



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**RATLARDA ETANOL İLE OLUŞTURULMUŞ KARACİĞER
FİBROZİSİNDE ISIRGAN OTU TOHUMUNUN (*URTICA DIOİCA*
SEED) TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Mahmut YARDIMCI
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Zabit YENER

VAN-2019

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA ETANOL İLE OLUŞTURULMUŞ KARACİĞER
FİBROZİSİNDE ISIRGAN OTU TOHUMUNUN (*URTICA DIOİCA*
SEED) TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Mahmut YARDIMCI
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Zabit YENER


VAN-2019

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-
2018-7586 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

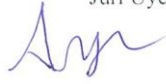
KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında Veteriner Hekim Mahmut YARDIMCI tarafından hazırlanan "Ratlarda Etanol İle Oluşturulmuş Karaciğer Fibrozisinde Isırgan Otu Tohumunun (*Urtica dioica* Seed) Tedavi Edici Etkisinin Histopatolojik Ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14/ 02/2019

Prof. Dr. Zabit YENER
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Başkanı


Dr. Öğr. Üyesi Ahmet UYAR
Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
Jüri Üyesi



Dr. Öğr. Üyesi Turan YAMAN
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi



Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.


Prof. Dr. Semiha DEDE
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Ratlarda Etanol İle Oluşturulmuş Karaciğer Fibrozisinde Isırgan Otu Tohumunun (Urtica dioica Seed) Tedavi Edici Etkisinin Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Mahmut YARDIMCI

Tarih: 14.02.2019

İmza:

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütölmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Zabit YENER'e, çalışma süresince yardım ve desteklerinden dolayı Veteriner Faköltesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim elamanları Dr. Öğr. Üyesi Turan YAMAN'a ve Araő. Gör. Ömer Faruk KELEŞ'e teőekkürlerimi sunarım. Çalıőmama mali destek sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne teőekkürlerimi sunarım. Maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme en içten duygularımla teşekkür ederim.

Mahmut YARDIMCI

ÖZET

Yardımcı M, Ratlarda Etanol İle Oluşturulmuş Karaciğer Fibrozisinde ısırgan Otu Tohumunun (*Urtica dioica Seed*) Tedavi Edici Etkisinin Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2019. Planlanan bu çalışmada, etil alkol ile deneysel olarak 8 haftalık süre içinde karaciğerde fibrozis oluşturulduktan sonraki 2 aylık tedavi sürecinde, ısırgan otu tohumu ekstrakt'ı kullanılarak fibrozisin geri dönüşümünün mümkün olup olmadığı histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırıldı. Çalışmada toplam 24 adet rat kullanıldı ve ratlar her grupta 8'er adet olmak üzere üç gruba ayrıldı. Deneme süresi toplam 4 ay olarak belirlendi. Birinci grup (Kontrol); Standart rat pelet yemiyle beslendi. Alkol grubu ve alkol+ısırgan tohumu ekstrakt grubunda ise denemenin ilk 2 ayında günde bir defa orogastrik gavajla 4 mL/kg %30'luk etil alkol verilerek hepatik fibrozis oluşturuldu. Daha sonraki 3. ve 4. aylarda 2. gruba yine sadece alkol verilirken, 3. grup ratlara alkol alımıyla beraber ısırgan otu tohumu ekstrakt'ı (30mg/kg)'da verilerek oluşturulan fibrozisin geri dönüşümü uygulama sonunda izlendi. Deneme sonunda nekropsi yapılan ratların karaciğerlerinden alınan doku örnekleri histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelendi. Sonuçta, histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular doğrultusunda; ısırgan tohumu ekstrakt'ının kaydedilen birçok terapötik özelliklerinin etkisiyle ve karaciğerin de rejeneratif kapasitesi sayesinde karaciğerdeki dejeneratif-nekrotik değişikliklerin ve fibrozisin önemli düzeylerde geri dönüşümünün gerçekleştiği gözlenmiştir. Biyokimyasal analizler Alkol grubunda ALT, AST, LDL, GGT ve HDL düzeyleri kontrol grubuna göre azalmıştı. Ancak, Glukoz, LDL, Total Kolesterol ve Trigliserid seviyeleri kontrol grubuna göre artmıştı. Alkol+Isırgan grubunda ise kontrol grubuna göre ALT, AST, LDH, Glukoz, LDL ve Trigliserid düzeyleri azalmıştı. Ancak AlkPaz, GGT, HDL ve Total Kolesterol seviyeleri kontrol grubuna göre artmıştı. Çalışmanın sonuçları, alkolik hepatik fibrozisli olgularda, ısırgan otu tohumu ekstrakt'ının fibrozisli karaciğer tedavisinde kullanılabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Fibrozis, Histopatoloji, ısırgan tohumu, Lipid profili, Rat.

ABSTRACT

Yardımcı M, Histopathologic and Immunohistochemical Investigation of the Therapeutic Effect of Stinging Nettle Seed (*Urtica dioica* Seed) in Ethanol-Induced Liver Fibrosis in Rats, University of Van Yuzuncu Yil, Institute of Health Sciences, Department of Pathology, M.Sc. Thesis, Van, 2019.

In this study, it was investigated histopathologically and immunohistochemically whether it is possible to reverse fibrosis by using nettle seed extract in the 2-month treatment period after the liver fibrosis was formed experimentally for 8 weeks with ethyl alcohol. A total of 24 rats were used in the study and rats were divided into three groups as 8 in each. The trial period was determined as 4 months. The first group (Control) was fed by standard rat pellet feed. In the second group (alcohol group) and the third group (alcohol + nettle seed group), hepatic fibrosis was formed in the first 2 months of the study by giving 4 mL/kg of 30% ethyl alcohol once a day by means of orogastric gavage. In the next third and fourth months, while only alcohol was given to the second group, the third group was applied nettle extract (30mg/kg/rat) together with alcohol. At the end of the experiment, tissue samples taken from the liver of rats through necropsy were examined histopathologically and immunohistochemically. In conclusion, in accordance with histopathological and immunohistochemical findings; it has been observed that degenerative-necrotic changes and significant recoveries of fibrosis in the liver have occurred due to the effect of many therapeutic properties of nettle seed extract and regenerative capacity of the liver. As a result of biochemical analysis, ALT, AST, LDL, GGT and HDL levels decreased in the alcohol group compared to the control group. However, glucose, LDL, total cholesterol and triglyceride levels increased compared to the control group. In the alcohol + Nettle seed group, ALT, AST, LDH, glucose, LDL and triglyceride levels declined compared to the control group whereas alkPase, GGT, HDL and total cholesterol levels increased compared to the control group. The results of the study showed that nettle seed extract could be used in the treatment of fibrosis in patients with alcoholic hepatic fibrosis.

Key Words: Fibrosis, Histopathology, Nettle seed, Lipid profile, Rat.

İÇİNDEKİLER

KABUL	VE	ONAY	II
ETİK BEYAN			III
TEŞEKKÜR			IV
ÖZET.....			V
ABSTRACT.....			VI
İÇİNDEKİLER			VII
SİMGELER VE KISALTMALAR			IX
ŞEKİLLER			X
TABLO LİSTESİ			XI
1.GİRİŞ.....			1
2.	GENEL	BİLGİLER	2
2.1. Karaciğerin Anatomik Yapısı			2
2.2. Karaciğerin Histolojik Yapısı			3
2.3. Karaciğerin Fonksiyonları			4
2.4. Karaciğerde Fibrozis			5
2.5. Karaciğerde Fibrozisin Önlenmesine Yönelik Çalışmalar			6
2.6. Isırgan otu (<i>Urtica dioica</i>).....			10
3.GEREÇ		VE	13
3.1. Deney Hayvanları			13
3.2.	Bitki	Materyali	13
3.3. Deneme Şeması			13
3.4.	Histopatolojik	İnceleme	14
3.5. Kan Örneklerinin Alınması ve Serum Örneklerinin Elde Edilmesi.....			14
3.6. Serum Örneklerinde Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü			14
3.7. İstatiksel Analiz			15
4. BULGULAR			16
4.1.	Makroskobik	Bulgular	16
4.2.	Histopatolojik	Bulgular	16

4.2.1.	Birinci grup	(Kontrol)	16	
4.2.2.	İkinci grup	(Etil	17	
4.2.3.	Üçüncü grup	(Etil Alkol +Isırgan Tohumu ekstrakt'ı,	19	
4.3.	Biyokimyasal		22	
5.	TARTIŞMA	VE	SONUÇ	25
5.1.			Histopatolojik	27
5.2.	Alpha-Smooth Muscle Actin	(ASMA)		28
5.3.	Biyokimyasal Sonuçlar			28
KAYNAKLAR				31
ÖZGEÇMİŞ				34
5.4.	EKLER			35
5.4.1.	EK 1. Etik Kurul Raporu			35
5.4.2.	EK 2. Tez Orijinallik Raporu			36

SİMGELER VE KISALTMALAR

AlkP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Transaminaz
AST	: Aspartat Transaminaz
Cm	: Santimetre
G	: Gram
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
GSH	: Redükte Glutatyon
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HepG2	: Hepatosellüler Karsinoma
HL	: Hepatik Lipaz
H.E	: Hematoksilen Eozin
Kg	: Kilogram
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPL	: Lipoprotein Lipaz
M	: Metre
Mg	: Miligram
Mm	: Milimetre
Mmol	: Mikromol
OCD	: Obsesif-Kompulsif Bozukluğu
Trig	: Trigliserit
UGT	: Glukuronosil Transferaz
UV	: Ultraviyole Işımları

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Karaciğer lopçuğunun mikroskopik şeması	4
Şekil 2.	Karaciğer lopçuğunun mikroskopik yapısı	5
Şekil 3.	Kontrol grup: Karaciğerin normal histolojik görünümü.....	17
Şekil 4.	Kontrol grup: Karaciğerin immünohistokimyasal boyaması.....	18
Şekil 5.	Etil alkol grup: Karaciğerin mikroskopik görüntüsü.....	19
Şekil 6.	Etil alkol grup: Karaciğerin immünohistokimyasal boyaması.....	20
Şekil 7.	Etil Alkol +Isırgan tohumu ekstrakt grup: Karaciğerin histolojik yapısı.....	21
Şekil 8.	Etil Alkol+Isırgan tohumu ekstrakt grup: immünohistokimyasal boyama...	22
Şekil 9.	Karaciğer fonksiyon testleri.....	23
Şekil 10.	Lipit profili değerlerinin toplu olarak karşılaştırılması.....	24
Şekil 11.	Glukoz ve AlkP değerlerinin karşılaştırılması.....	25

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. GGT, AlkPaz ve bazı karaciğer fonksiyon testlerine ait değerler.....	23
Tablo 2. Glukoz ve lipid profili değerleri (mg/dL).....	24



1.GİRİŞ

Karaciğer sirozu, tüm dünyada özellikle hepatotropik virüs infeksiyonları ile gelişen, endemik bölgelerde ve batıda önemli bir halk sağlığı problemidir. Yüksek alkol tüketimi başta Amerika Birleşik Devletleri olmak üzere, tüm dünyada yetişkin erkeklerde siroz ile meydana gelen dördüncü yaygın ölüm sebebidir. Günümüzde sentetik ilaçlar yerine, doğal ürünlerin tedavi gücünü kullanmanın yolları aranmaktadır. Sentetik gıda katkı maddelerinin doğal antioksidanlar ile değiştirme çabaları da artmaktadır. Fonksiyonel gıdalar, kendi özel bileşenleri yoluyla hastalıklardan koruyucu veya tedavi edici etkiye sahiptir. Viral hepatit enfeksiyonları, dünyada özellikle de sosyo-ekonomik düzeyi düşük olan az gelişmiş ülkelerde daha fazla görülmektedir. Bu nedenle, günümüzde karaciğer fibrozisi ve sirozun önlenmesi oldukça önem arz etmektedir. Ülkemizde, insanlar tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde ısırgan otu tohumu kullanılmaktadır. Isırgan, Urticaceae familyasının *Urtica dioica* türüne giren bitki olup, halk hekimliğinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Tedavide bitkinin özellikle kök, yaprak ve tohumları değerlendirilmektedir (Davis, 1982). Yapılan çalışmalarda bitkinin köklerinden elde edilen ekstraktın prostat hiperplazisinin inhibisyonunda (Hirano ve ark., 1994; Lichius ve Muth, 1997) ve hipertansiyonun tedavisinde etkili olduğu belirtilmiştir (Legssyer ve ark., 2002). Ülkemizde yapılan çalışmalarda karbon tetraklorür (Türkdoğan ve ark., 2011) ve aflatoksin (Uyar ve ark., 2016) ile oluşturulan toksikasyon sonucunda meydana gelen karaciğer dejenerasyonu, nekrozu ve fibrozisinde *Urtica dioica* ekstraktının hepatoprotektif etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir. Ratlarda CCl₄ ile oluşturulan fibrozisde, çörek otu ve ısırgan otu tohumu ekstraktlarının fibrozisi engellediğini, antifibrotik etkinin bu bitkilerin antioksidant ve immunomodulator özellikleriyle ilgili olabileceği belirtilmiştir (Bai ve ark., 2013).

