-1-Antritripsin eksikliğinde hepatositlerden bu anormal proteinin eksportu yoktur. Rutin parafin kesitlerde değişik boyutlarda ve kuvvetle PAS pozitif, diastaza dirençli eosinofilik globüller görülür. Bu cisimcikler immünohistokimyasal olarak da gösterilebilir. Karaciğerde amiloid depozitleri en iyi Kongo red veya kristal violet boyaları ile gösterilir. Primer (AL tip) amiloidozis potasyum permanganat ile muamelede solmaz, bu madde genellikle sinüzoidal bir dağılım gösterir. Sekonder amiloidoz da (AA tip) ise congo red reaksiyonu solma gösterir ve dağılım genellikle vaskülerdir. Reye sendromunun tanısı histokimyasal olarak kanıtlanmalıdır. Karaciğer panlobüler mikroveziküler yağlı infiltrasyon gösterir ve bu durum Oil-red O ile boyanarak izlenebilir. Glikojenin belirgin bir kaybı mevcuttur, bu da PAS ile izlenebilir. Daha spesifik olarak, süksinat dehidrogenaz aktivitesinin tümüyle yok olduğu karaciğer dokusunda frozen kesitlerde izlenebilir. Bu durum mitokondrilerin zedelenmesine eşlik eder. Jamaica kusma hastalığında ve valproic asit zehirlenmelerinde de bu değişikliklere benzer kombinasyonlar izlenebilir. Gebeliğin akut yağlı karaciğerinde, alkolik yağlı karaciğerde ve lipid depo hastalıklarında süksinat dehidrogenaz aktivitesi kaybı olmaksızın mikroveziküler yağlanma izlenir. Süksinat dehidrogenaz aktivitesi mantar zehirlenmesi gibi toksik durumlarda da görülür, çünkü bu durumda mitokondrial zedelenme gerçekleşmiştir. Viktorya blue B ve benzer boyalar Hepatit B yüzey antijeninin (HBsAg) gösterilmesinde çoğunlukla immünohistokimyasal metodların uygulanamadığı durumlarda kullanılır. Karaciğer bir çok metabolik hastalığın da aynasıdır. Çünkü hem hepatositlerin anormal birikim ürünleri mevcuttur hem de hepatik sinüzoidleri döşeyen hücrelerin depo görevleri mevcuttur (Doran, 2005).

Histokimyasal teknikler sıklıkla tanıya yardımcı olur, ancak biyokimyasal analizler kesin tanı için vazgeçilmezdir. Glikojen depo hastalığında karaciğer glikojeninin tipi ve dağılımında değişiklikler izlenir. Rutin histolojik süreçler glikojenin değişikliklerini gösterir böylece glikojen depo hastalığı şüphesi doğar. Tip 0 (Glikojen sentez eksikliği) glikojen depo hastalığında ve tip I (Glukoz-6-fosfat az eksikliğinde) karaciğer büyük ve yağlıdır, fakat tip 0 glikojende belirgin azalma ve kayıp gösterirken tip I de normal glikojen artmıştır. İnfantil form tip II glikojen depo hastalığında (Pompe hastalığı) artmış monopartikülat (daha solubl) glikojen hepatositler ve Kupffer hücreleri içinde birikir. Glikojenin oldukça insolubl formu

(amylopectin) tip IV'de hepatositlerde birikir. Bu tipte soluk sitoplazmik inklüzyon cisimcikleri vardır ve PAS, Lugol's iodine ve koloidal demir ile boyanırlar. Tip VI (Karaciğer fosforilaz kinaz eksikliği) glikojen depo hastalığında ise karakteristik olarak normal glikojenin hücreden dışa çıkışı söz konusudur. Tip V ve Tip VII'de ise karaciğerde bir anomali görülmez. Glukoz 6 fosfataz (Glikojen depo hastalığı Tip I) histokimyasal olarak Tip IA'da gösterilemez. Lizozomal asit fosfataz ise histokimyasal olarak normal veya yalnızca hafif glikojen depo hastalığında izlenebilir. Lipid depo hastalıkları da karaciğeri tutar. Gaucher hastalığında büyük Gaucher'e benzeyen değişiklikler Kupffer hücrelerinde görülür. Aynı iri hücreler portal alanlarda da karşımıza çıkar. Boyama reaksiyonları diğer bölgelerdeki gibidir. Hepatositler tutulmamıştır. Niemann-Pick hastalığında hepatositler gibi Kupffer hücreleri de geniş ve köpüksüdür. Yağ, kolesterol ve sfingomyelin için yapılan boyalar pozitiftir. Oysa asit fosfataz reaksiyonu köpüksü hücrelerin karakterini belirgin kılar. Kolesterol ester depo hastalıklarında, karaciğer büyümüştür, turuncu renktedir, hepatositler lipid ile doludur. (Doran,2005)

Hücreler lipid boyaları ile pozitif boyanır, frozen kesitlerde asit esteraz aktivitesi izlenmez. GM1 gangliosidozide β -galaktosidaz enzimi indoksil metodu ile frozen kesitlerde gösterilebilir. Karaciğer değişiklikleri juvenil formda pek belirgin değilken enzim yoktur. Infantil formda ise belirgin hepatosit ve Kupffer hücre vakuolizasyonu vardır, fakat yağ demonstre edilemez. (Doran,2005)

Asit mukopolisakkaridler mukopolisakkaridozda hepatositlerde ve Kupffer hücrelerinde bulunur ve Haust ve Landing metodu ile frozen kesitlerde gösterilebilirler. Suda çözünme yeteneği çok fazla olan bu maddelerin histokimyasal olarak gösterilmesi zordur (Doran,2005).

5.MATERYAL-METOD

Çalışmamızda materyal-metod 2 bölümden oluşuyor. İlk bölümde bitkisel ekstratlar hazırlanır ve bu hazırlanan ekstraktlar deney hayvanlarına uygulanması. İkinci aşama ise uygulama sonunda hayvanların doku örnekleri histolojik ve biyokimyasal yönden incelendi.

5.1. Ekstraksiyonların Hazırlanması ve Uygulaması

Bitkisel karışımımız Tarım Bakanlığından onaylı olan ve kapsüller içinde hazırlanmış şekildedir. Bu konuda ilgili firmadan izin alınmıştır. Bitkisel karışımın içeriğindeki bitkiler aşağıda verilmiştir;

Urtica pilulifera L. tohumu (%40), *Silybum marianum* (L.) Gaertner. tohumu *Curcuma longa* L., *Zingiber officinale* Roscoe, *Nigella sativa* L., *Apium graveolens* L. tohumu, *Peganum harmala* L. tohumu ve *Brassica rapa* subsp *rapa* L. tohumu eşit oranlarda bulunmaktadır.

Ekstraktların hazırlanması infüzyon yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde 100 ml suya 2 gr bitkisel drog oranında olacak şekilde yapılmıştır (Baytop,1999). Bizim çalışmamızda 1lt kaynar saf su üzerine 20 gr bitkisel karışım ilave edilip 1-2 dk kaynatılır. Elde edilen karışım soğuyuncaya kadar beklenilir. Beklenen sürede bitkisel karışımındaki etken maddelerin suya infüze edilmesi sağlanılır. Soğuduktan sonra bitkisel materyaller süzülür. Geri kalan ekstrakt çalışmamız için kullanıma hazır hale getirilmiştir. Diğer gruba verilmek üzere %30 Etil Alkol hazırlanır. Bu hazırlanan ekstraksiyonlar ve etil alkol hayvanlara uygulanmak üzere hazır hale getirilmiş olur.



Şekil 5.1: Isırgan tohumlu bitkisel karışımın ekstraktının hazırlanması

Deney hayvanları uygulaması;

Deneyisel çalışmamızda sağlıklı, dişi, 200 ± 30 gram ağırlıkta, 4 aylık, Wistar cinsi, albino sıçanlar kullanıldı. Deney sürecinde 12; 12 aydınlık/ karanlık ışıklandırması olan, ısı (21 ± 1 °C) ve nemi (%45-65) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldılar. Deneye başlamadan önce hayvanların bir hafta süre ile ortam koşullarına adaptasyonu sağlandı. Deney boyunca tüm sıçanlar polikarbon şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi. Uygulamalar için gerekli etik izin Pamukkale Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Etik Kurulu-HADEK'ten alınmıştır.

Çalışmamızda toplam dört grubumuz mevcuttur bu deney grupları aşağıdaki tabloda özetlenerek verilmiştir. Uygulama yöntemimiz oral yoldan ağza bırakılarak içirilmesi sağlanmıştır.

Tablo 5.1: Hayvan uygulama grupları

Deney ve Kontrol Grupları	Hayvan Adedi
1. Kontrol Grubu: Çeşme suyu verilecek grup	5
2. Alkol Grubu: %30'lik etanol verilecek grup (3lt)	5
3. Alkol + Isırgan Tohumlu Bitkisel Karışım Grubu: %30 etanol+ bitkisel ekstrakt (3lt)	5
3. Isırgan Grubu: bitkisel karışımdan elde ettiğimiz ekstrakt verilecektir(3lt)	5
Kullanılan Toplam Hayvan sayısı	20



Şekil 5.2:Deney hayvanları uygulaması

10 hafta sonunda 24 saat uygulama yapılmadan bekletilir ve süre sonunda veteriner hekim kontrolünde sıçanlara ketamin 0.008 ml/gr ve kasılmaları önlemek için Rompun 0.005 ml/gr intraperitoneal olarak uygulandı. Uygulama sonunda bayıltılan sıçanların kan ve karaciğer dokuları alımı özel yöntemlere gerçekleştirilir.