Gerçekleştirilen bu çalışmada, etil alkol ile deneysel olarak karaciğerde fibrozis oluşturulduktan sonraki tedavi sürecinde, ısırgan otu tohumu ekstrakt'ı kullanılarak fibrozisin geri dönüşümünün mümkün olup olmadığının biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın sonuçlarının, ileri derecede hepatik fibrozisli ya da sirotik olgularda ısırgan otu tohumu ekstraktının tedavi edici potansiyelinin araştırılmasına temel kaynak oluşturacağı kanısındayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğerin Anatomik Yapısı

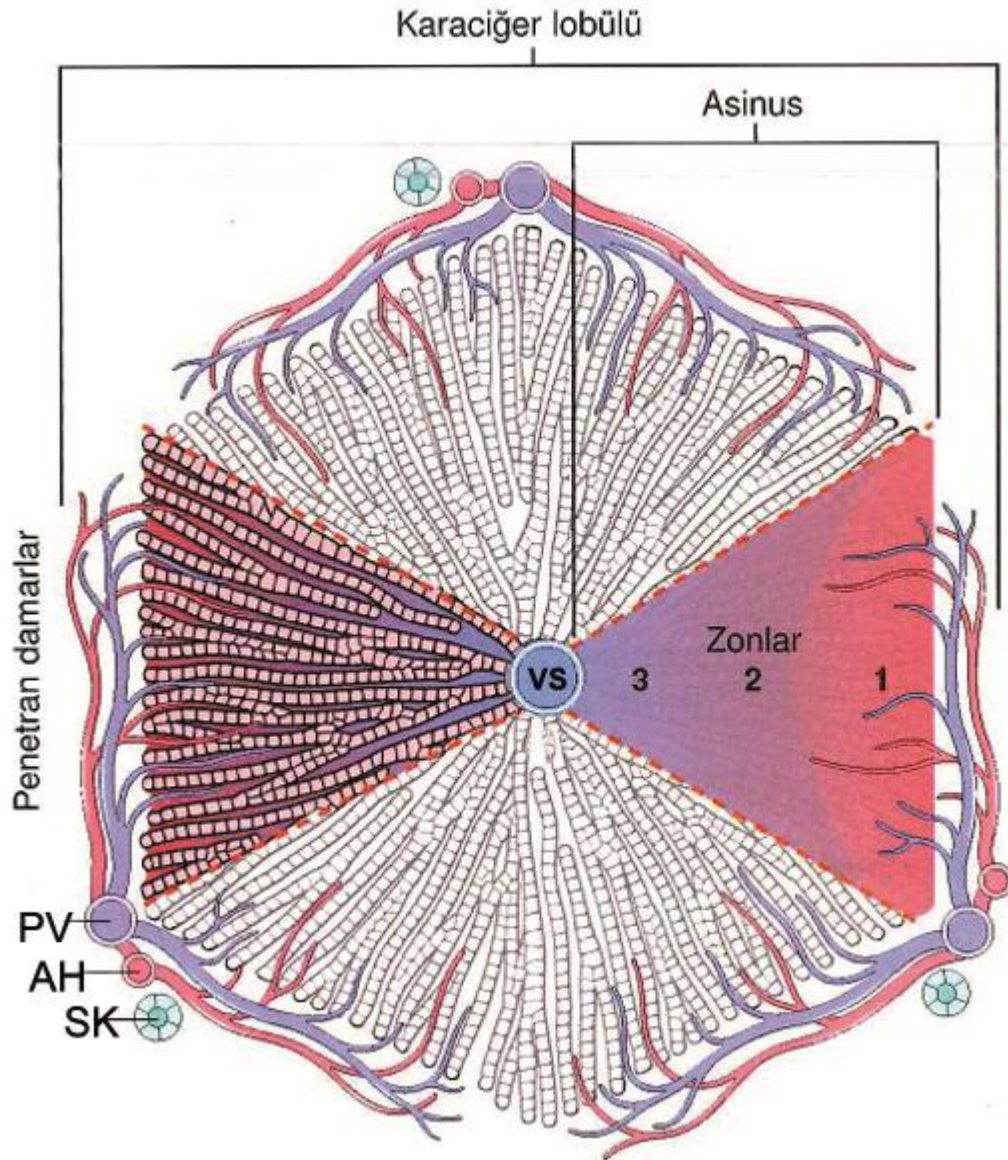
Karaciğer (hepar), dış yüzü gevşek bir bağ dokusuyla (Capsula fibrosa) sarılmış oldukça kıvamlı ve elastiki yapıda olan vücudumuzda en büyük metabolik organdır. Rengi; içerdiği kan miktarına, hayvanın türüne, yaşına ve beslenme durumuna göre değişmekle birlikte doğal rengi kırmızımtırak kahverengindedir. Ancak süt emen yavrularda ve gebelerde sarımtırak kahverenginde, kronik hastalıklardan dolayı zayıflayanlarda ise koyu kahverengindedir. Karaciğerin önde facies diaphragmatica ve arkada organlara dönük olan facies visceralis olmak üzere 2 yüzü vardır. Ön yüz diaphragma'nın iç bükeyliğine uyacak şekilde dış bükey iken, arka yüz özofagus, mide, duodenum, jejunum, kolon ve sağ böbrek ile temas halinde olup iç bükeydir ve bu organların çukur veya izlerini taşır. Karaciğer, evcil memelilerde genel olarak lobus hepatis sinister (sol) ve dexter (sağ) ile lobus quadratus ve caudatus olmak üzere 4 loptan oluşmuştur. Ruminantlarda karaciğer belirgin bir şekilde incisura interlobares ile bölünmemişken, karnivorlarda çok derin bir şekilde bölünmüş ve loplara ayrılmıştır (Yener ve ark., 2016).

Karaciğerin en önemli fonksiyonlarından birisi olan safra salgısı, karaciğer içinde ductuli biliferi (cholangioles; intrahepatik safra kanalcıkları) denilen safra kanalcıklarıyla taşınmaktadır. Bu kanalcıklar karaciğer dokusu içinde birbirleriyle birleşerek karaciğerin dış yüzünde seyreden daha büyük safra kanalı olan sağ ve sol ductus hepaticus communis'i oluştururlar. Bu kanallar da birleşerek ductus cysticus denilen safra kesesi kanalını meydana getirmektedir. Mideden duodenuma gıda geçtiğinde oluşan refleksle safra kesesinde depo edilen safra, daha büyük safra kanalı olan ductus choledochus ile duodenuma akıtılmaktadır. Safra kesesi (vesica fella) karaciğerin viseral yüzünde ve lobus hepatis dexter ile lobus quadratus arasındaki fossa vesica fella isimli yarıқта bulunmaktadır (devede, equidelerde ve ratlarda safra kesesi yoktur) (Yener ve ark., 2016).

Karaciğere giren damarlar vena portae ve a.hepatica, çıkan damar ise vena cava caudalis'tir. Vena portae; mide, pancreas ve dalak'tan gelen venöz kan ile bağırsaklardan gelen absorbe edilmiş besinle yüklü olan venöz kanı karaciğere taşımaktadır. Vena portae

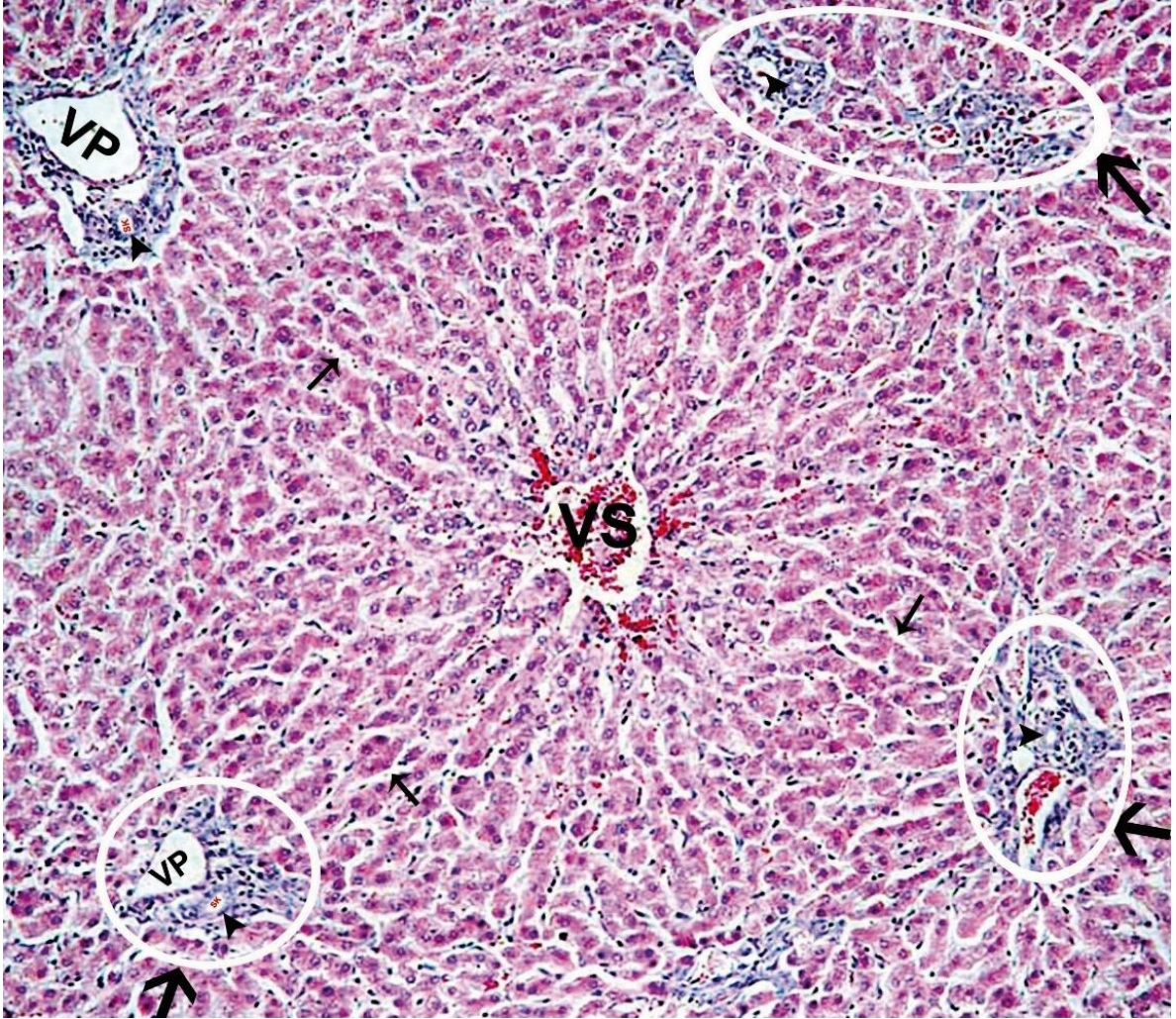
karaciğer içinde çeşitli kollara ayrılmakta ve son olarak karaciğerin en küçük histolojik ünitesi olan lobulusların çevresinde vena interlobularis portalis olarak sinusoid'lere açılmaktadır. Aynı şekilde a.hepatica'nın son kolları da sinusoid'lere açılmaktadır. Sinusoid'ler, lobulusların ortasında yer alan vena centralis'lere açılmaktadır. Lobuluslardan çıkan vena centralis'ler aralarında birleşerek vena interlobularis hepaticus, vena hepatica ve nihayetinde vena cava caudalis'leri oluşturmaktadır (Yener ve ark., 2016).

2.2. Karaciğerin Histolojik Yapısı



Şekil 1. Karaciğer lopçuğunun mikroskobik şeması: PV: Portal ven; AH: Arteriya hepatica; SK: Safra

kanalı; VS: Vena sentralis; 1: Periportal, 2: Midzonal, 3: Sentrilobuler bölge olarak isimlendirilmektedir (Kumar ve ark., 2014).



Şekil 2. Karaciğer lopçuğunun mikroskopik yapısı: Lopçuğun ortasında vena sentralis (VS), lopçuğun çevresinde portal aralıklarda (kalın oklar) vena porta (VP) ve safra kanalı (ok başı), lopçuk içindeki hepatosit dizilimleri (remark kordonları) arasında beyaz çizgisel boşluklar (ince oklar) şeklinde ise sinüzoidler izlenmekte (Yener ve ark., 2016).

2.3. Karaciğerin Fonksiyonları

Karaciğer, metabolik homeostazisinin (Yaşamın devamı için düzenleyici sistemler yardımıyla organizmanın iç ortamının sabit tutulması) sürdürülmesinde çok önemli bir göreve sahiptir. Fonksiyon bakımından metabolizma işlevlerinin merkezi konumundadır. Karaciğerde, sindirim yoluyla alınan aminoasitlerin, karbonhidratların, lipidlerin ve vitaminlerin işlenmesi, serum proteinlerinin sentez edilmesi, demir metabolizmasının düzenlenmesi, safranin sentezi ve salgılanması, endojen atık ürünlerinin ve eksojen olarak

alınan ancak vücut için zararlı olabilecek ürünlerin detoksifikasyonu ve safraya verilmesi gibi temel fonksiyonlar gerçekleştirilmektedir (Yener ve ark., 2016).

Karaciğer çeşitli metabolik ve toksik saldırılara, mikroplardan ve dolaşım bozukluklarından kaynaklanan olumsuz etkilere açık bir organdır. Çok büyük bir fonksiyonel rezerve sahip olan karaciğer bununla birlikte bütün karaciğer hastalıklarında yüksek düzeyde rejenerasyon kapasitesine sahiptir. Operasyonla normal bir karaciğerin %60'ının alınması durumunda bile ancak minimal düzeyde ve geçici olarak karaciğer bozukluğu görülür. Alınan kitlenin büyük bir kısmı 30-45 gün içinde rejenerasyonla yerine konur. Karaciğerde kan dolaşımı ve safra akışı bozulmadığı sürece, yoğun karaciğer nekrozu gelişen hastalarda, karaciğer yetmezliğinin sonuçları atlatılabilir ve sebepler ortadan kaldırıldığında tam bir karaciğer rejenerasyonu gerçekleşebilir (Yener ve ark., 2016).

Karaciğer yetmezliği; hepatositlerin çeşitli nedenlerle (viral hepatit, kronik alkolizm, kronik kalp yetmezliği ve metabolik hastalıklar) sinsi bir şekilde tedrici olarak hasara uğraması ya da parankim hasarının dalgalar şeklinde tekrarlanması sonucunda oluşabilmektedir. Yetmezlik, nadir olarak da masif karaciğer nekrozu sonrasında gelişmektedir. Ancak karaciğerin sahip olduğu yüksek düzeydeki fonksiyonel yedek (rezerv) ve rejenerasyon kapasitesi nedeniyle, karaciğer yetmezliği, karaciğer fonksiyonlarının %80-90 oranında kaybedilmesinden sonra gerçekleşir (Yener ve ark., 2016).

2.4. Karaciğerde Fibrozis

Fibrozis: Hepatositlerde dejenerasyon, nekroz ve safra duktuslarında yangı sonucunda oluşan kronik karaciğer hasarı sonrası portal aralık, perivenüler ve kapsüler bölgelerdeki bağ dokunun proliferatif yangısıdır. Fibrozis, yıkılan parankim hücrelerin yerine fibroblast-fibrosit proliferasyonu ve kollajen doku artışıyla karakterizedir (Yener ve ark., 2016).

Fibrosiz önceleri sadece portal alanlarda görülür, ancak zamanla portal alanlar

arasında fibroz septumlar (yoğun nedbe dokusu bantları) ortaya çıkar. Böylece makroskopik olarak karaciğerde fokal veya diffuz olabilen kaba ya da ince nodüller halinde lezyonlar oluşur. Nedbeleşmenin ve nodül oluşumunun yaygınlaşarak devam etmesi sirozla sonuçlanır (Yener ve ark., 2016).

2.5. Karaciğerde Fibrozisin Önlenmesine Yönelik Çalışmalar

Yapılan bir çalışmada, karbon tetraklorür (CCl₄) ile indüklenen karaciğer hasarına karşı, kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin lokal enjeksiyonunun farelerde karaciğer yetmezliğinin tedavisinde etkili olduğu histopatoloji ve biyokimyasal analizlere göre belirlenmiştir (Ayatollahi ve ark., 2014).

Kafeinin sirozu engellediği bildirilen çalışmada; etki mekanizmaları, antioksidan özellikleri ve esas olarak inflamatuvar ve fibrotik proseslerin zayıflatılması ile ilişkili olabilen profibrojenik sitokin transforming büyüme faktörü-β'nın yükselmesini bloke etme kabiliyeti ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Aauz ve ark., 2014).

CCl₄ ile deneysel olarak oluşturulan karaciğer harabiyeti üzerine Vitamin D (VitD) ve timokinon (TQ), fibrozis üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Vit.D ve TQ'nin bireysel veya kombine olarak verilen farelerde CCl₄ ile oluşturulan karaciğer fibrozunun iyileştirici tedavisinde doğrudan fibrolitik aktivitelere ve/veya performansa sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Sonuçta, VitD ile TQ ve benzer anti-fibrojenik etkiler sergilediği ve antifibrotik mediyatörleri modüle ettiği kaydedilmiştir. Ayrıca, VitD ve TQ kombine tedavisi, moleküler seviyede önemli ölçüde sinerjik etki gösterdiği, aynı zamanda karaciğer fibrozisunu hafiflettiği belirlenmiştir (Abdelghany ve ark., 2016).

Karaciğerde CCl₄ ile oluşturulan fibrozisin önlenmesinde çörek otu ve *Urtica dioica*'nın (UD) rolünün araştırıldığı çalışmada elli adet fare beş gruba ayrılmış ve iki haftada bir CCl₄ tüm gruplara enjekte edilmiştir. 12. haftanın sonunda yapılan nekropsi sonucunda alınan örneklerde yapılan histopatolojik ve immünohistokimyasal tetkiklere göre; CCl₄ grubunda, periasiner bölgede ve portal aralıklarda fibrozis ile birlikte periasiner bölgelerde koagülasyon nekrozu ve hidropik dejenerasyon gözlemlenmiştir. Diğer gruplarda ise periasiner bölgelerde seyrek koagülasyon nekrozu dışında CCl₄

grubunda belirlenen histopatolojik bulguların hiçbirisi tespit edilmemiştir. Miyofibroblastik transformasyon ve lizozomal enzim aktivitesi ile fibrogenezise işaret eden ASMA-pozitif perisinüsoidal hücrelerin proliferasyonu, CCL₄ grubunda, UD gruplarına göre oldukça yaygın olduğu görülmüştür. Sonuçta, *Urtica dioica* ve *Nigella sativa*, farelerde CCL₄ tarafından oluşturulan hepatotoksisitenin önlenmesinde önemli ölçüde etkili olduğu tespit edilmiştir (Türkdoğan ve ark., 2003). Tavşanların karaciğerlerinde CCL₄ ile oluşturulan fibrozisin önlenmesinde antioksidan özelliklere sahip çörek otu (*Nigella sativa*), vitamin C, E ve selenyumun rolleri araştırılmıştır. Histopatolojik olarak, *Nigella sativa* ile tedavi edilen tavşanlarda sentrilobüler nekroz ve fibrozis görülmemiştir, C vitamini ile tedavi edilen tavşanlarda ise gözlemlenen lezyonlar, CCL₄ grubundakiler ile benzer bulgular olduğu tespit edilmiştir. Selenyum ve vitamin E verilen tavşanlarda fibrozis ile parenkimal değişiklikler kontrol grubuna göre daha az olduğu gözlemlenmiştir. Ancak çörek otu grubundakilerden daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta, histopatolojik bulgular çörek otunun tavşanlarda karaciğer fibrozunun önlenmesinde başarılı olduğu, Vitamin E ve selenyumun terapötik etkisinin az ve C vitamininin ise etkisiz olduğu kaydedilmiştir (Türkdoğan ve ark., 2001).

Tiyoasetamid (TAA) ile indüklenen karaciğer fibrozisi ve sirozun tedavisinde *Boesenbergia rotunda* (BR)'nin etkisinin araştırıldığı çalışmada, karaciğerin histopatolojisi ve immünohistokimyası bulgularına göre: BR'nin apoptozu tetiklediği, ayrıca sitokinleri, hücre dışı matriks proteinlerini ve hepatosit çoğalmasını inhibe ettiği belirlenmiştir. Sonuçta, BR etanolik ekstraktının antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteleri ile karaciğerde sirozun ilerlemesini engellediği saptanmıştır (Salama ve ark., 2013). Farelerde kronik karaciğer hasarı oluşturmak için CCL₄'un oral yoldan 7 hafta süreyle uygulandığı çalışmada, CCL₄ zehirlenmesinin başlangıcından sonra trombin antagonistinin (heparin) intravenöz uygulaması 1 hafta yapılmıştır. Tedavinin tamamlanmasından 7 hafta sonra hepatik disfonksiyon belirteçleri ölçülmüş ve histopatolojik olarak değişiklikler değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; bir trombin antagonisti olan heparin, karaciğer fonksiyonunu koruduğu ve hepatik fonksiyon bozukluğu/fibrogenezis şiddetini azalttığı görülmüştür. Heparin ve silymarin kombinasyonu karaciğer fibrozunda fayda sağladığı belirtilmiştir (Shah ve ark., 2012). Silimarin ile benzer etkiye sahip imatinib ve nilotinibin, TAA ile indüklenen karaciğer fibrozu ve oksidatif stres üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği ve etki mekanizmalarının karşılaştırıldığı çalışmada; Erkek Wistar

sıçanlarına 12 hafta boyunca intraperitoneal (i.p.) TAA (150mg/kg, haftada iki kez) enjeksiyonu yapılmış, son 4 hafta TAA uygulaması ile birlikte, imatinib (10mg/kg), nilotinib (10mg/kg) ve silimarin (100mg/kg) ile günlük tedaviler oral yoldan uygulanmıştır. Sonuçta, karaciğer hasarı serumdaki karaciğer fonksiyon testlerinin analizi ile değerlendirilmiş ve karaciğer fibrozisini ölçmek için hepatik histopatoloji ve kollajen içeriği belirlenmiştir. Ayrıca, hepatik oksidatif stres, malondialdehit (MDA), 4 hidroksinonenal (4 HNE), toplam nitrat/nitrit (NO_x) ve glutatyon (GSH) içeriği, ayrıca myeloperoksidaz (MPO) ve süperoksit dismutaz (SOD) ölçülerek değerlendirilmiştir. Nilotinib, silimarin ve bir dereceye kadar imatinib tedavileri, TAA kaynaklı hepatik oksidatif stres ve hepatik MDA, HNE, NO_x, GSH, MPO ve SOD seviyelerinin ve karaciğer fonksiyon testlerinin gösterdiği zararı iyileştirdiği saptanmıştır. Hepatik histopatoloji sonuçları, TAA uygulanan sıçanlarda nilotinib, imatinib ve silimarin tedavilerinin ortalama fibrosis skorunu sırasıyla %24, 14 ve %3 azalttığı kaydedilmiştir (Shaker ve ark., 2011).

Karaciğer fibrozisinde kullanılmaya başlanılan yeni bir bitkisel ilaç “setarud”un hepatoprotektif aktivitesini değerlendirmek için, 48 erkek Wistar sıçanı dört gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu, (CCl₄) grubu ve 30 gün boyunca 0.02 veya 0.04 g/Kg/gün dozlarında CCl₄ ile birlikte setarud alan iki tedavi grubu oluşturulmuştur. Vücut ağırlık artışı, biyokimyasal karaciğer testleri, safra akış hızı, bileşimi ve karaciğerdeki değişiklikler morfolojik olarak incelenmiştir. CCl₄ grupta, morfolojik olarak ve tedavi edilmeyen kontrollere kıyasla karaciğer hasarının biyokimyasal olarak belirgin olduğu gözlenmiştir. CCl₄ kaynaklı değişikliklere karşı, Setarud uygulamasının vücut ağırlığı artışı, karaciğer morfolojisi, safra akışı ve konsantrasyonunda önemli bir koruma sağlamıştır. Ayrıca anlamlı derecede düşük serum karaciğer enzim seviyeleri (p <0.01), daha yüksek serum albümin seviyesi ve narkotik kaynaklı uyku süresinde azalmaya neden olmuştur (Khorshid ve ark., 2008).