Kan örnekleri enjektörler yardımıyla bayıltılmış hayvanların direkt olarak kalbinden çekilmiştir. Çekilen kanlar hemolize olmasını engellemek için biyokimya tüplerine koyulmuştur. Bu kan örnekleri Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Merkezi Laboratuvarında 4100 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir.

Karaciğer doku örneklerinin Saint Marie tespit solüsyonu ile tespit edilerek fiksatifte bırakılmıştır.

Oilred-O boyama yöntemi için dokular hızla O.C.T (Optimal Cutting Temperature-Frozen doku matrisi) ortamına alındıktan sonra sıvı azot içine atılmıştır. Bu dokular daha sonra ise Ultra Low Temperature Freezer' de (-86 °C) muhafaza edilmiştir.



Şekil 5.3:Hayvanların kesimden önce anestezi ile bayılması



Şekil 5.4: Anestezi ile bayılmış sıçanlar



Şekil 5.5: Kalpten kan örneklerinin alınması



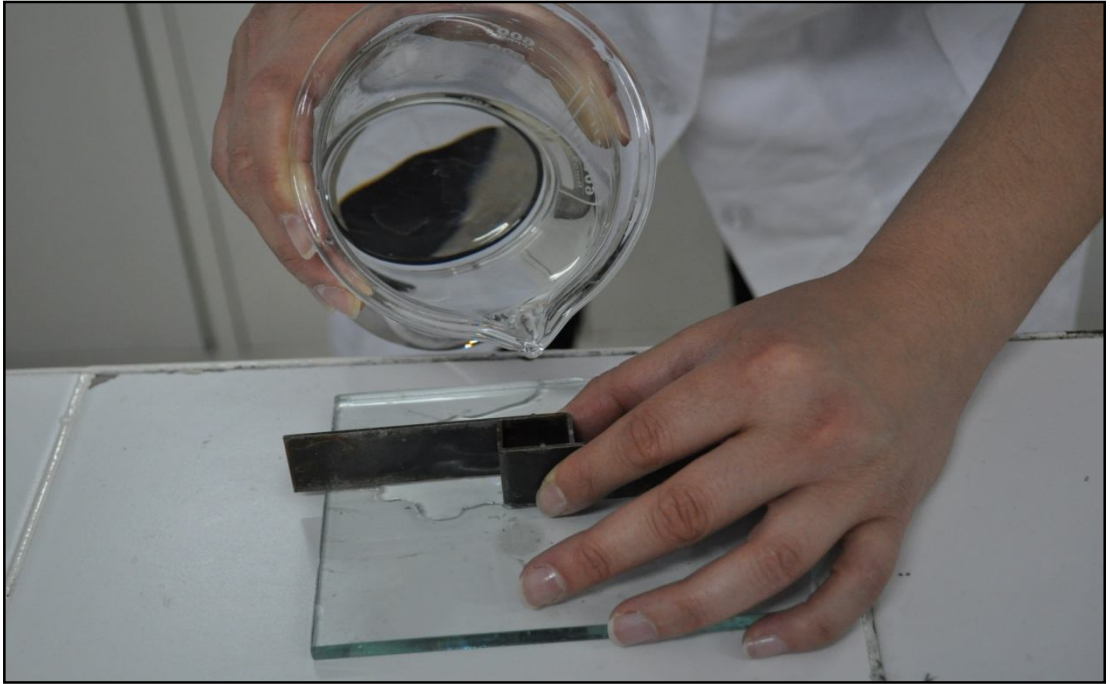
Şekil 5.6: Anestezi ile uyutulmuş hayvanların karaciğer dokularının alınımı

5.2.Histokimya ve Biyokimya alışmaları

Histolojik alışmalar;

Doku takibi

Karaciğer doku örnekleri histokimyasal boyama yöntemi için Saint Marie solusyonu ile tespit edildi. Tespit işleminden sonra rutin işık mikroskobu doku takibi yöntemi uygulandı. Daha sonra dokular parafin içinde bloklandı. Mikrotomla 5 mikrometrelik kesitler alındı. Doku kesitleri lizinli lama alınır.



şekil 5.7:Dokuları parafine gömme



şekil 5.8: Parafine gümüş dokular ve L levhalar

Oil Red O boyama için Ultra Low Temperature Freezer' de bekletilen dokular Cryo mikrotomunda (Kriyostat) ile özel kesim yapılmıştır.



Şekil 5.9: Mikrotom yardımı ile dokulardan kesit alma



Şekil 5.10: Oil Red O boyama için kesit alınan Cryo mikrotomu

Histolojik boyama

Histolojik boyamada öncelikli olarak karaciğerin genel histolojisini incelemek için hematoxilen-eozin ile boyandı. Bu boyama yöntemi için daha önce Sainte-Marie tespit solüsyonunda bekletilmiş dokular rutin doku takibi yapılarak, mikrotomla alınan kesitler hematoxilen-eozinle boyandı.

Karaciğer epitel hücrelerinde (hepatositler) yağlanmayı incelemek için Oil Red O boyası kullanıldı (<http://datasheets.scbt.com/sc-203749.pdf>).

Boyanan dokular ışık mikroskobu yardımıyla hücrelerin genel yapısal özellikleri ve hepatositlerdeki yağlanma incelendi.

Biyokimya çalışmaları;

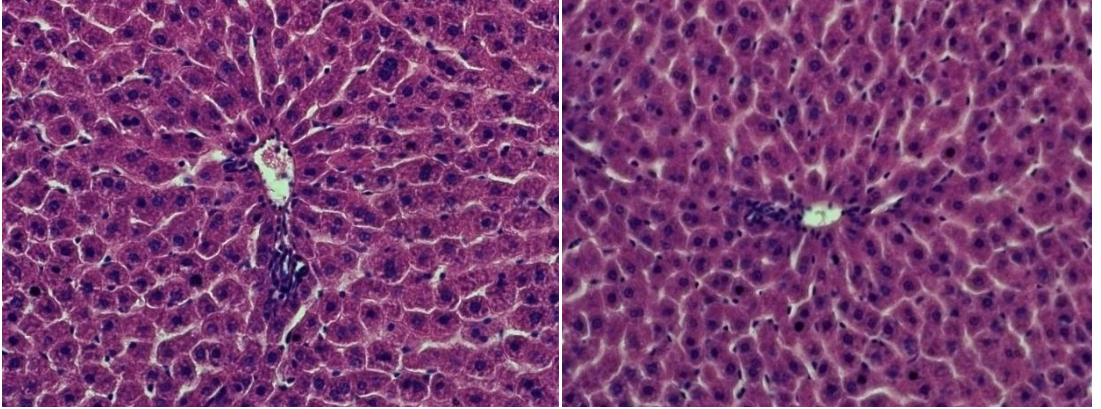
Hayvanlardan alınan kanlar biyokimya tüplerine alınmıştır. Kanlar 4100 rpm' de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda elde edilen serumdaki ALT ve AST enzim analizi Pamukkale Üniversitesi Hastaneleri Merkezi Laboratuvarında Roche Cobas 6000 cihazında (AST(u/l);ALT(u/l)) enzimatik yöntemlerle çalışıldı. Elde edilen ALT ve AST sonuçları istatistiksel olarak SPSS programı ile değerlendirildi.

6.BULGULAR

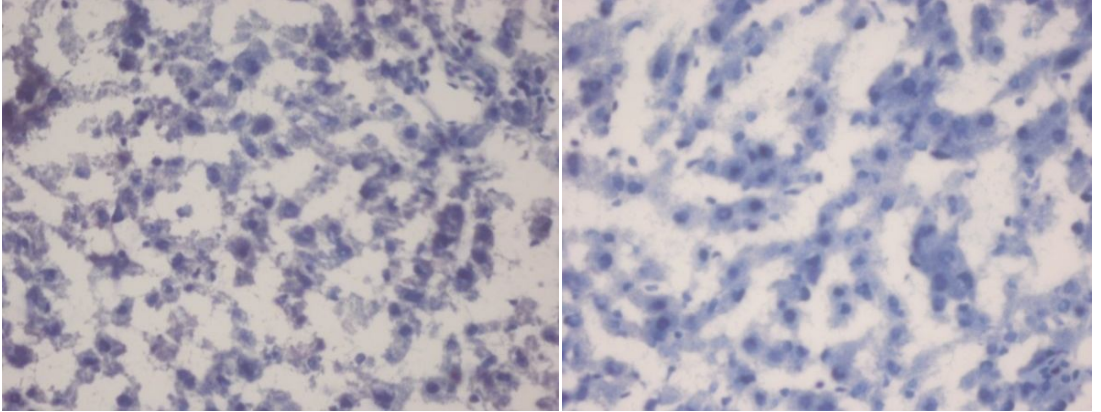
6.1. Histolojik Bulgular

Kontrol Grubu:

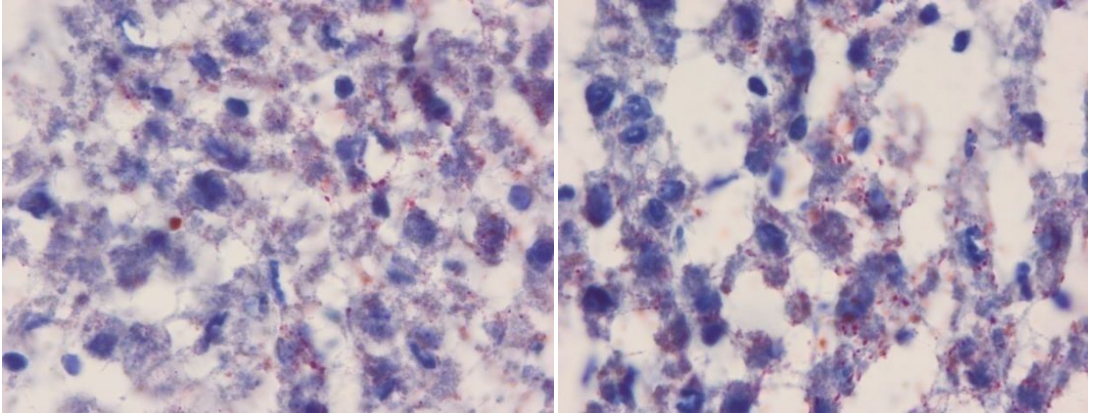
Hepatositler, portal üçgen ve sentral ven normal görünümdeydi. Hücrelerin ışınal dizilimi düzenliydi ve hücre sınırları ve çekirdek yapıları normal hepatosit hücre özelliğindeydi. Oil Red O ile boyanmış dokularda çok az miktarda yağ damlacığı izlenmekteydi.