Karaciğer fibrozunun; düşük doz aspirin, yüksek doz aspirin ve enoksaparin ile tedavi edilen gruplarda, özellikle de yüksek doz aspirin ile tedavi edilen grupta, tedavi edilmemiş siroz kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, fibroz derecesinde önemli bir iyileşme gözlemlendiği vurgulanmıştır (Li ve ark., 2017). Ratlarda, karbon tetraklorür (CCl₄) kaynaklı karaciğer sirozunda insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal stromal hücrelerin

(BM-MSK'ler) hemostatik potansiyelini değerlendirmek için yapılan çalışmada: CCl₄ ile indüklenmiş karaciğer sirozu olan sıçanlarda yüksek doz BM-MSK'ler ile birlikte silimarin kombinasyonunun; etkili bir şekilde protrombin süresini azalttığı, plazma fibrinojen konsantrasyonunu arttırdığı ve anti-fibrotik bir etki oluşturduğu yapılan analizlerle ortaya konmuş, sonuçta daha iyi bir hemostatik etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Aithal ve ark., 2018). *Zingiber officinale*'nin karaciğer fibrozisi regresyonundaki potansiyelini ve bunun etki mekanizmasının değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmada; karaciğer fibrozunu indüklemek için, Wistar cinsi erkek sıçanlara, oral gavaj yoluyla gñnlük 300 veya 600 mg/kg *Z. officinale* özü içeren ve içermeyen CCl₄ (2 ml/kg/2. kez/hafta; i.p.) verilmiştir. Sonuçta, *Z. officinale* ekstrakt'ının, belirgin şekilde karaciğer hasarını önlediği gösterilmiştir (Hasan ve ark., 2016).

Tiyoasetamid (TAA) ile indüklenen karaciğer harabiyeti sonrası nikotinic asidin (NA) karaciğer fibrozisi üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği ve mekanizmasının incelendiği çalışmada; nikotinic asidin karaciğer enzimlerinin yükselmesini ve hepatik glikojen tükenmesini önlediği görölmüştür. TAA ve NA uygulanan sıçanlarda; karaciğer histopatolojisi ve hidrokisprolin düzeyleri, sadece TAA ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Bulgular, karaciğer hasarının önlenmesinde antifibrotik bir ajan olarak NA'nın önemli bir role sahip olabileceği vurgulanmıştır (Aauz ve ark., 2014).

Tiyoasetamid (TAA); yangısal değişiklikler, fibrozis ve siroz arasında değişen karaciğer hasarlarına neden olan ve yaygın olarak kullanılan mantar öldürücü ajanlardan biridir. Son zamanlarda yapılan pek çok çalışma, probiyotiklerin ve Silymarinin, hepatotoksisite üzerindeki yararlı etkisi bildirmiştir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, probiyotiklerin ve/veya Silymarinin, sıçanlarda TAA kaynaklı hepatotoksisiteyi histolojik ve immñnohistokimyasal yöntemlerle iyileştirici rolü değerlendirilmiştir. Histopatolojik olarak TAA uygulaması hepatositlerin dejenerasyonuna, enflamatuar hücrelerin infiltrasyonuna ve psödolobular parankim oluşumuna neden olduğu, probiyotikler ve/veya Silymarin alan sıçanlarda, hepatositlerin histolojik özelliğini koruduğunu, apoptozu azalttığı ve proliferasyonu uyardığı görölmüştür (Emam ve ark., 2018).

2.6. Isırgan Tohumu (*Urtica Dioica*)

Isırgan otu, Urticaceae familyasının *Urtica dioica* türüne ait bir bitkidir. Isırgan otunun iki türü vardır. Türkiye’de büyük ısırgan otu (*Urtica dioica*) çok yıllık otsu bir bitkidir. Bazen boyu 1 metreyi geçen bitkinin yaprakları koyu yeşil renkli, dişli kenarlı, saplı ve yakıcı tüylüdür. Küçük ısırgan otu ise (*Urtica urens*) açık yeşil yapraklı, dişli kenarlı, saplı ve yakıcı tüylü, boyu 60 santimetre kadar uzayabilen, yıllık otsu bir bitkidir. Bitki duvar kenarlarında ve harabe yerlerde bol olarak görülür. Beşeri hekimliğinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Tedavide bitkinin özellikle kök, yaprak ve tohumlarından yararlanılmıştır (Davis, 1982). Son yıllarda ısırgan otu Türkiye’de ve dünyanın birçok yerinde insan sağlığı üzerine olan pozitif etkileri nedeniyle tedavi edici bir bitki olarak kabul edilmektedir (Wetherilt, 1989). Isırgan otu yaprak ve kökleri kan temizleyicisi ve diüretik olarak, bitkinin infüzyonu ise nazal ve menstrual kanama, diabet, romatizma, egzema, anemi, saç kaybı, ekspektoran ve antidiyareal olarak kullanılmaktadır (Fijalek ve ark., 2003). Kardiyovasküler sistem üzerinde, lenfosit proliferasyonunun stimülasyonunda ve nötrofiller üzerinde güçlü immunstimülatör etkilere sahip olduğu kaydedilmiştir (Cetinus ve ark., 2005). Ratlarda ısırgan otu tohum ekstraktının antibakteriyel aktivite gösterdiği ve yine aynı çalışmada ülser insidansını famotidine göre daha etkili azalttığı ispatlanmıştır (Gülçin ve ark., 2004).

Isırgan otunun; antihipertansif, antihiperlipidemik ve antidiyabetik bitkisel ilaç olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Ahangarpour ve ark., 2012). *Urtica dioica*’nın yüksek kan şekeri tedavisi için kullanılabileceği ve kandaki glukoz düzeyini düşürdüğüne dair bilgilerin İbni Sina’nın yazılı eserlerinde bulunduğu bildirilmektedirler. Isırgan otunun antidiyabetik etki mekanizması üzerine yapılan araştırmada, ısırgan otunun kan glukoz düzeyini düşürücü etkisinin, ısırgan otunda bulunan aktif komponentlerin langerhans adacıklarındaki insülin sekresyonunu artırmasından kaynaklandığını tespit etmişlerdir (Farzami ve ark., 2003). Benzer şekilde Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) ile glukoz uygulanmasından sonra, ısırgan otu sulu ekstraktının 250mg/kg dozunda 30 dakika uygulanmasıyla güçlü bir glukoz düşürücü etki gözlemlendiği ve bu durumun 3 saat boyunca devam ettiği; bunun aksine, alloksan ile diabet oluşturulmuş ratlarda hipoglisemik etkinin oluşmadığı ve ısırgan otunun bu etkisinin intestinal glukoz emiliminin azalmasından kaynaklanabileceği bildirmişlerdir (Bnouham ve ark., 2003). Isırgan otu bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktın diyabetik ratlarda trigliserid, kolesterol ve LDL

seviyelerini önemli ölçüde düşürerek hipolipidemik etki gösterdiği belirtilmiştir (Mahjoub ve ark., 2012).

Benzer çalışmada serum glukoz, insülin, LDL ve leptin ve LDL/HDL oranlarında önemli azalma sağlayarak hipolipidemik ve antidiyabetik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Ahangarpour ve ark., 2012). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, ısırgan otunun önemli bir kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir (Oto, 2007). Bitkinin aktif bileşiklerinin; glutatyon reduktaz, glutatyon peroksidaz, superoksit dismutaz ve katalazın reaktif serbest radikallerini temizlemesini regüle ettiği bildirilmektedir (Hoşbaş, 2008; Uyar ve ark., 2016). Isırgan otu kökleri; izolektin karışımı ($\frac{1}{4}$ UDA=*Urtica dioica* agglutinine) (%0.2–0.6), polisakkaritler (asidik arabinogalaktan, 2 glukozitler, 2 glukogalakturonanlar), steroller (3- β -sitosterol, hidroksi-sitosterol ve onların glukozitleri), skopoletin (kumarin), dimerik fenilpropan-lignanlar (neo-olivil, sekoizolarisirezinol ve onların asetil ve glukozitleri, dehidrodikoniferil alkol, ve izolarisirezinol, 3,4-divanilliltetrahidrofuran), fenilpropanlar (homovanillilalkohol ve onun 4'-0-glukozit'i), fenoller (p-hidroksi-benzaldehit), seramitler, triterpenoik asitler, monoterpendioller ve glukozitleri ve yağ asitlerini içermektedir (Chrubasik ve ark., 2007). Wetherilt (1989)'un bildirdiğine göre bitkinin yaprakları; 14 mg/100g α -tocopherol, 0,23 mg/100g riboflavin, 13 mg/100g demir, 0,95 mg/100g çinko, 873 mg/100g kalsiyum, 75 mg/100g fosfor ve 532 mg/100g potasyum içermektedir. Isırgan otu tohum ekstrektından çok sayıda flavanol glikozidler izole edilmiştir (Fijalek ve ark., 2003).

Flavonoidlerin antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, antibakteriyel, immun stimulan, antiallerjik, östrojenik, antifosfolipaz, siklooksijenaz ve lipooksijenaz inhibitör görevleri vardır (Tanakol, 1998). Bazı araştırmacılar birçok bitki türündeki total fenol ile antioksidan aktivite arasında pozitif bir bağlantı olduğunu açıklamışlardır. Fenoller hidroksil gruplarından dolayı temizleme yeteneğine sahiplerdir. Isırgan otu tohum ekstrektında fenollere denk olan pirokatekol varlığı gösterilmiştir. Isırgan otu ekstrektının, primer antioksidanlar gibi serbest radikallere karşı serbest radikal inhibitörü olarak görev yaparak vücudu zararlı etkilerden koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca ekstrektın belirgin indirgeme kapasitesinin olması potansiyel antioksidan aktivitesini sağlamaktadır. Isırgan otu bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal, antiülser ve analjezik etkilerinin de bulunduğu belirtilmiştir (Gülçin ve ark. 2004). Isırgan otunun "thiocyanate" metoduyla in vitro olarak

antioksidant özelliklerinin araştırıldığı çalışmada; ısırgan otunun yaprak ve saplarından elde edilen ekstraktının lipid peroksidasyonu güçlü bir şekilde önlediği kaydedilmiş, bu bitkinin doğal antioksidan ve gıda supplementi olarak veya farmasötikal endüstride kullanılabileceği belirtilmiştir (Gülçin ve ark. 2002).

Gerçekleştirilen bu çalışmada, etil alkol ile deneysel olarak 8 haftalık süre içinde karaciğerde fibrozis oluşturulduktan sonraki 2 aylık tedavi sürecinde, ısırgan otu tohumu ekstraktı kullanılarak fibrozisin geri dönüşümünün mümkün olup olmadığı biyokimyasal histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırılması amaçlandı. Çalışmanın sonuçlarının, ileri derecede hepatik fibrozisli ya da sirotik olgularda ısırgan otu tohumu ekstraktının tedavi edici potansiyelinin araştırılmasına temel kaynak oluşturacağı kanısındayız.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada 200-280 gram ağırlığında Wistar Albino ırkı, aynı yaş grubu erkek ratlar kullanıldı. Deney hayvanları, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edildi. Sıçanlar, 12 saat ışık 12 saat karanlık şartlarında, 22 ± 2 °C sıcaklık ve %60 nem bulunan odalarda, çeşme suyu ve standart pelet rat yemi ile beslendi. Çalışma gruplarına yedirilen yem karışımları, bu standart pelet yemlerden hazırlandı. Yem ve su alımı tüm gruplar için serbest bırakıldı. Deney hayvanları standart plastik kafeslerde barındırıldı. Ratlar çalışma başlangıcında tartıldı ve mümkün olduğunca ağırlık bakımından eşit dağılımlı olacak şekilde gruplara ayrıldı. Tartım sonucunda ağırlıkları genel ortalamanın çok altında ya da çok üstünde kalan hayvanlar gruplara dâhil edilmedi.

3.2. Bitki Materyali

Bitki materyali olarak ısırgan otu tohumu (*Urtica dioica* seed) kullanıldı. Ekstraksiyon için bitki tohumları elektrikli bir değirmende öğütüldü. Isırgan otu tohumunun eter ile ekstraksiyonu gerçekleştirildi (Akbaş ve ark., 1993). Isırgan tohumu ekstraktı vücut ağırlığına göre 30mg/kg dozlarında olacak şekilde günlük orogastrik gavaj ile verildi.

3.3. Deneme Şeması

Çalışmada toplam 24 adet rat kullanıldı ve ratlar her grupta 8'er adet olmak üzere üç gruba ayrıldı. Deneme süresi toplam 4 ay olarak belirlendi. Birinci grup (Kontrol); Standart rat pelet yemiyle beslendi. Alkol ve alkol+ısırgan otu ekstrakt gruplarında ise denemenin ilk 2 ayında günde bir defa 4mL/kg %30'luk etil alkol orogastrik verilerek hepatik fibrozis oluşturuldu. Daha sonraki 3. ve 4. aylarda 2. gruba yine sadece alkol verilirken, 3. grup ratlara alkol alımıyla beraber ısırgan tohumu ekstraktı (30mg/kg) da verilerek oluşturulan fibrozisin geri dönüşümü izlendi.

Bu amaçla, toplam 24 adet rat her grupta 8'er adet olmak üzere üç ayrı gruba ayrıldı.

- Birinci grup (Kontrol); Standart rat pelet yemiyle beslendi.

- İkinci grup (Etil alkol); Günde bir defa 4mL/kg %30'luk etil alkol orogastrik gavaj ile verildi ve standart pelet yem ile beslendi.
- Üçüncü grup (Etil alkol; başlangıçtan itibaren + ekstrakt; denemenin 2. ayından sonra): Günde bir defa 4mL/kg %30'luk etil alkol ve 30mg/kg ekstrakt günlük orogastrik gavaj ile verildi ve standart pelet yem ile beslendi.

Uygulama sonunda nekropsi yapılan ratların karaciğerlerinden alınan doku örnekleri histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelendi.

3.4. Histopatolojik İnceleme

120 günlük deneme süresi sonunda tüm hayvanların nekropsileri yapılarak karaciğerdeki makroskobik bulgular kaydedildi ve değişimler fotoğraf makinesiyle görüntülendi. Alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formalinde tespit edildikten sonra parafin bloklara gömülerek mikrotomla 4µm'lik kesitler alındı, histopatolojik inceleme için hematoksilin-eozin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Alınan doku örnekleri özellikle inflamasyon ve fibrozis açısından incelendi.

3.5. Kan Örneklerinin Alınması ve Serum örneklerinin Elde Edilmesi

Anestezi altında intrakardiyak olarak alınan kanlar sarı kapaklı biyokimya tüplerine alındı. 3000 g'de 10 dk santrifüj edildikten sonra, elde edilen serum örnekleri yeni ependorf tüplere aktarıldı. Biyokimya ile ilgili parametreler çalışılincaya kadar -80 °C'de saklandı.

3.6. Serum örneklerinde Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Serum örneklerinde AST, ALT, GGT, LDH, AlkP, HDL, LDL, Kolesterol, Trigliserid ve Glukoz değerlerinin ölçümü kemilüminesans immüno-partikül yöntem kullanılarak Architect System Abbott Plus CI 16200 ® (Abbott Diagnostic Architect Plus CI 16200, USA) rutin biyokimya analizöründe ölçüldü.

3.7. İstatiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama ve standart sapma olarak verildi. Analiz için SPSS (versiyon 20) kullanıldı. Varyans analizini takiben gruplar arası farklar için Kruskal-wallis analiz yöntemi uygulandı ve gruplar arası farklar Tukey posthoc testi ile belirlendi. P değerleri 0.05 den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

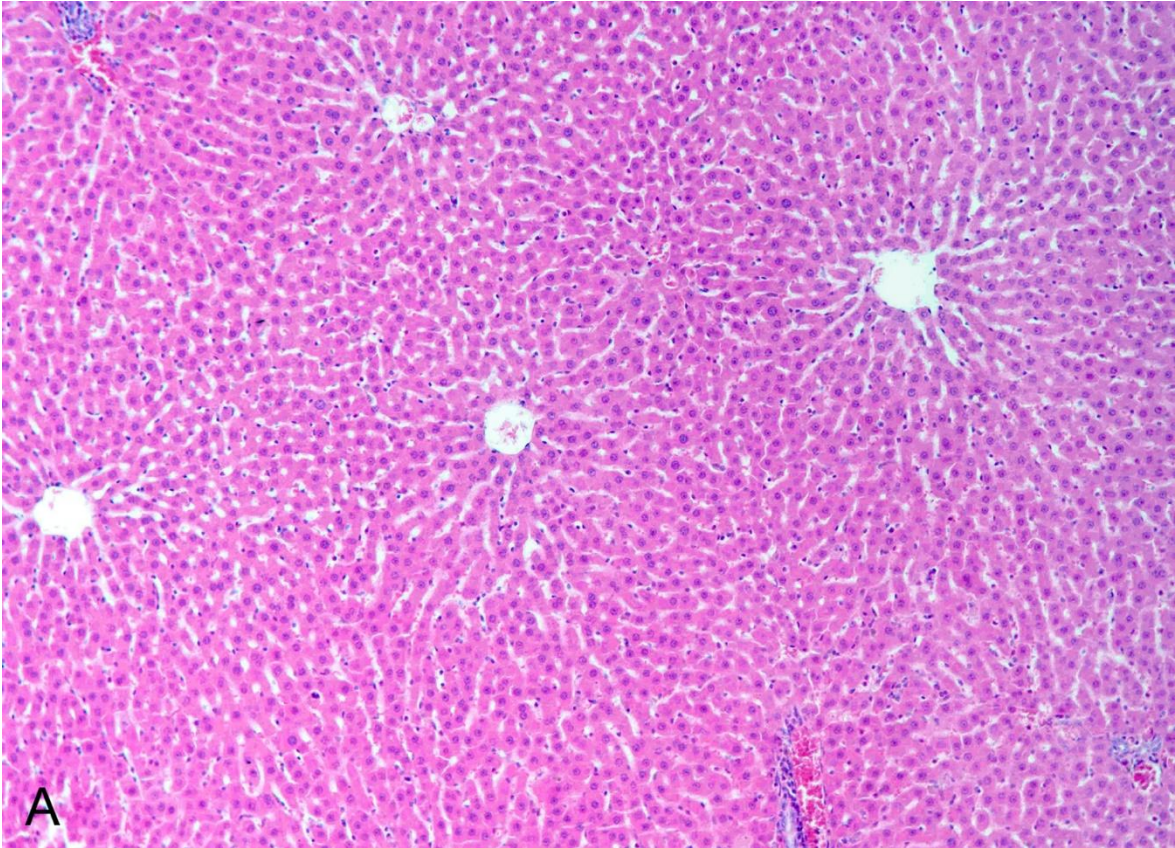
4.1. Makroskopik Bulgular

Kontrol ve deneme grubu ratların nekropsilerinde organların makroskopik incelenmesinde herhangi bir morfolojik değişiklik saptanmadı.

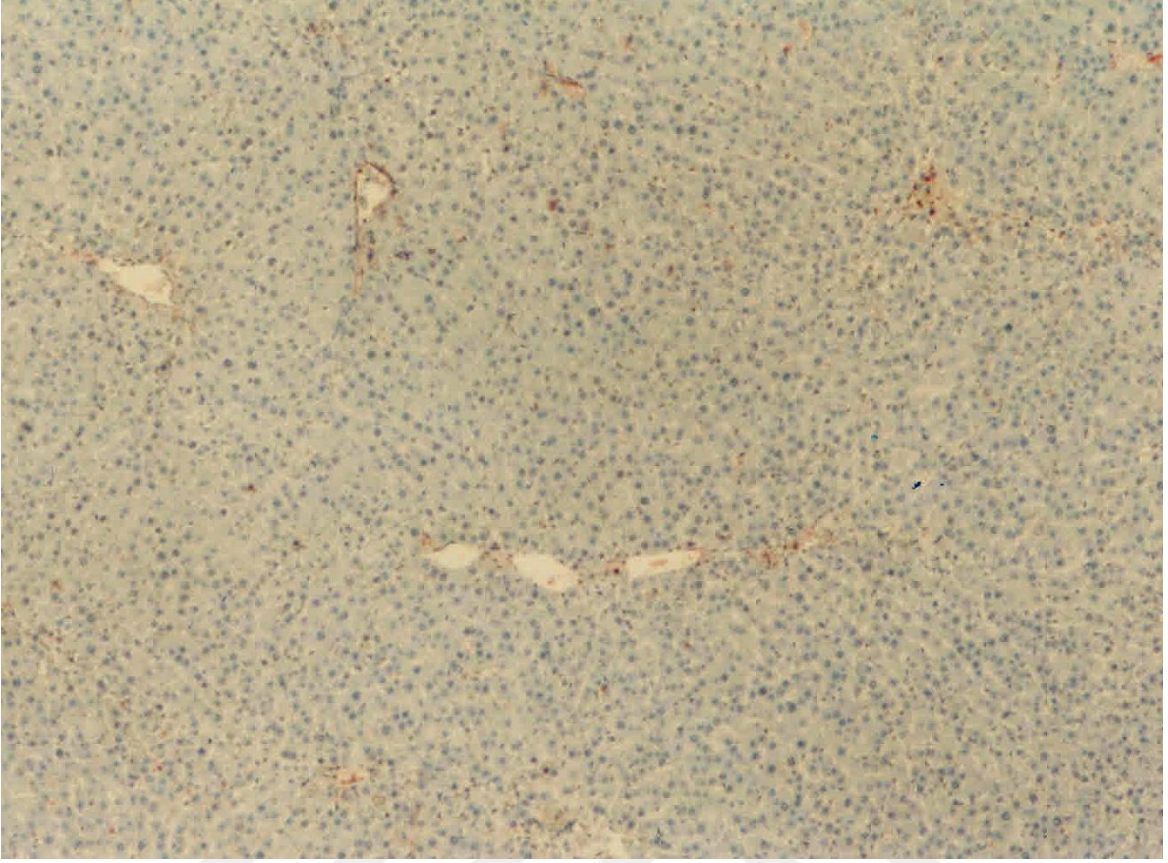
4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Birinci grup (Kontrol)

Mikroskopik olarak karaciğerin normal histolojik görünümü görüldü. Bu grubun rat karaciğerlerinde hepatositler ve portal alanların yapıları normal görünümde olduğu, hepatositlerin vena sentralis çevresinde düzenli remark kordonları oluşturduğu ve remark kordonları arasında bulunan sinuzoidlerin normal görünümde olduğu görülmekteydi (Şekil 3). İmmünohistokimyasal olarak periasiner bölgelerde ve perisinüzoidal hücrelerde alfa düz kas aktin (ASMA) için çok hafif reaksiyon gözlemlendi (Şekil 4).