Şekil 6.1: Kontrol Grubu karaciğer dokusu (H-E; X400)



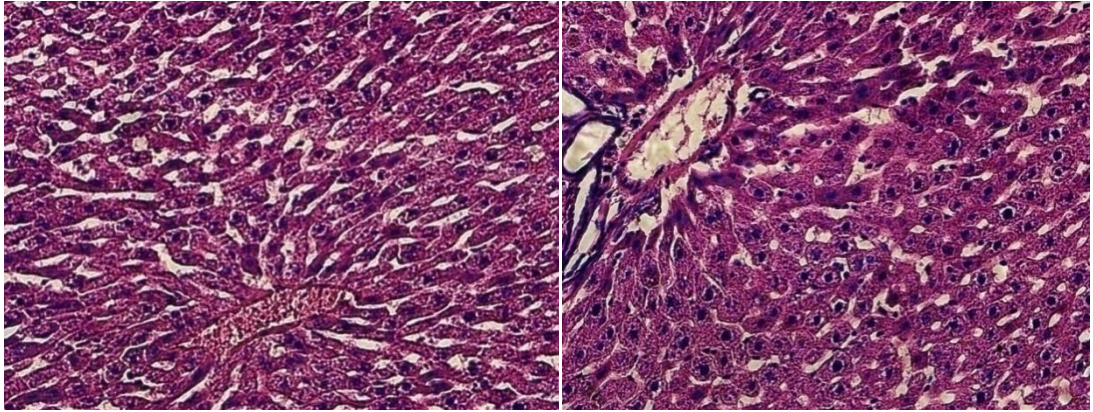
Şekil 6.2: Kontrol Grubuna ait karaciğer histolojisi (Oil red O; X400)



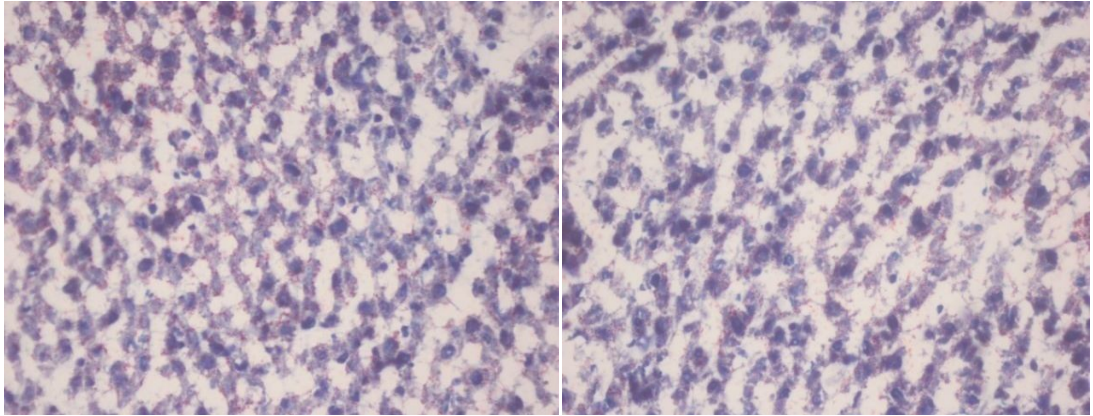
Şekil 6.3: Kontrol Grubuna ait karaciğer histolojisi (Oil red O; X1000)

Alkol Grubu:

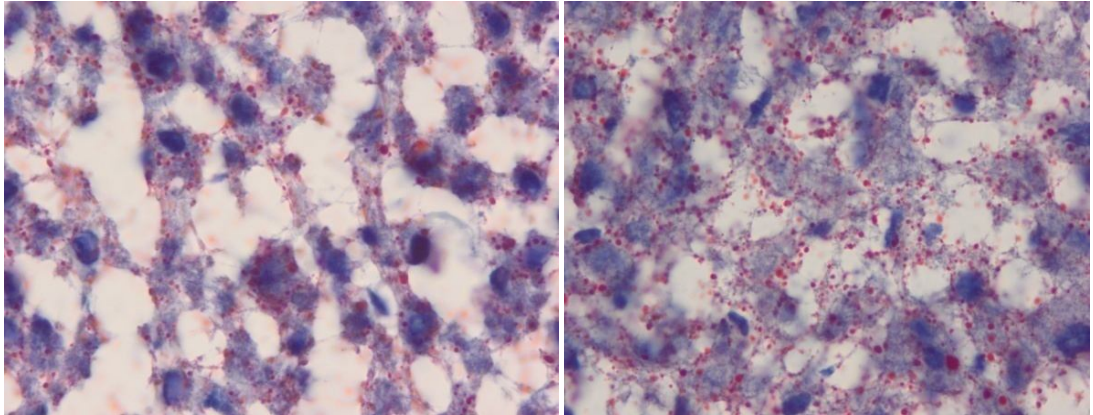
Alkol verilen grupta vakuoler ve granüler dejenerasyon belirgindi. Hepatositler arasında yağ hücrelerinin arttığı gözlemlendi. Hepatosit şeklini kaybetmiş ve dalgalı yapı görünümü almıştı. Bazı çekirdeklerde yine normal şeklini kaybetmiş yarım ay görünümünü aldığı gözlemlendi. Hücreler ışımsal dizilimi kaybetmiş ve bazı alanda hücreler arasında boşluklar tespit edildi. Ayrıca hücrelerin sitoplazmalarında boşluklar gözlemlendi. Oil Red O ile boyanmış dokularda çok yoğun bir şekilde yağ damlacıkları bulunmaktaydı.



Şekil 6.4: Alkol Grubuna ait karaciğer histolojisi (H-E; X400)



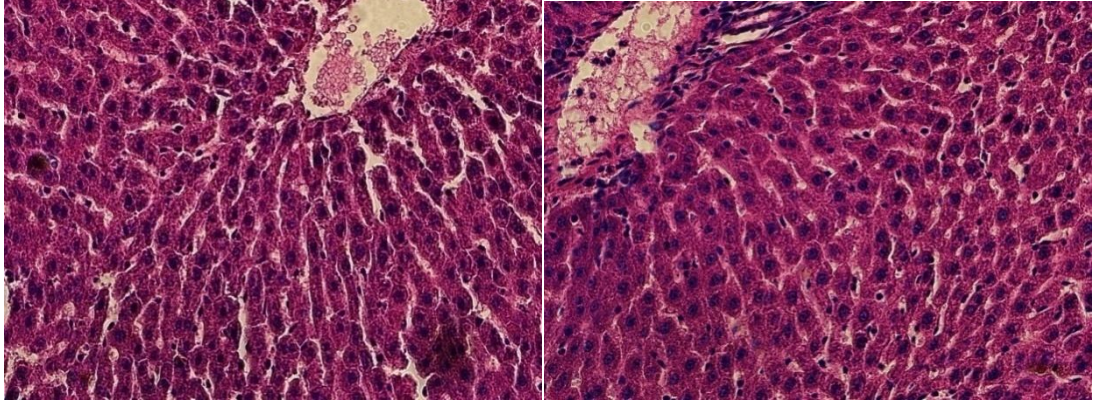
Şekil 6.5: Alkol Grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O; X400)



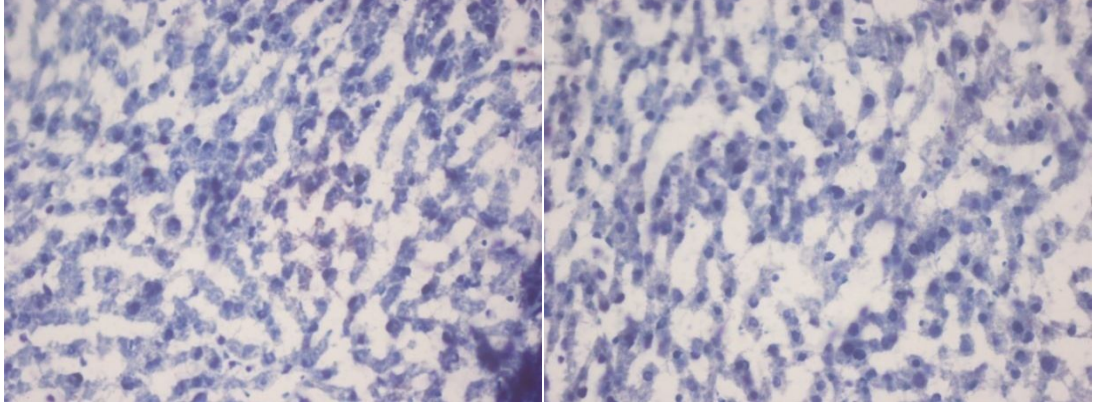
Şekil 6.6: Alkol Grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O; X1000)

Alkol+Isırgan Grubu:

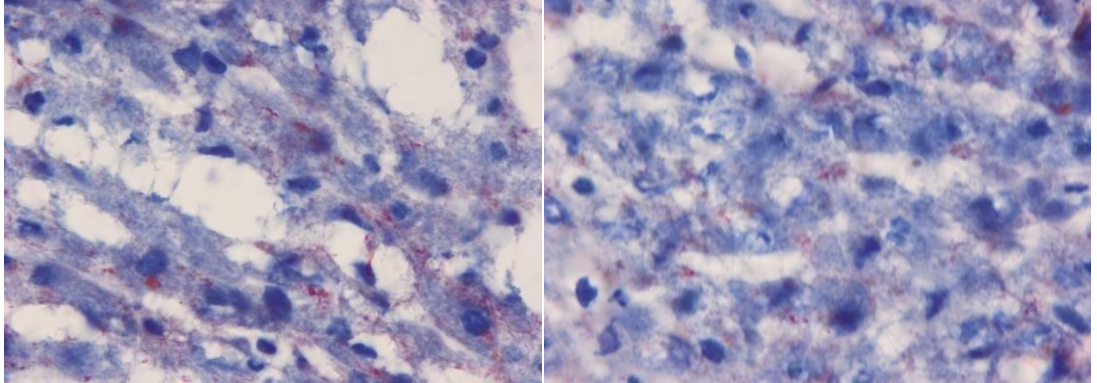
Alkol+Isırgan grubunda dejenerasyon çok az alanda izlendi. Hücre sınırları normal görünümdeydi. Hücreler arası boşluklar alkol grubuna göre daha azdı, bazı alanlarda sinozoid açıklıklar genişlemiş olarak izlenmekteydi. Bazı alanlarda hücrelerin ışımsal dizilimi bozulmuş olmasına rağmen büyük bir bölümü hücre düzenini daha iyi korumuştur. Hücreler normal görünümdeydi ve çekirdek dejenerasyonu izlenmemekteydi. Oil Red O ile boyanmış dokular kontrol grubuna benzerlik gösterip daha az yağ damlacığı bulundurmaktaydı.



Şekil 6.7: Alkol+Isırgan grubunun karaciğer histolojisi (H-E; X400)



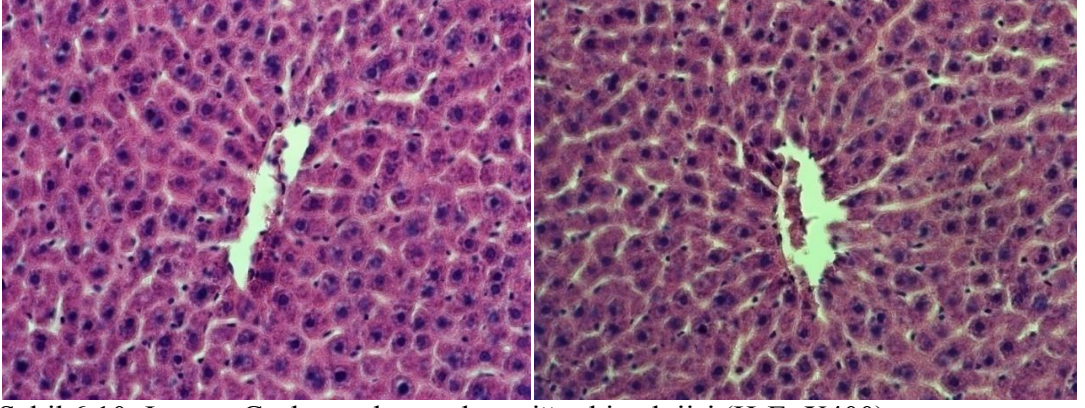
Şekil 6.8: Alkol+Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O; X400)



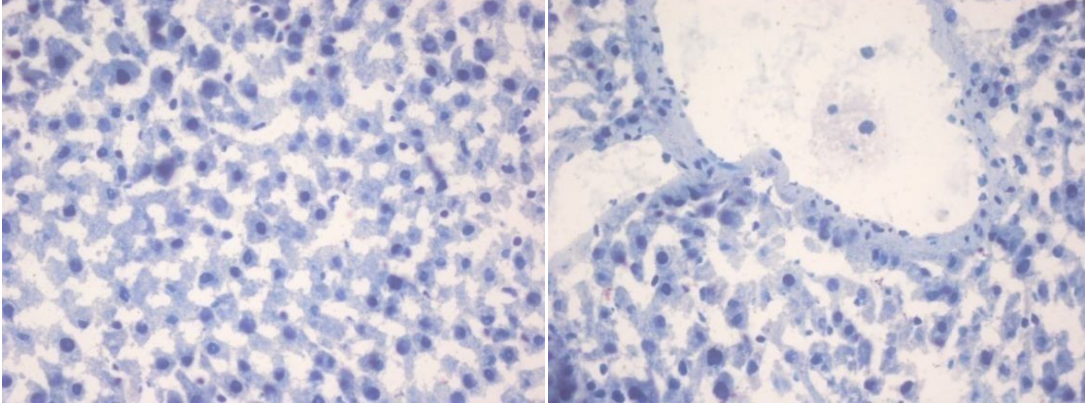
Şekil 6.9: Alkol+Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O; X1000)

Isırgan Gurubu:

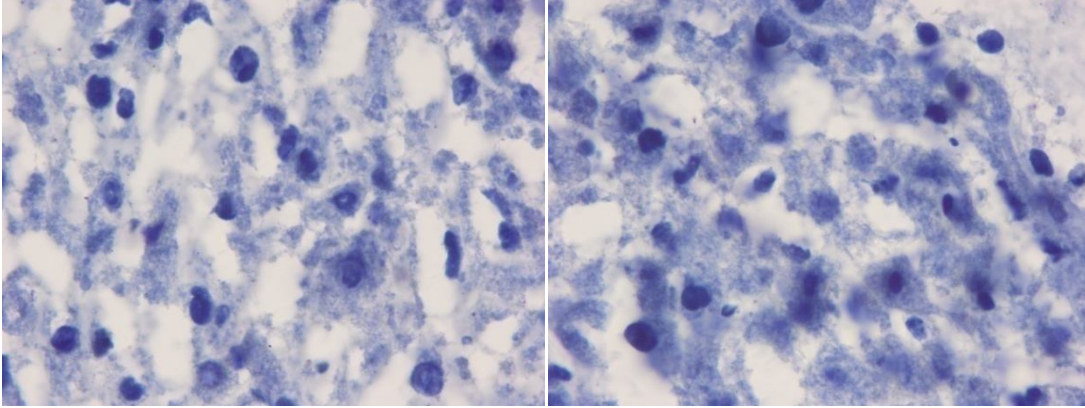
Hepatositlerde, portal üçgende ve sentral vende herhangi bir dejenerasyon yoktu. Hepatositlerde ışınsal dizilimini korumaktaydı. Hücre sınırlarında ve çekirdek yapılarında herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi. Oil Red O ile boyanmış dokularda hepatositlerde çok az yağ damlacığı izlendi.



Şekil 6.10: Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (H-E; X400)



Şekil 6.11: Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O X400)



Şekil 6.12: Isırgan Grubu grubunun karaciğer histolojisi (Oil Red O X1000)

6.2. Biyokimyasal Bulgular

Biyokimyasal çalışmalar hayvanlardan alınan kanlar ile yapılmıştır. Biyokimya tüplerine alınan kanlar 4100 rpm' de 15 dk santrifüj edilmiştir. Alınan kanlarda, serum AST ve ALT değerleri Roche Cobas 6000 cihazında enzimatik yöntemle çalışıldı. Analiz sonucu ortaya çıkan ALT ve AST değerleri aşağıdaki tabloda 5.1. verilmiştir. Bu sonuçlar istatistiksel olarak SPSS programı ile istatistiksel olarak değerlendirildi. İstatistik sonucunda P değeri $P > 0,005$ olduğundan gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 6.1: ALT ve AST enzimleri analiz sonuçları

Kontrol Grubu	ALT	AST	Alkol Grubu	ALT	AST
Sıçan 1	31	46,1	Sıçan 1	30,6	51
Sıçan 2	35,4	81,2	Sıçan 2	43,7	79,7
Sıçan 3	28,9	43,5	Sıçan 3	29,7	48,4
Sıçan 4	45,7	81,8	Sıçan 4	89,1	198,5
Sıçan 5	36,2	88,8	Sıçan 5	24,2	41,2
Ortalama	35,44	68,28	Ortalama	43,46	83,76
Alkol+Isırgan Tohumlu Bitkisel Karışım Grubu	ALT	AST	Isırgan Grubu	ALT	AST
Sıçan 1	46,6	78,6	Sıçan 1	68,9	67,2
Sıçan 2	49,1	129,1	Sıçan 2	57,4	85,4
Sıçan 3	33,1	86,4	Sıçan 3	41,8	55,8
Sıçan 4	54	88	Sıçan 4	47,9	67,3
Sıçan 5	38	124	Sıçan 5	0	0
Ortalama	42,93	98,033	Ortalama	54	68,925

Tablo 6.2: ALT ve AST enzimleri istatistik sonuçları

Uygulama	N	Mean Rank		ALT	AST
Kontrol	5	6,7	Chi-Square	5,922	4,621
Alkol	5	7,7	df	3	3
Isırgan+Alkol	5	11,8	Asymp. Sig.	0,115	0,202
Isırgan	4	14,75			
Toplam	19				
Kontrol	5	8,8			
Alkol	5	7,8			
Isırgan+Alkol	5	14,6			
Isırgan	4	8,5			
Toplam	19				

7.TARTIŞMA VE SONUÇ

Alkol alışkanlığı; birçok ülkede karaciğer hastalıklarının önde gelen nedenleri arasındadır. Alkol metabolizmasının gerçekleştiği başlıca organ olan karaciğer, çeşitli fonksiyonel ve dönüşümsüz değişiklikler için duyarlıdır. Sosyal olarak orta derecede alkol tüketenler de bile, karaciğer hasarı için risk oluşturur. Uzun süre ve aşırı miktarlarda etil alkol alanların büyük bir kısmında karaciğer zedelenmesi bulguları ortaya çıkar (Uyanoğlu, 2006).