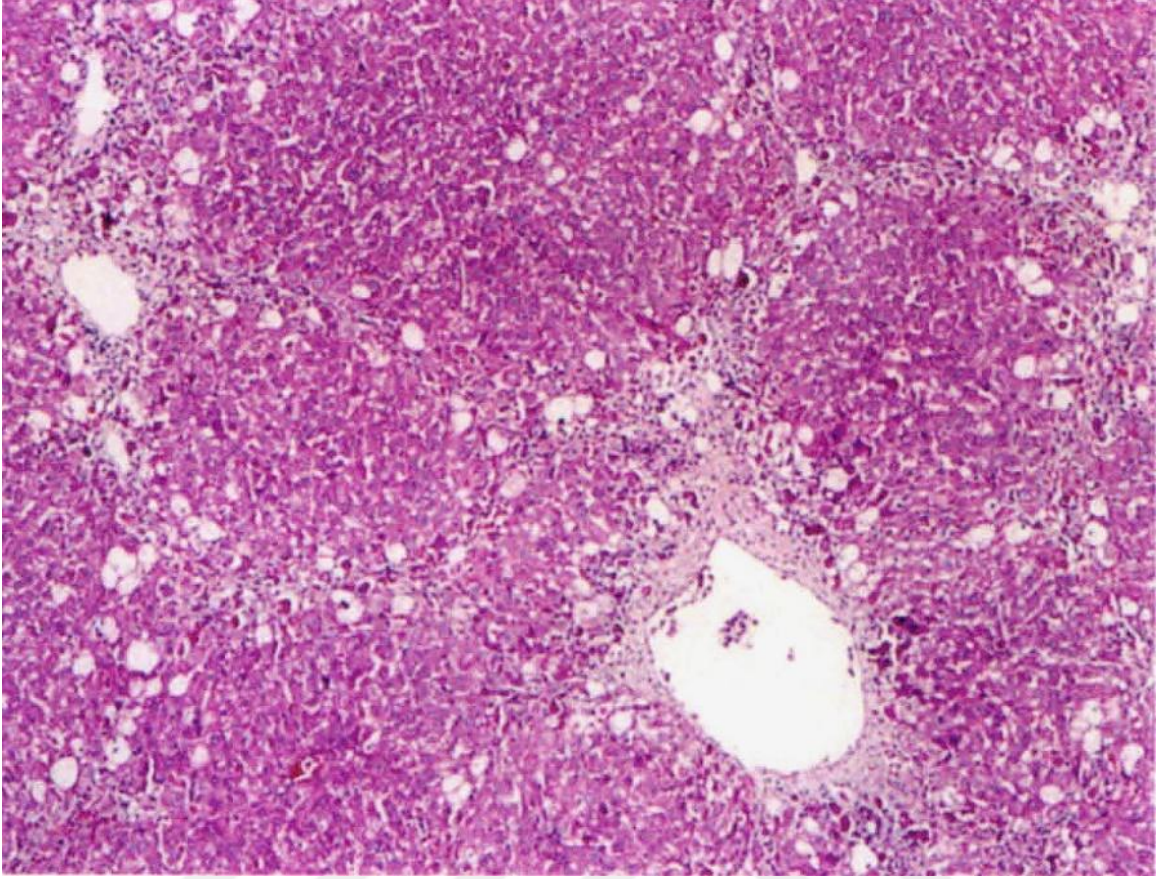
Şekil 3. Kontrol grup: Karaciğerin normal histolojik görünümü izlenmektedir. H.E. Bar: 100µm.



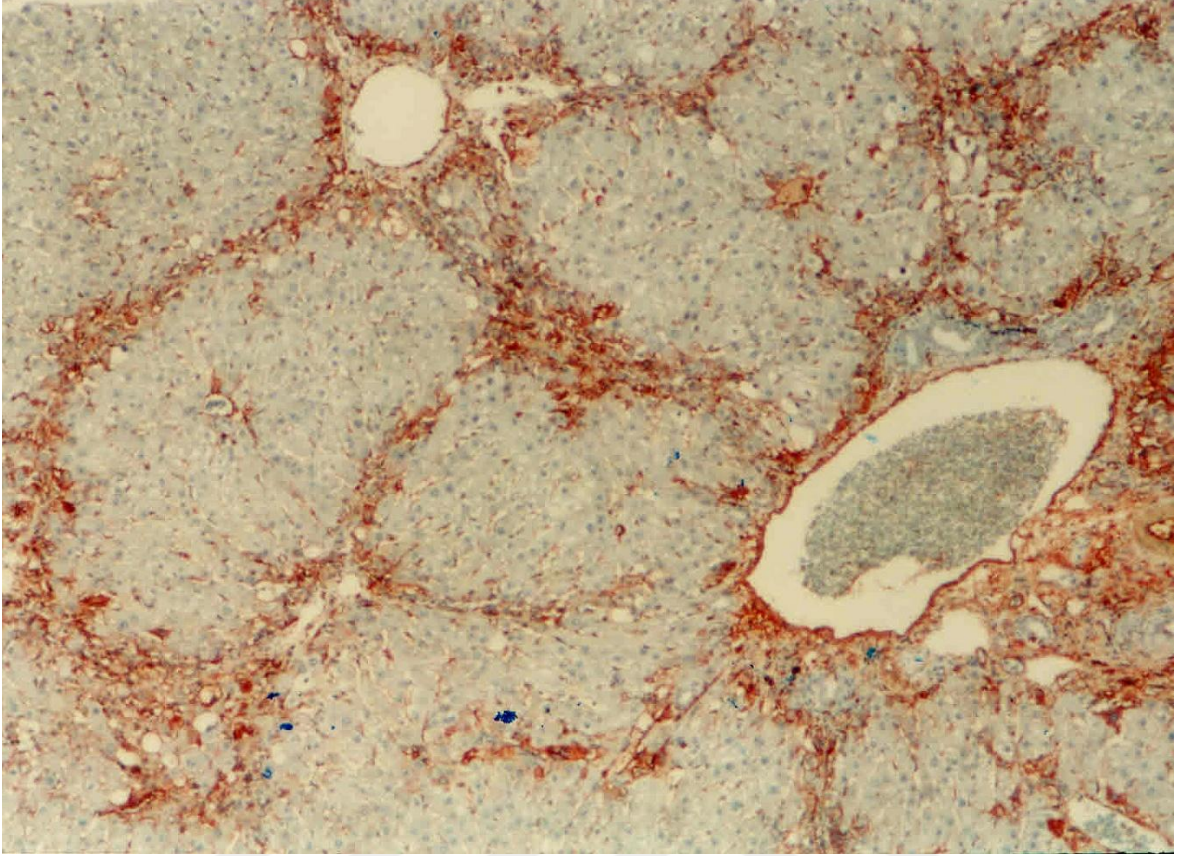
Şekil 4. Kontrol grup: İmmünohistokimyasal olarak periasiner bölgelerde ve perisinüzoidal hücrelerde alfa düz kas aktin (ASMA) için çok hafif reaksiyon izlenmektedir. İmmunperoksiyaz boyama. Bar: 100µm.

4.2.2. İkinci grup (Etil alkol)

Bu grupta en dikkat çeken bulguların, özellikle periasiner bölgelerde belirgin olan hepatosellüler hidropik dejenerasyon ve nekroz olduğu dikkati çekti. Ayrıca kimi lopçuklarda periasiner ve portal alanlarda belirgin şekilde bağ dokusu artışının meydana geldiği görüldü (Şekil 5). Bağ dokusu artışının bazen ince kollajen demetler halinde portal aralıklardan parankim içerisine doğru yayıldığı gözlemlendi. Portal bölgelerde ayrıca, fokal mononükleer hücre infiltrasyonlarından oluşan yangısal reaksiyonlar da belirlendi. İmmünohistokimyasal olarak özellikle periasiner bölgelerdeki nekrotik bölgelerde ve portal alanlardaki fibrozis bölgelerinde alfa düz kas aktin (ASMA) için belirgin reaksiyon saptandı (Şekil 6).



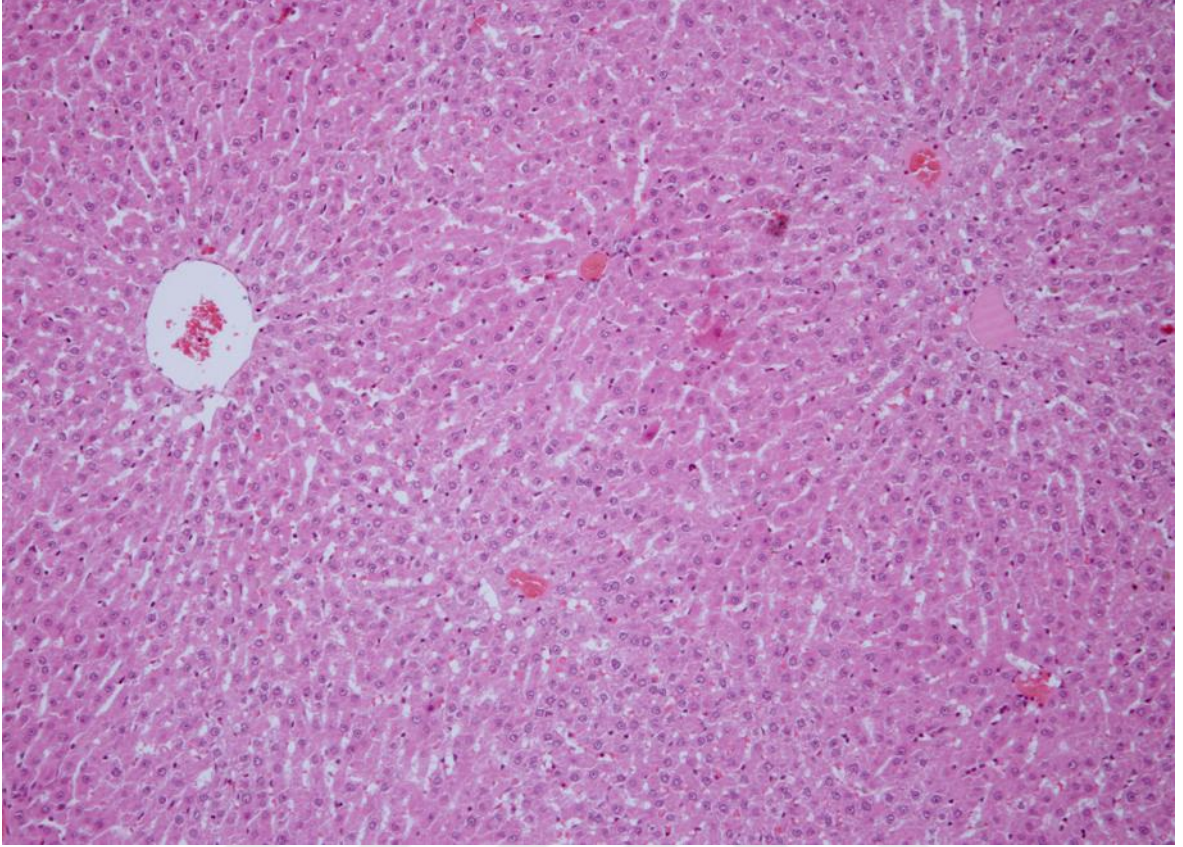
Şekil 5. Etil alkol grup: Periasiner bölgelerde hepatosellüler hidropik dejenerasyon , nekroz ve fibrozis izlenmektedir. H.E, Bar; 50µm.



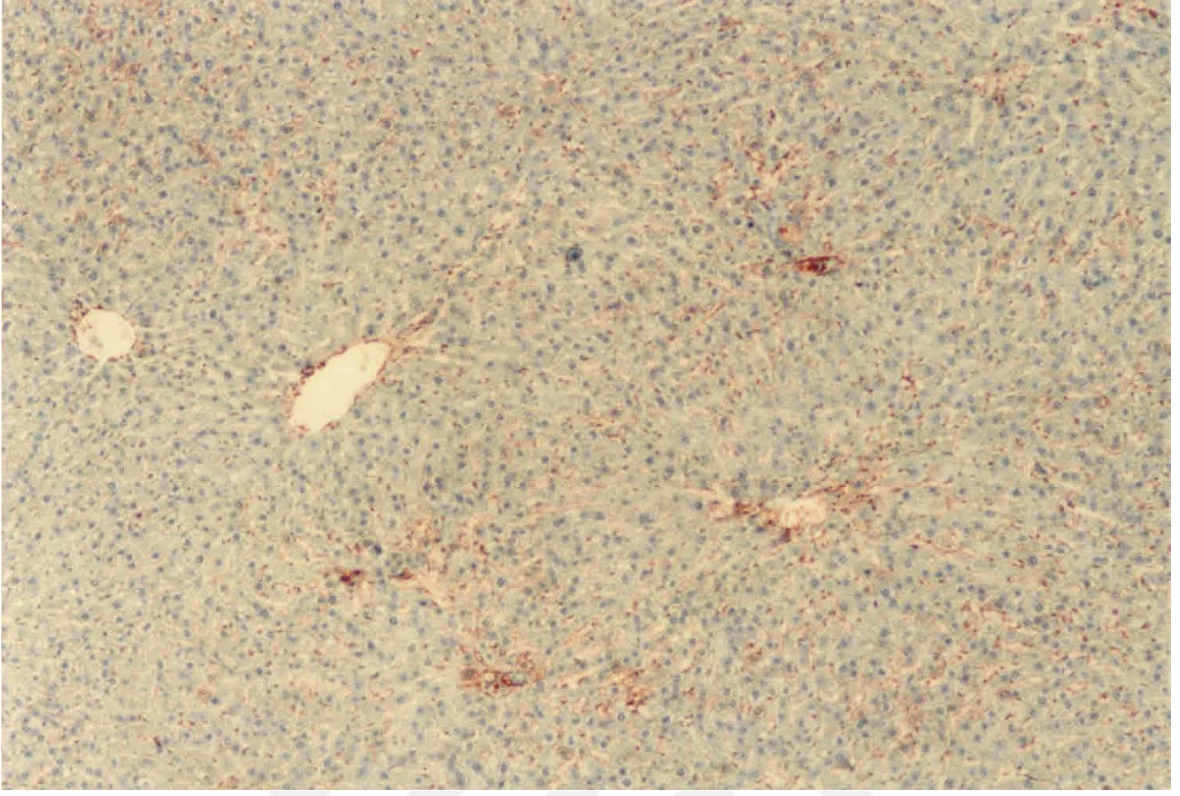
Şekil 6. Etil alkol grup: Dejeneratif-nekrotik ve fibrozis bölgelerinde güçlü alfa düz kas aktin (ASMA) reaksiyonu izlenmektedir. İmmunperokisadaz boyama. Bar; 50µm.