Alkol kullanımı derecesine ve sıklığına bağlı olarak, karaciğerde anlamlı, yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır (Jaeschke vd., 2002; Lieber, 2004).

Bu değişiklikler arasında yağlı karaciğer, alkolik hepatit, hepatik fibrozis ve siroz sayılabilir (Kumar vd., 2000). Akut ve kronik alkol kullanımının oluşturduğu karaciğer doku hasarını izlemede alanin amino transferaz (serum glutamat – piruvat amino transferaz) ve aspartat amino transferaz (serum glutamat – oksaloasetat amino transferaz) tayininin yararlı olduğu gösterilmiştir (Fickert ve Zatloukal, 2000; Wallach, 2000).

Birçok bilim adamı tarafından çok uzun yıllardan beri alkolik karaciğer hasarının tedavisi araştırılmış fakat henüz çok etkili bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. Araştırmacılar karaciğer harabiyetini önlemek veya tedavi etmek amaçlı bir çok kimyasal madde ve bitki kullanmışlardır. Karaciğer hasarı, değişik yollarla inhibe ve aktive ederek yada antioksidan savunma sistemini çeşitli yollarla güçlendirerek tedavi edilmeye çalışılmıştır (Aksoy, 2007).

U. dioica tohumu etanol ekstresi ile Şener ve arkadaşları hepatoprotektif ve antioksidatif etkilerini araştırmışlardır. Karaciğere CCl₄ uygulayarak karaciğer harabiyeti oluşturmuşlardır. Bu harabiyete karşı 14 gün boyunca intraperitoneal yolla *Urtica dioica* L. tohumu etanol ekstresi verilmiştir. uygulama sonrasında karaciğer enzimlerine ve karaciğer dokusunu incelemişlerdir. Isırgan otu tohumu etanol ekstresinin CCl₄'e bağlı olarak artan karaciğer enzimlerinin düzeylerini ve karaciğer lipid peroksidasyonu düzeylerini azalttığı görülmüştür. Histolojik olarak hepatoditlerdeki dejenerasyonu azaltmıştır. Sonuç olarak, ısırgan otu tohumu etanol ekstresi karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda, karaciğer hasarını önleyici olduğu bulunmuştur (Şener, 2010).

Terzi ve arkadaşları *Urtica dioica* L.'nin Karaciğer İskemi Reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırmışlardır. İskemi Reperfüzyon yapılmış sıçanlara intraperitoneal olarak ısırgan uygulanmıştır. Uygulama sonunda karaciğer ve kan örnekleri alınmıştır. Kan örneklerinde ALT ve AST enzim değerleri ölçülmüştür. Hasar oluşturulan grubun yüksek çıkarken ısırgan uygulanan grubun düşük seviyededir. Histolojik olarak ta ısırgan verilen grubun hasarı azalttığı bulunmuştur (Terzi vd., 2010).

Girish ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada fareler üzerinde 6 adet farklı içeriğe sahip bitkisel karışımların CCl₄ uygulanmış karaciğer toksisitesine karşı etkilerini araştırmışlardır. 7 hafta boyunca farelere CCl₄ uygulayarak karaciğerde toksisite oluşturmulardır. 7 hafta sonunda 6 farklı bitkisel karışımı farklı dozlarda farelere uygulamışlardır. Uygulama sonunda AST ALT ALP enzim düzeyi en yüksek CCl₄ uygulanan grupta çıkmıştır. Bitkisel karışım uygulanan gruplarda ise hem enzim düzeyleri normal seviyede hemde histolojik olarak hasar giderilmiştir. Bu karışımların içerisinde en etkili olanı ise Liv 52 isimlendirdikleri karışımdır (Girish vd., 2009).

Kim ve arkadaşları HV-P411 kodlu ticari ürünün CCl₄ uygulanmış karaciğerin fibrosizine karşı koruyucu etkilerini araştırmışlardır. 8 hafta boyunca toplam 6 gruba farklı dozlarda bitkisel karışım ve CCl₄ uygulanmıştır. 8 hafta sonunda kandaki ALT ve AST enzim düzeyini, karaciğer histolojisini ve karaciğer fibrosizini araştırmışalar. CCl₄ karaciğere vermiş olduğu hasarı biyokimyasal ve histokimyasal olarak tespit etmişler. Karaciğer fibrosizini bitkisel karışımla engellenmiştir (Kim vd., 2011).

Bu çalışmada ticari ürün olan ısırgan tohumlu bitkisel karışımın alkolik karaciğer hasarına karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır.

Aşıcıoğlunun yapmış olduğu çalışmada alkolik karaciğer hasarına karşı likopenin koruyucu etkilerini araştırmıştır. 10 hafta boyunca sıçanlara likopen ve etanol uygulamış. Sadece alkol verilen grupta histopatolojik olarak karaciğer hasarı oluşmuş alkol+likopen alan grupta ise karaciğer hasarı daha azdır. Yine ALT VE AST değerleri alkol alan grupta artış gösterirken diğer grupta anlamlı bir düşüş olmuştur. Likopenin alkolik karaciğer hasarını biyokimyasal ve histopatolojik yönden araştırarak hasara karşı koruyucu etkisini bulmuştur. Heptositlerdeki alkole bağlı yağlanmayı likopen azaltmıştır (Aşıcıoğlu, 2005).

Aşıcıoğlu ile aynı uygulamaları uygulayarak, ısırgan tohumlu bitkisel karışım hepatositlerdeki alkole bağlı yağlanmayı azalttığını, hatta tamamen giderdiğini söyleyebiliriz.

Aksoy yapmış olduğu çalışmada karvakrolün alkolik karaciğere karşı etkilerini araştırmıştır. Etanol ve karvakrolü farklı dozlarda toplam 6 grup olacak şekilde sıçanlara 6 hafta uygulanmıştır. Uygulama sonunda kanda ALT ve AST enzimleri düzeyi belirlenmiş ve karaciğer doku örnekleri histokimyasal olarak araştırılmıştır. Araştırmalar sonunda düşük dozlarda uygulanan karvakrolün alkolik karaciğer hasarlarını giderdiğini histolojik olarak ortaya konmuştur. Koruyucu etkiyi biyokimyasal olarak bulamamışlardır, karvakrolü yüksek dozlarda uyguladığında ise karaciğer hasarını gidermediğini söylemektedir (Aksoy, 2007).

Bizim çalışmamızda da karaciğer hasarı histolojik olarak tespit ettik ama biyokimyasal olarak istenilen sonucu elde edemedik.

Alkol alan grupta karaciğer dokusu dejenere olmuştur. Hücreler ışınal dizilimi kayıp etmiş ve bazı alanda hücreler arası boşluklar oluşmuştur. Bu bulgulardan yararlanarak alkol karaciğere hasarı tespit edilmiştir. Oil Red O ile boyanmış dokularda hepatositlerinde yağlanma oldukça yoğun bir şekilde idi. Alkol karaciğerde yağlanmaya sebep olduğunu bulduk.

Alkol + ısırgan tohumlu bitkisel karışım uygulanan grupta karaciğer dokusunda dejenerasyon azdır. Hücrelerin ışınal dizilimi normal görünümündedir. Oil Red O ile boyanmış dokuların hepatositlerinde yağlanma azdır. Bu bulgulardan yararlanarak ısırgan tohumlu bitkisel karışım alkolün karaciğere vermiş olduğu hasara karşı koruyucu etkisi olduğu sonucuna vardık.

Aynı zamanda ısırgan tohumlu bitkisel karışım uygulanan grup kontrol grubu ile benzerlik göstermektedir. Isırgan tohumlu bitkisel karışımın her hangi bir dejeneratif bir etki göstermemektedir.

Shaker ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada sıçanlara karbon tetra klorür uygulayarak karaciğerde hasar oluşturmuşlardır. Bu karaciğer hasarını *S. marianum* bitkisinin ekstraktı ile gidermişlerdir. Bu çalışmada *S. marianum* bitkisinin karaciğer koruyucu etkisini histopatolojik ve biyokimyasal çalışmalarla kanıtlamışlardır (Shaker vd., 2010). Bizim karışımımızda da bulunan *S. marianum* bitkisinin karaciğer koruyucu özelliği bunun gibi birçok araştırmada bulunmuştur.

Biyokimyasal yönden karaciğer harabiyetine bağlı olarak kan serumundaki ALT ve AST enzimlerini inceledik. ALT ve AST enzimlerini kan serumundaki değerlerini gruplar arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak karşılaştırdık. İstatistik sonucu $P>0,005$ olduğundan gruplar arası anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu farklılığını olmamasının sebebi gruplarımızın ve gruplardaki hayvan sayısının istatistiksel veri olarak yetersiz olduğu sonucuna vardık.

Sonuç olarak;

Isırđan tohumlu bitkisel karışımın alkolik karaciğer hasarına karışı koruyucu etkilerini amaçladığımız çalışmamızda karışım karaciğer harabiyetini histolojik olarak incelediğimizde hasarı azaltmıştır ve hepatositlerdeki yağlanmayı da azaltmıştır.

Çalışmamızda ALT ve AST enzimlerini gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda bir $P>0,005$ olduğundan anlamlı bir fark bulunmamıştır. Gruplar arasında anlamlı bir fark olmamasının sebebi gruplarımızdaki sıçan sayısının yeterli olmamasındandır.

Alkolün karaciğere vermiş olduğu hasara karışı ısırđan tohumlu bitkisel karışımın koruyucu özelliği histolojik olarak ortaya konuğu.

KAYNAKLAR

- Aksoy A.**, 2007, Alkolik Sıçan Karaciğeri Üzerine Karvakrolün Etkisi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- Aktuna H.**,1993, Alkol, Bil. Tek. Derg., Cilt. 26, 307: 438-444.
- Albano E.**, 2002, Free Radical Mechanisms in Immune Reactions Associated with Alcoholic Liver Disease, Free Radic Biol Med., 15;32(2):110-4.
- Ali BH.** and Blunden G., 2003, Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*, *Phytother. Res*, 17: 299– 305.
- Al-Jishi SA.** and Hozaifa BA., 2003, Effect of *Nigella sativa* on blood hemostatic function in rats. *J. Ethnopharmacol*, 85: 7-14.
- American Psychiatric Association**, 1995, Practice guideline for the treatment of patients with substance use disorders: alcohol, cocaine, opioids. *Am J Psychiatr*, 52(11)(supp): 5-59.
- Ammon H. P. T.**, Anazoda M. I., Safayhi H., Dhawan B. N. and Srimal R. C., 1992, Curcumin: A potent inhibitor of Leukotriene B₄ formation in rat peritoneal polymorphonuclear neutrophils (PMNL), *Planta Medica*. 58, 26-28.
- Anandaraj M.**, Devasahayam S., Zachariah T.J., Eapen S.J., Sasikumar B. and Thankamani C.K., 2001, Ginger. Extension Pamphlet, Agricultural Technology Information centre, Indian Institute of Spices Research, Calicut, Kerala.
- Andiran F.**, Ayhan, A., Tanyel F.C., Abbasoglu O. and Sayek R., 2000, Regenerative capacities of normal and cirrhotic liver following 70% hepatectomy in rats and the effect of N-Tocopherol on cirrhotic regeneration, *Journal of Surgical Research*, 89, 184-188, p.
- Ankoma-Sey, V.**, 1999, Hepatic regeneration- revisiting the myth of prometheus. *News Physiol. Sci.*, 14, 149-155, p.
- Asif H. M.**, M. Akram M., Usmanhani K., Akhtar N., Shah P. A., Uzair M., Ramzan M., Ali Shah S. M. and Rehman R., 2011, Monograph of *Apium graveolens* Linn., *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(8), pp. 149-149.

- Aşıcıoğlu Y. T.**, 2005, Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi, Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, İstanbul.
- Atta A.H.** and Alkofahi A., 1998, Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 60, 117-124.
- Auddy B.**, Ferreira M., Blasina F., Lafon L., Arredondo F., Dajas F., Tripathi P. C., Seal T. and Murkerjee B., 2003, Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases, *Journal of Ethnopharmacology*, 84, 131-138.
- Augustyniak A.**, Waszkiewicz E., Skrzydlewska E., 2005, Preventive Action of Green Tea from Changes in the Liver Antioxidant Abilities of Different Aged Rats Intoxicated with Ethanol, *Nutrition*, 21 925–932.
- Avwioro G.**, Iyiola S., Aghoghovwia B., 2010, Histological and Biochemical Markers of The Liver of Wistar Rats on Subchronic Oral Administration of Green tea, *North American Journal of Medical Sciences* August, Volume 2. No. 8.
- Azaz A.D.**, Irtem H.A., Kurkcuoğlu M., Baser K.H., 2004, Composition and the in vitro Antimicrobial Activities of the Essential Oils of some Thymus Species. *59(1-2):75-80*.
- Bahar A.**, Tanveer, A., Manoj, V., Shah, A. K., 2002, Hepatoprotective activity of two plants belonging to the Apiaceae and the Euphorbiaceae family, *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 313- 316.
- Başak S.Ş.** ve Candan F., 2008, *Apium graveolens* Linn. (Apiaceae) tohumu uçucu yağının kimyasal bileşimi ve in vitro antioksidan aktivitesi İTÜ Fen Bilimleri Dergisi, Cilt:6, Sayı:1, 3-13
- Başoğlu M.**, Balık A.A., Kavak R., Gündoğdu C., Erman Z., Yıldırğan R. and Ören D., 2000, Effects of growth hormone on hepatic regeneration, *Turk J Med Sci.*, 30, 529-534, s.
- Baydar H.**, 2005, Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları No: 5, Isparta.

- Bayıroğlu F.**, Baydaş B., Meral İ., Türkdoğan K., 1999, Yoğurt ile Beslemenin Ratlarda Serum Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkisi, Van Tıp Dergisi, Cilt:6, Sayı: 4.
- Baytop T.**, 1999, Türkiye'de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün), 2. Baskı, s.: 357, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. şti., İstanbul.
- Bondy SC.**, 1992, Ethanol toxicity and oxidative stress. Toxicol. Lett., 63: 231.241.
- Bown D.**, 1995, Encyclopaedia of Herbs and their Uses. Dorling Kindersley, London. ISBN 0-7513-020-31.
- Carbone D.L.**, Doorn J.A., Kiebler Z., Ickes B.R., Petersen D.R., 2005, Modification of Heat Shock Protein 90 by 4-Hydroxynonenal in a Rat Model of Chronic Alcoholic Liver Disease, The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics JPET 315:8–15.
- Chan E.W.C.**, Lim Y.Y., Wong L.F., Lianto F.S., Wong S.K., Lim K.K., Joe C.E. and Lim T.Y., 2008, Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species, Food Chemistry, 109 , 477–483.
- Chopra R. N.**, Nayar S. L. and Chopra I. C., 1986, Glossary of Indian Medicinal Plants (Including the Supplement). Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.
- Çelikkol A.**, 1996, Alkol kullanım bozuklukları ve tedavisi, Ege Psikiyatri Sürekli Yayınları, cilt 1, sayı 2.
- Çöllü Z.**, 2007, *Urtica pilulifera* L. Bitkisinin Antioksidant Aktivitesinin Araştırılması, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi Kimya Anabilim Dalı, Samsun
- Dahiru D.**, William E.T., ve Nadro M.S., 2005, Protective Effect of *Ziziphus mauritiana* Lam. Leaf Extract on Carbon Tetrachloride-İnduced Liver İnjury, African Journal of Biotechnology Vol. 4 (10), pp. 1177-1179, October.
- Davis P.H.**, 1965, Flora of Turkey and The east Aegean Islands. Vol: 1, s. 263, Univ. Pres., Edinburg.
- Dolar E.**, 2002, Klinik Karaciğer Hastalıkları. Bölüm 4, s. 133-146, 1.Baskı, Nobel&Güneş Tıp Kitabevi.

- Doran F.**, 2005 Histokimya, Aegean Pathology Journal **2**, 62–70.
- Dündar Y.** ve Arslan R.,2000, Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, Afyon.
- Editorial**, 1999, Mast cells in the liver: Clinical and Experimental Allergy, Volume 29, pages 155–158.
- Erbengi T.**, 1994, Histoloji Atlası ve Özel Histoloji, Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul.
- Erkoçak A.**, 1982, Özel Histoloji,A.Ü. Tıp Fakültesi Basımevi, Ankara.
- Eröztürk N.**, 2000, “Bir Yudum Sağlık”, Anahtar Yayınları, İstanbul.
- Ertekin A.**, Türel İ., Oto G., Çelikezen F.Ç., Yaşar S., 2008, Isırgan Otunun Dimetilbenzantrazen Uygulanan Tavşanlarda Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Maddeler ve Nitrit-Nitrat Düzeyleri Üzerine Etkisi, Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, (2) 11-15.
- Evans R.C.**, 1995, Plant polyphenols: free radical scavengers or chain-breaking antioxidants, Biochemical Society Symposium, No:61, 103-116, London.
- Fausto, N.**, 2000, Liver regeneration, Journal of Hepatology 32, 19-31, p.
- Felter H.W. and Loyd J.U.**, 2002, Zingiber (U.S.P.) Ginger.King’s American Dispensatory. www.ibiblio.org/hermed/eclectic/kinga/zingiber.
- Fickert P.**, Zatloukal K. 2000, Pathogenesis of alcoholic liver disease. In: Handbook of Alcoholism (Eds. G. Zernig, A. Saria, M. Kurz, and S.S. O’Malley) Boca Raton, FL: CRC Press, 317-323.
- Fidan, S. M.**, Alma, M. H., Çınar İ., Ertaş M., Köse E. 2004, Tokat Yöresinde Kullanılan Geleneksel Bitkilerin Etnobotaniksel Özellikleri, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, K.Maraş.
- Foster S.**, 2000, Ginger Your Food is Your Medicine. www.herphoto.com/education/monograph/ginger.htm.
- Galun, E.** and Axelrod, J.H., 2002, The role of cytokines in liver failure and regeneration: potential new molecular therapies, Biochimica et Biophysica Acta 1592, 345-358, p.