4.2.3. Üçüncü grup (Etil alkol +Isırgan tohumu ekstrakt'ı, 30mg/kg)

Bu grup ratların karaciğerlerinde, etil alkol grubunda lopçukların periasinar ve portal alanlarda fibrozis saptanmadı. Ancak karaciğer parankiminin bazı hepatositlerinde seyrek olarak koagulasyon nekrozu ve hidropik dejenerasyon görüldü. Ayrıca perisinüzoidal hücrelerin aktivasyonu dikkat çekti (Şekil 7). Bu grup ratların karaciğer kesitlerinin immünohistokimyasal boyamasında, hepatik sinüzoidler boyunca ASMA-pozitif perisinüsoidal hücrelerde (Şekil 8) reaksiyon gözlemlendi. Ancak bu reaksiyonların etil alkol grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha hafif düzeylerde olduğu dikkati çekti.



Şekil 7. Etil alkol +Isırgan tohumu ekstrakt grup: Karaciğer parankiminin bazı hepatositlerinde seyrek olarak koagulasyon nekrozu ve hidropik dejenerasyon görülürken, fibrozis bulunmamaktadır. Perisinüzoidal hücrelerde hafif reaksiyon izlenmektedir. Bar; 50µm.



Şekil 8. Etil Alkol +Isırgan tohumu ekstrakt grup: İmmünohistokimyasal olarak periasiner bölgelerde perisinüzoidal hücrelerde alfa düz kas aktin (ASMA) için hafif reaksiyonu izlenmektedir. İmmunperokisadaz boyama. Bar; 100µm.

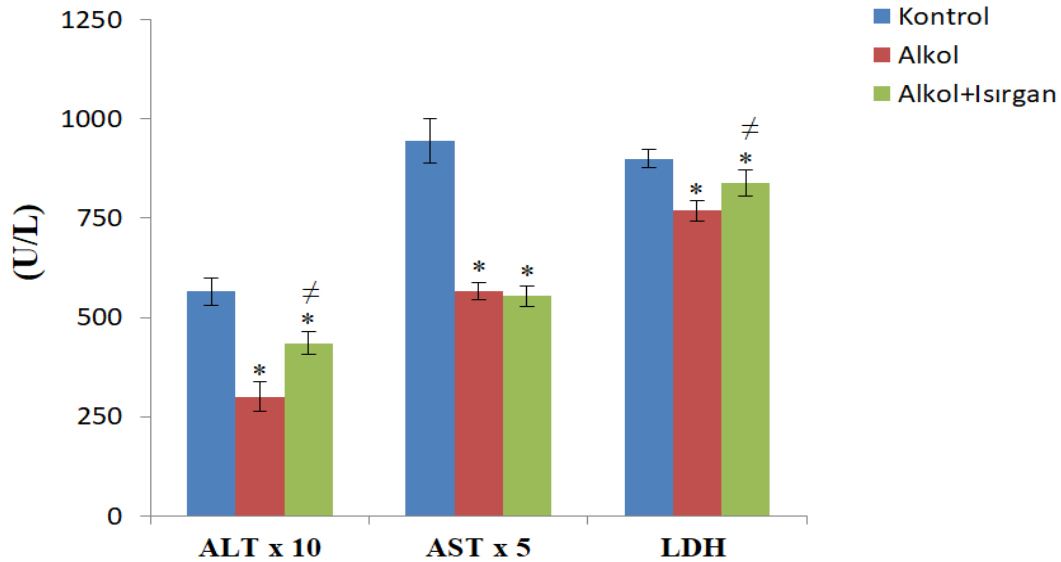
4. 3. Biyokimyasal Bulgular

Karaciğer fonksiyon testlerinden AST, ALT ve LDH değerlerine ait sonuçlar Tablo 1 ve Şekil 9'da ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Alkol ve alkol+Isırgan gruplarında AST, ALT ve LDH değerleri kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmıştı ($p<0.001$). Ancak Alkol+Isırgan grubunda ALT ve LDH değerleri alkol grubuna göre daha yüksekti ($p<0.001$). Alkol ve Alkol+Isırgan grupları arasında AST değerleri arasında önemli bir farklılık yoktu ($p>0.05$).

Tablo 1. GGT, AlkPaz ve bazı karaciğer fonksiyon testlerine ait değerler

Gruplar	ALT	AST	LDH	GGT	AlkPaz
Kontrol	56.67±3.4	189.0±11.3	899.8±22.3	2.55±0.28	201.6±16
Alkol	30.0±3.7*	113.2±4.5*	768.5±24.9*	2.49±0.25	171.0±7*
Alkol+Isırgan	43.5±2.8* [‡]	110.1±5.0*	838.8±32.2* [‡]	2.57±0.26	243.0±17* [‡]
P değerleri	0.001	0.001	0.001	0.112	0.001

AST: Aspartat transaminaz (U/L), ALT: Alanin transaminaz (U/L), LDH: Laktat dehidrogenaz (U/L), GGT: Gamaglutamil transferaz (U/L), AlkP: Alkalen fosfataz (U/L), HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein. *p: Kontrol grubuna göre ($p<0.001$), [‡]p: Alkol grubuna göre anlamlı ($p<0.001$).



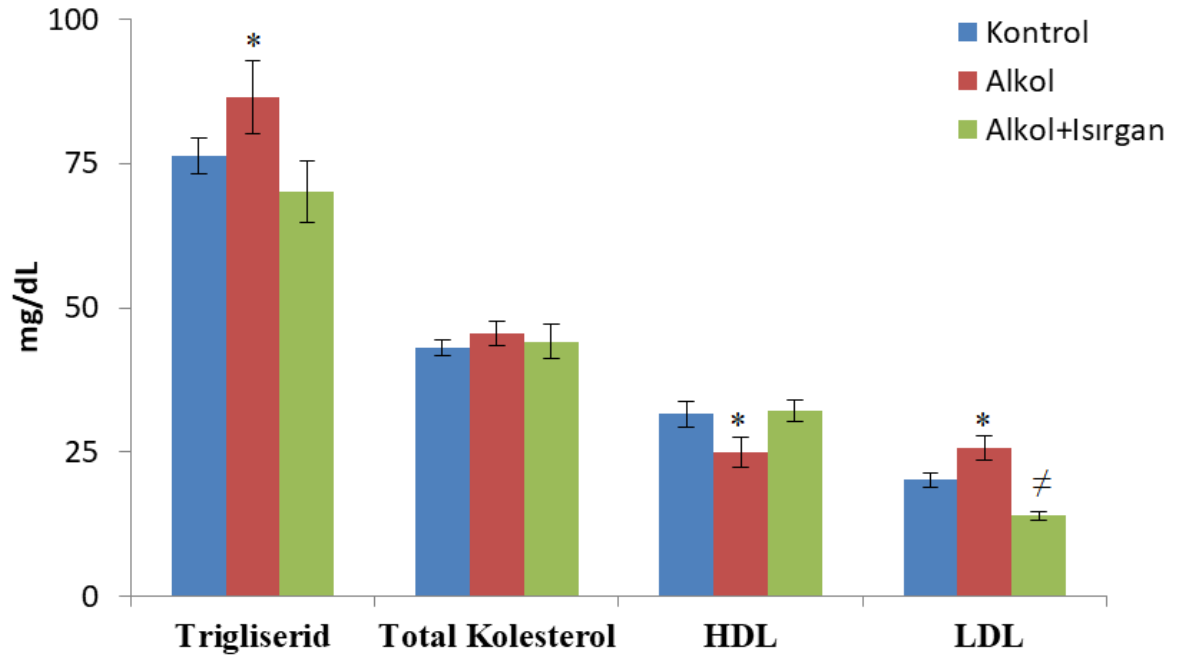
Şekil 9. Karaciğer fonksiyon testlerinden AST, ALT ve LDH değerlerinin karşılaştırılması. AST: Aspartat transaminaz (U/L), ALT: Alanin transaminaz (U/L), LDH: Laktat dehidrogenaz (U/L), GGT: *p: Kontrol grubuna göre ($p<0.001$), [‡]p: Alkol grubuna göre anlamlı ($p<0.001$).

Tablo 2 ve Şekil 10’da lipid profili değerleri incelendiği zaman, alkol grubunda kontrol grubuna göre trigliserid ve LDL değerleri artmış iken ($p<0.001$), HDL değerleri ise azalmıştı ($p<0.001$). Ancak Alkol+Isırgan grubunda ise alkol grubuna göre trigliserid ve LDL düzeyleri azalmış iken ($p<0.001$), HDL düzeyleri artmıştı ($p<0.001$). Ek olarak, Alkol +Isırgan grubunda kontrol grubuna göre trigliserid ve LDL düzeyleri azalmıştı ($p<0.001$). Tüm gruplarda total kolesterol seviyeleri açısından önemli bir değişiklik yoktu ($p>0.05$).

Tablo 2. Glukoz ve lipid profili değerleri (mg/dL)

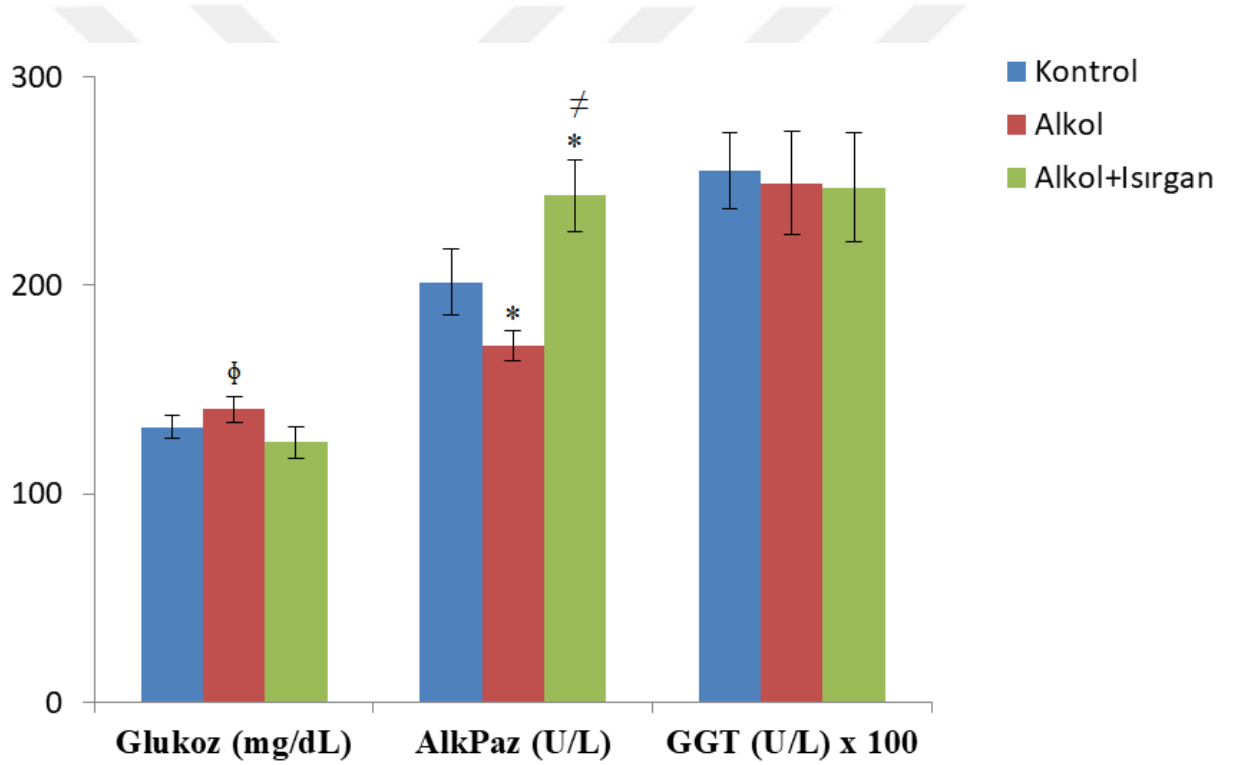
Gruplar	Glukoz	Trigliserid	Total Kolesterol	HDL	LDL
Kontrol	132.0±5.5	76.3±3.0	43.0±1.4	31.6±2.2	20.1±1.2
Alkol	140.5±6.0 ^φ	86.5±6.3*	45.5±2.0	25.0±2.6*	25.6±2.1
Alkol+Isırgan	124.6±7.3	70.1±5.3	44.1±2.9	32.0±1.8	13.9±0.8 [‡]
P değerleri	0.001	0.001	0.003	0.001	0.001

*p: Kontrol ve Alkol+Isırgan gruplarına göre anlamlı ($p<0.001$), [‡]p: Kontrol ve Alkol gruplarına göre anlamlı ($p<0.001$), ^φp: Alkol+Isırgan grubuna göre anlamlı ($p<0.001$).