- Gartner L.P.**, Hiatt J.L., 1997, Color Textbook of Histology, First Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Girish C.**, Koner B.C., Jayanthi S., Rao K.R., Rajesh B. and Pradhan S.C., 2009, Hepatoprotective activity of six polyherbal formulations in CCl₄ induced liver toxicity in mice, Indian Journal of Experimental Biology, Vol: 47, pp 257-263.
- Göker B.**, Özmen R., 2009, Sıçanlarda Isırgan Otu (*Urtica dioica* L.) Yaprağı ile Beslenmenin Akut Karbon Tetraklorür Uygulamasına Bağlı Gelişen Karaciğer Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi Cilt 23, Sayı 2, Sayfa(lar) 077-080.
- Grieve**, 1984, A Modern Herbal. Penguin ISBN 0-14-046-440-9.
- Guyton A.C.**, 2001, Textbook of Medical Physiology, Nobel Tıp Kitabevleri.
- Hegnauer R.**, 1973, *Chemotaxonomie der pflanzen*. Basel/Stuttgart: Birkhauser Verlag, p.43.
- Herraiz T.** 2000. J. Chromatogr, A 881, 483-499.
- Hewawasam R.P.**, Jayatilaka K.A.P.W., Pathirana C., Mudduwa L.K.B., 2004, Hepatoprotective Effect of *Epaltes Divaricata* Extract on Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Mice, Indian J Med Res 120, pp 30-34.
- Hou, Z.**, Yanaga, K., Kamohara, Y., Eguchi, S., Tsutsumi, R., Furu, J. and Kanematsu, T., 2003, A new suppressive agent against interleukin-1b and tumor necrosis factor-a enhances liver regeneration after partial hepatectomy in rats, Hepatology Research 26, 40- 46, p.
- Huxley A.**, 1992. The New RHS Dictionary of Gardening. MacMillan Press ISBN 0-333-47494-5.
- Ivester P.**, Roberts LJ, II, Young T, Stafforini D, Vivian J, Lees C, Young J, Daunais J, Friedman D, Rippe RA, Parsons CJ, Grant KA, and Cunningham C., 2007, Etanol Self-Administration and Alterations in the Livers of the Cynomolgus Monkey, *Macaca fascicularis*. Alcohol Clin Exp Res, 31(1): 144.155.

- İlhan N.**, Seçkin D., 2005, Protective Effect of *Nigella Sativa* Seeds on CCl₄-Induced Hepatotoxicity, Fırat Üniversitesi Sağlık Bil. Dergisi 19(3), 175-179.
- İlter T.**, Tekin F., 2005, Alkol Metabolizması: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Güncel Gastroenteroloji; İzmir.
- Jaeschke H.**, Gores GJ., Cederbaum AI., Hinson JA., Pessayre D., Lemasters JJ., 2002, Mechanisms of hepatotoxicity, Toxicol Sci. 65(2):166-76.
- Janssen YMW.**, Houten BV., Borm PJA., Mossman BT., 1993, Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. Lab. Invest., 69: 261-274.
- Junqueira L.C.**, Carneiro J., Kelley R.O., 1998, Temel Histoloji; 8. Baskı, Barış Kitapçılık.
- Karaöz E.**, 2002, Özel Histoloji, Süleyman Demirel Üniversitesi, Yayın no: 29, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, Isparta.
- Karayılanoğlu T.**, Demirci, D., Karayılanoglu, V., 1991, Kronik alkoliklerde bazı biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi. Biyokimya Derg., 3: 51-56.
- Kay, M.A.** and Fausto, N., 1997, Liver regeneration: prospects for therapy based on new technologies, Molecular Medicine Today, 108-115.
- Kemper K.J.**, 1999, Ginger (*Zingiber officinale*), www.mcp.edu/herbal/default.
- Ketenoglu O.**, Obalı O., Kurt L., Güney K., Tuğ G.N., Geven F., Bingöl Ü., Körüklü T., 2011, Ekonomik Bitkiler, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Kıran Ö.**, 2006, Kozan Yöresi Florasındaki Tıbbi Bitkiler ve Bunların Halk Tıbbında Kullanılışı, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Deontoloji Ve Tıp Tarihi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Kim H.-Y.**, Kim S.-J., Kim K. N., Lee S. G., Lee S.-M., 2011, Protective effect of HV-P411, an herbal mixture, on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis, Food Chemistry 124 248–253.
- Kim M.K.**, Hyun H.S., Choung S.Y., 2006, Effect of Herbal Extrcat Mixtures on Serum and Liver Lipid Metabolism in Chronic Ethanol Administered Rats, Journal of Health Science, 52(4) 344-351.

- Kumar V.**, Cotran R., Robbin S., 2000, Basic Pathology, Sixty Edition, Saunders Company, 47-70.
- Kutlubay R.**, Oğuz E.O., Turgut G., Kocamaz E., 2008, Karaciğer ve Böbrek Üzerine Etanolün Toksisitesi ve L-NAME'in Koruyucu Etkisi, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 15(4)/11-17.
- Kürek N.**, 2007, Denizli ve çevresinde yayılış gösteren Eryngium cinsine ait (*Eryngium campestre* L., *E. creticum* Lam., *E.thorifolium* Boiss.) saf ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Küsmenoğlu Ş.**, 1996, FABAD, J. Pharm. Sci., 21(2), 71-75.
- Lankisch PG** and Banks PA., 1998, Pancreatitis New York, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 377.
- Launert E.**, 1981, Edible and Medicinal Plants. Hamlyn ISBN 0-600-37216-2.
- Lewis, D.A.**, Tharib, S.M., Veitch, G.B.A., 1985, The anti-inflammatory activity of celery *Apium graveolens* L., *International Journal of Crude Drug Research*, 23, 27-32.
- Li YM.**, Chen SH., Yu CH., Zhang Y., Xu GY., 2004, Effect of acute alcoholism on hepatic enzymes and oxidation/antioxidation in rats, *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 3(2):241-4.
- Lieber C. S.**, 2004, Alcoholic Fatty Liver: Its Pathogenesis and Mechanism of Progression to Inflammation and Fibrosis. *Alcohol*, 34(1): 9-19.
- Lieber C.**, 1995, Metabolism of alcohol: an update. In *Alcoholic Liver Disease, Pathology and Pathogenesis*, 2nd edn, Hall, P. ed., pp 17–40. Edward Arnold, London.
- Lieber CS.**, 1997 Etanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin Chim Act.*, 257: 59-84.
- Lumeng L.**, Crabb DW., 1994, Genetic aspects and risk factors in alcoholism and alcoholic liver disease, *Gastroenterology*. 107(2):572-8.
- Lust J.**, 1983, The Herb Book. Bantam books ISBN 0-553-23827-2.

- Majchrowicz E.**, 1975, Induction of physical dependence upon ethanol and the associated behavioral changes in rats, *Psychopharmacologia*, 43; 245-254.
- Masuda T.**, Isobe J., Jitoe A. & Nakatani N., 1992, Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma cantorrihyza*, *Phytochemistry*, 31, 3645–3647.
- Mazzanti G.**, Di Sotto A., Franchitto A., Mastrangelo S., Pezzella M., Vitalone A., Mammola C.L., 2008, Effects of *Cimicifuga racemosa* extract on liver morphology and hepatic function indices, *Phytomedicine*, doi:10.1016.
- Michalopoulos, G.K.**, 1997, Liver regeneration, *Science*, 4. 26, 60-66, p.
- Miquel J.**, Bernd A., Sempere J. M., Diaz-Alperi J. and Ramirez A., 2002, The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review, *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 34, 37-46.
- Montgomery R.**, 1996, *Biochemistry A case-oriented Approach* 6th edition 5: p.203-204 Mosby- Year book.
- Murray R.K.**, Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 1988, (Harper's *Biochemistry*, 21th Edition. Appleton & Lange. Norwalk. Connecticut/San Mateo. California. IX-700.
- NIAAA (National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism)**, 2000, Alcohol Health Services Research, U.S. Department of Health and Human Services, NIH. 10th Special Report to the U.S. Congress on Alcohol and Health.
- Nuutinen H.**, Lindros KO, and Salaspuro M., 1983, Determinants of blood acetaldehyde level during ethanol oxidation in chronic alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.*, 7: 163-168.
- Oral D.Ç.**, 2007, Konya ilinde kullanılan halk ilaçları üzerinde etnobotanik araştırmalar Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fitoterapi Programı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara
- Osna NA**, Clemens DL, Donohue TM Jr., 2005, Ethanol metabolism alters interferon gamma signaling in recombinant HepG2 cells, *Hepatology*, 42:1109- 1117.
- Özbek H.**, Tuncer İ., Dülger H., Uğraş S., Bayram İ., Türkdoğan K., Uygan İ., 2005, E Vitamini, N-Asetil Sistein, Penisilin-G ve *Urtica dioica* L.'nin Phalloidin Toksisitesi Üzerine Etkileri, *Van Tıp Dergisi*: 12 (1):16-21, ()

- Özbek H.**, Uğraş S., Bayram İ., Uygan İ., Erdoğan E., Öztürk A., Huyut Z., 2004, Hepatoprotective Effect of *Foeniculum vulgare* essential oil: A Carbon-tetrachloride Induced Liver Fibrosis Model in Rats, *Scand . J Lab Anim Sci* 31(1), 9-17.
- Özcan A.**, Mengi A., 1998, Ratlarda Oral Olarak Verilen Alkolün Serum, Karaciğer ve Böbrek \square -GT, ALT ve AST Aktiviteleri ile Serum Total Kolesterol ve Lipid Düzeylerine Etkileri, *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences* 22 181-185 .
- Özcan A.**, Özcan K., Mengi A., 1996, Ratlara Oral Olarak Verilen Alkolün Karaciğer Üzerine Etkisi, *Kafkas Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi* Cilt:2 Sayı:1 Sayfa: 40-42.
- Paker Ş.**, 1986, Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1. Baskı, Bursa.
- Panes J.**, Caballeria J, Guitart R, Pares A, Soler X, Rodamilans M, Navasa M, Pares X, Bosch J, and Rodes J., 1993 Determinants of ethanol and acetaldehyde metabolism in chronic alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.*, 17: 48.53.
- Pietta P.G.**, 2000, Flavonoids as antioxidants, *J. Nat. Prod.* 63,1035–1042.
- Popoviç, M.**, Kaurinoviç, B., Triviç, S., Mimica- Dukiç, N., Bursaç M., 2006, Effect of Celery (*Apium graveolens*) Extracts on Some Biochemical Parameters of Oxidative Stress in Mice Treated with Carbon Tetrachloride. *Phytotherapy Research*, **20**, 531-537
- Rates S.M.K.**, 2001, Plants as source of drugs, *Toxicon*, 39,603-613.
- Rognstead R.**, and Grunnet N., 1979, Enzymatic pathways of ethanol metabolism. In E. Majchrowicz, & E. P. Noble (Eds.), *Biochemistry and Pharmacology of Etanol*, 65.86. New York, NY: Plenum Press.
- Rusu M. A.**, Tamas M., Puica C., Roman I., Sabadas M., 2005, The Hepatoprotective Action of Ten Herbal Extracts in CCl4 Intoxicated Liver, *PHYTOTHERAPY RESEARCH* *Phytother. Res.* 19, 744–749.
- Samir P.**, Desai MD., Sana Isa-Pratt MD., 2004, *Clinician's Guide to Laboratory Medicine*, Chapter 66, p.612- 613, Lexi-Comp Inc.

- Scott RB**, Reddy KS, Husain K, Schlorff EC, Rybak LP, Somani SM., 2000, Dose response of etanol on antioxidant defense system of liver, lung and kidney in rat. *Pathophysiology*, 7: 25.32.
- Seçmen Ö.**, Gemici Y., Görk G., Bekat L., Leblebici E., 2004, Tohumlu bitkiler sistematığı ders kitabı, Ege Üniversitesi Fern Fakültesi Kitaplar Serisi No:116, 7.baskı Bornova/İzmir.
- Sencer E.**,1988, Beslenme ve Diyet, Tıp Dizisi, 68: 1-404.
- Shaker E.**, Mahmoud H., Mnaa S., 2010, Silymarin, the antioxidant component and Silybum marianum extracts prevent liver damage, *Food and Chemical Toxicology* 48, 803–80.
- Sivapiriya V.**, Jayanthisakthisekaran, Venkatraman S., 2006, Effects of dimethoate (O,O-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and Etanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85(2): 115 -121.
- Sorensen TI.**, Orholm M, Bentsen KD, Hoybye G, Eghoje K, and Christoffersen P., 1984, Prospective evaluation of alcohol abuse and alcoholic liver injury in men as predictors of development of cirrhosis. *Lancet*, 2: 241.244.
- Sönmez M.F.**, Akkuş D., Selvi F., Balcıoğlu E., 2010, Melatonin ve C Vitamini'nin Kronik Alkolik Sıçanların Testis Dokusundaki Hasar ve eNos İmmunreaktivitesi Üzerine Etkileri, *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 19(1) 1-11.
- Sultana S.**, Ahmed S., Jahangir T., Sharma S., 2005, Inhibitory effect of celery seeds extract on chemically induced hepatocarcinogenesis: modulation of cell proliferation, metabolism and altered hepatic foci development. *Cancer letters*, 221, 11-20.
- Şahin A.**, Yener Z., Dağoğlu G., Dede S., Oto G., Alkan M., 2003, Karbontetraklorid (CCl4) ile Deneysel Olarak Karaciğer Nekrozu Oluşturulan Ratlarda Vitamin E + Selenyum ve *Nigella sativa* L (Çörekotu)'nın Karaciğer Yıkımını Engelleme Etkileri, *Turk J Vet Anim Sci* 27 141-152.

- Şener A.,** Gümüş A., Göker B., Arbak S., Özsvacı D., Yurtsever E., 2010, Isırgan Otu (*Urtica dioica L.*) Tohumu Ekstresinin Hepatoprotektif Ve Antioksidatif Etkileri, F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg., 24 (3): 167 – 172
- Şentürk H.,** 2004, Serbest Radikal Hasarının Hepato-Biliyer Sistem Hastalıklarındaki Rolü, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Kocatepe Tıp Dergisi 5; Ek Sayı 1-8.
- Tanker M.,** Tanker, N.1990, Farmakognozi Ders Kitabı, Cilt 2, s.: 148-149, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Terzi A.,** Yıldız F., Çoban S., Taşkın A., Bitiren M. ve Aksoy N., 2010, Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı Yapılan Sıçanlarda *Urtica dioica*'nın Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkisi, Düzce Tıp Dergisi 2010; 12(1):43-47.
- The Herb Society,** 1986, Herbal Review. Vol.11. 3. *The Herb Society* ISBN 0264-9853.
- Tietz(a),** 2005, Fundamentals of Clinical Chemistry, p. 354-355, 5th.edition, Saunders Company.
- Tietz(b),** 2005, Fundamentals of Clinical Chemistry, p.769, 5th.edition, Saunders Company.
- Tuma DJ.,** 2002, Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury, Free Radic Biol Med. 15;32(4):303-8.
- Turner RJ.,** 2004, *Botanica*. 3th. Ed., Italy: Köneman, 605.
- Tümen G.,** 2011, Bitkilerle Tedavide Ekonomik Potansiyeye Sahip Önemli Fitoterapötikler, Denizli Merkezefendi Geleneksel Tıp Günleri-2011,S:21-27.
- Türker L. ve Bayrak A.,** 1997, Çörek otu (*Nigella sativa L.*)'nun sabit ve uçucu yağ kompozisyonunun araştırılması. *Standart*, 430: 128-137.
- Uras S.,** 2009, *Nigella sativa L.* (Ranunculaceae) bitkisi üzerinde farmakognozik araştırmalar, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Mersin.
- Uyanoğlu M.,** 2006, Parsiyal Hepatektomi Yapılmış Sıçanlarda Karvakrolün Karaciğer Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

- Vardı N.**, Otlı A., Öztürk F., 2002, Kronik Alkol Tüketiminin Sıçan Pankreas Mast Hücrelerine Etkileri, Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal) 24 (3)126-132.
- Wallach J.**, 2000, Interpretation of Diagnostic Tests: 7th edition, Lippincott Williams Wilkins, 8:199-235.
- Wu Z.** and Peter R., 2001, Flora of China Vol: 8, s.18, Science Pres., Beijing.
- Yamada, Y.** and Fausto, N., 1998, Deficient liver regeneration after carbon tetrachloride injury in mice lacking type 1 but not type 2 tumor necrosis factor receptor, Am J. Pathol., 152, 1577-1589, p.
- Yarar N.R.**, 1948, Reçete nasıl yazılır, İstanbul
- Yener Z.**, Çelik İ., İlhan F., Bal R., 2009, Effects Of *Urtica dioica* L. Seed on Lipid Peroxidation, Antioxidants and Liver Pathology in Aflatoxin-Induced Tissue Injury in Rats, Food and Chemical Toxicology 47 418–424.
- Yenigün M.**, 2007, Alkol tüketimi ve tıp (Alcohol Consumption and Medicine), Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi 4. İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul.
- You M.**, and Crabb DW., 2004, Recent advances in alcoholic liver disease II. Minireview: molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 287(1):G1-6.
- Yuan Y.V.**, Bone, D.E., Carrington, M.F., 2005, Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro, Food Chem, 91, 485–494.12.
- Zeybek U.**, ve Zeybek N., 2002, Farmasötik Botanik, Kapalı Tohumlu Bitkiler(Angiospermae) sistematığı ve Önemli Maddeleri (Değiştirilmiş 3. Baskı), Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 3. Ege Üniversitesi Basım Evi Bornova-İzmir ss 481.

commons.wikimedia.org

<http://datasheets.scbt.com/sc-203749.pdf>

<http://devedikeni.gen.tr/>

<http://doctorschar.com/archives/milk-thistle-silybum-marianum>

<http://fr.wikipedia.org>

<http://www.flickr.com>

<http://www.liseed.org/apiaceae>

<http://www.peyote.com/jonstef/maois.htm>

<http://www.yeniansiklopedi.com/karaciger>

<http://zh.wikipedia.org>

www.geocities.com/pakizedemirkalem/shac3c25.htm



ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Ahmet ERMİŞ

Doğum Yeri ve Tarihi: Bigadiç/1987

Adres: Saraylar Mah. Saltak Cad. No:70

Lisans Üniversitesi:

Yayın Listesi:

- Celik A., Arslan I., Herken E. N., **Ermis A.**, Constituents, oxidant-antioxidant profile and antimicrobial capacity of the essential oil obtained from *Ferulago sandrasica* Pesmen & Quézel, Int. J. of Food Properties,(in pres)
- Gezer, K., O. Kaygusuz, U., Soylu and **A., Ermis** “Evaluation of Growth Rate of Some Macrofungi Mycelium In Various Culture Media”, 1st International Symposium on **Secondary Metabolites**, Chemical, Biological and Biotechnological Properties **Denizli, TURKEY,2011.O-36;P:39(Sözlü Sunum)**
- Gezer, K., Kaygusuz, O., Soylu, U., **Ermis, A.**, “Çamlık Mesire Alanı (Denizli) Makrofungusları”, Mantar Dergisi, 2(1-2), 15-24, 2011.
- Gezer, K., Kaygusuz, O., Soylu, U., **Ermis, A.**, “Pamukkale Üniversitesi Kınıklı Kampüsü (Denizli/Türkiye) Makrofungusları”, Biological Diversity and Conservation, 4(3), 36-43, 2011.
- Çelik, A., **Ermis, A.**, Çetiner, R., Kaygusuz, O., Soylu, U., “Denizli’nin Bitki Zenginliği ve Halk Hekimliğine Sunduğu Fırsatlar”, Denizli Merkezefendi Geleneksel Tıp Günleri-2011, 28-33, 2012