Şekil 10. Lipit profili değerlerinin toplu olarak karşılaştırılması. *p: Kontrol ve Alkol+Isırgan gruplarına göre anlamlı ($p<0.001$), [‡]p: Kontrol ve Alkol gruplarına göre anlamlı ($p<0.001$).

Gelişim döneminde kemik gelişimi ile ilişkili parametrelerden AlkP değerleri, alkol grubunda kontrol ve Alkol+Isırgan gruplarına göre anlamlı seviyede azalmıştı ($p<0.001$). Ancak Alkol+Isırgan grubunda AlkPaz değerleri hem kontrol hem de alkol grubu değerlerine göre daha yüksekti ($p<0.001$). Tüm gruplarda GGT açısından önemli bir değişiklik yoktu ve tüm değerler birbirine benzerdi ($p>0.05$). Glukoz değerleri incelendiğinde alkol grubunda kontrol grubuna göre glukoz değerleri anlamlı olmasa da kısmen artmıştı ($p>0.05$). Ancak bu artış Alkol+Isırgan grubuna göre daha anlamlıydı ($p<0.001$). Ayrıca Isırgan+Alkol grubunda glukoz değerleri alkol grubuna göre önemli ölçüde düşüktü ($p<0.001$).



Şekil 11. Glukoz ve AlkP değerlerinin karşılaştırılması. *p: Diğer gruplara göre anlamlı ($p<0.05$), ^{phi}p: Alkol+Isırgan grubuna göre anlamlı ($p<0.001$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüz dünyasının şartları; sentetik ilaçlar yerine, doğal ürünlerin tedavi gücünü kullanmanın yollarını aramayı zorunlu kılmaktadır. Sentetik gıda katkı maddelerinin yerini doğal antioksidanlar ile değiştirme çabaları da artmaktadır. Fonksiyonel gıdalar, kendi özel bileşenleri yoluyla hastalıklardan koruyucu veya tedavi edici etkiye sahiptir. İnsanlarda kronik alkolizm, viral hepatitler ve metabolizma hastalıkları sonrasında oluşabilecek hepatik fibrozis ve siroz olguları önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ülkemizde, insanlar tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde ısırgan otu tohumu kullanılmaktadır. Bu araştırmayla, etil alkol ile deneysel olarak karaciğerde fibrozis oluşturulduktan sonraki 2 aylık tedavi sürecinde, ısırgan otu tohumu ekstraktı kullanılarak fibrozisin geri dönüşümünün mümkün olup olmadığı biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırıldı.

Karaciğer çok çeşitli metabolik ve toksik saldırılara, mikroplardan ve dolaşım bozukluklarından kaynaklanan olumsuz etkilere açık bir organdır. Çok büyük bir fonksiyonel rezerve sahip olan karaciğer, bununla birlikte bütün karaciğer hastalıklarında yüksek düzeyde rejenerasyon kapasitesine sahiptir. Karaciğerde fibrozis; hepatositlerde dejenerasyon, nekroz ve safra duktuslarında yangı sonucunda oluşan kronik karaciğer hasarını müteakiben portal aralık, perivenüler ve kapsüler bölgelerdeki bağ dokunun proliferatif yangısı olarak tanımlanmaktadır. Diğer bir ifadeyle fibrozis, yıkılan parankim hücrelerinin yerinde fibroblast-fibrosit proliferasyonu ve kollajen doku artışıyla karakterizedir. Ayrıca hepatositler ile sinüzoidal endotel hücreleri arasındaki disse aralıklarında yer alan *Ito* hücreleri (yıldız hücreler) fibrozis gelişme sürecinde miyofibroblastik değişime uğrayarak proliferatif olur ve kollajen üretirler. Fibrozis, önceleri sadece portal alanlarda görülür, ancak zamanla portal alanlar arasında fibröz septumlar (yoğun nedbe dokusu bantları) ortaya çıkar. Böylece makroskopik olarak karaciğerde fokal veya diffuz olabilen kaba ya da ince nodüler lezyonlar oluşur. Nedbeleşmenin ve nodül oluşumunun yaygınlaşarak devam etmesi sirozla sonuçlanmaktadır (Yener ve ark., 2016).

Karaciğer fibrozisi, günümüz modern yaşamında olumsuz reaksiyonları olan reçeteli ilaçların daha fazla kullanılması veya ilacın kötüye kullanımı nedeniyle ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Sonuçta, yeni terapötik alternatiflerin araştırılmasını teşvik

etmiştir. Günümüzde lipid peroksidasyonunun, karaciğer fibrozunun patogenezinde önemli yer teşkil ettiği bilinmektedir. Lipid peroksidasyonu aldehit ürünlerinin (malondialdehit ve 4-hidroksinenal) kronik karaciğer hastalıklarında özellikle alkol tüketiminden dolayı artmaktadır. Lipid peroksit radikalleri, karaciğer *Kupffer* hücrelerinde prokollajen tip-I sentezini indüklemekte ve böylece karaciğerde fibrojenik süreci başlatmış olmaktadır (Casini ve ark., 1997). Etil alkol, lipid peroksidasyonunu indükleyen bir kimyasaldır. Etil alkol'ün, deney hayvanlarında uygulanmasından sonra lipid peroksidasyonunun olduğu görülmüştür. Uzun süreli kullanımı karaciğerde fibrozis ve sirozla sonuçlanabilmektedir. (Sherlock, 1997). Karaciğer harabiyeti üzerine yapılan birkaç deneysel çalışmada; antioksidan vitaminlerin, minerallerin, ilaçların ve bitki kaynaklı bileşiklerin karaciğer fibrozunun önlenmesinde ve tedavisinde rolü araştırılmıştır. Isırgan tohumu ekstraktının etkili antioksidan özelliklere sahip olduğu ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir (Lou ve ark., 1999; Muhtar ve Ahmad, 2000; Konrad ve ark., 2000; Anton ve Sheila, 2002; Yener ve ark., 2009; Uyar ve ark., 2014). Isırgan tohumu ekstraktının flavanoidler gibi fitokimyasallara sahip olduğu ve serbest radikalleri temizlemede etkili olduğu bildirilmiştir (Glusker ve Rossi, 1986; Akbay ve ark., 2003). Isırgan tohumu ekstraktının; hepatoprotektif ve immünoestimülantör bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Akbay ve ark., 2003; Türkdoğan ve ark., 2003). Isırgan tohumunun bir antioksidan potansiyeline sahip olmasıyla beraber, gıda supplementi olarak veya ilaç sanayisinde kullanılabileceği kaydedilmiştir (Gulçin ve ark., 2004).

Yapılan literatür incelemelerinde görüldüğü üzere, deneysel çalışmalarda ısırgan otu tohumunun hepatoprotektif etkiye sahip olduğu ya da hepatik nekrozun ve fibrozisin oluşumunu engellediği ortaya konulmuştur. Ancak, ısırgan otu tohumu ekstraktı kullanılarak; alkol ile karaciğerde daha önceden oluşmuş dejeneratif-nekrotik değişikliklerin ve fibrozisin geri dönüşümünün mümkün olup olmadığı konusunda bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bu çalışmada, etil alkol ile deneysel olarak 8 haftalık süre içinde karaciğerde fibrozis oluşturulduktan sonraki 2 aylık tedavi sürecinde, ısırgan otu tohumu ekstraktı kullanılarak fibrozisin geri dönüşümünün mümkün olup olmadığı histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırıldı.

5.1. Histopatolojik Bulgular

Türkdoğan ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada tavşanların karaciğerlerinde CCl₄ ile oluşturulan fibrozisin önlenmesinde antioksidan özelliklere sahip çörek otu (*Nigella sativa*), vitamin C, E ve selenyumun rolleri araştırılmıştır. Histopatolojik olarak, *Nigella sativa* ile tedavi edilen tavşanlarda sentrilobüler nekroz ve fibrozis görülmemiştir, C vitamini ile tedavi edilen tavşanlarda ise gözlemlenen lezyonlar, CCl₄ grubundakiler ile benzer bulgular olduğu tespit edilmiştir. Selenyum ve vitamin E verilen tavşanlarda fibrozis ile parenkimal değişiklikler kontrol grubuna göre daha az olduğu gözlemlenmiştir. Ancak çörek otu grubundakilerden daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta, histopatolojik bulgular çörek otunun tavşanlarda karaciğer fibrozunun önlenmesinde başarılı olduğu, Vitamin E ve selenyumun terapötik etkisinin az ve C vitamininin ise etkisiz olduğu kaydedilmiştir.

Yener ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada; ratlarda aflatoksin ile oluşturdukları karaciğer harabiyetinde histopatolojik olarak AF ile muamele edilen gruptaki bütün sıçanların karaciğerlerinde yaygın olarak hidropik dejenerasyon ve nekroz görüldüğünü kaydetmişlerdir. Ancak AF ile birlikte ısırgan tohumu ekstraktı verilen ratlarda bu değişikliklerin minimal düzeylerde olduğu rapor edilmiştir. Sunulan bu çalışmada da etil alkol ile oluşturulan karaciğer hasarı ve fibrozisinde ısırgan tohumu ekstraktının terapötik etkisiyle, etil alkol grubunda belirgin olan fibrozis ve hepatositlerde dejeneratif-nekrotik değişikliklerin etil alkol+ısırgan tohumu ekstraktı grubunda gözlenmediği, oluşan lezyonların da ısırgan tohumu ekstraktının terapötik etkisiyle geri dönüşümün sağlandığı belirlenmiştir. Bu sonuç daha önceki çalışmaların (Türkdoğan ve ark., 2001; Yener ve ark., 2008) sonuçları ile uygunluk göstermektedir.

Bitkinin bu hepatoprotektif etkisi ile ilgili olarak; bitkinin karaciğer hasarının önlenmesinde daha çok lipid peroksidasyonu engelleme ve immun sistemi aktive etme özelliklerinin etkili olabileceği, ayrıca diğer terapötik özelliklerinin de bu hepatoprotektif etkilerine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

5.2. Alpha-Smooth Muscle Actin (ASMA)

Normal karaciğerde sinüzoidlerin; endotelyal, *Kupffer*, *Ito* (stellate cells) ve pit hücreleri ile ekstrasellüler matris komponentlerinden oluştuğu, Ito hücrelerinin ASMA pozitif olduğu kaydedilmiştir (Shiga ve ark., 1996). ASMA-pozitif perisinüzoidal hücrelerin myofibroblastic transformasyonlu stellate hücreleri olduğu immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir (Enzan ve ark., 1994). Türkdoğan ve ark. (2003), rat karaciğerlerinde CCl₄ ile oluşturulan fibrozisde nekrotik ve fibrotik alanlarda ASMA-pozitif hücrelerin çok belirgin olarak arttığını saptamışlar ve karaciğer dokusundaki fibrotik değişimlerin immunohistokimyasal boyama ile daha net olarak ortaya konabildiğini belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada, etil alkol grubunda diğer gruplara göre oldukça belirgin olarak perisinüzoidal hücrelerde boyanma saptandı. Diğer gruplarda ise birbirlerine benzer düzeylerde perisinüzoidal hücrelerde hafif reaksiyon görüldü. Bu immunohistokimyasal bulgular etil alkol grubunda belirgin olan fibrozis ve hepatositlerde dejeneratif-nekrotik değişikliklerin meydana geldiğini, etil alkolle birlikte ısırgan ekstraktı alan gruplarda ise bitki ekstresinin hepatoprotektif ve antifibrotik etkisiyle karaciğerin korunduğunu ve oluşan lezyonların da azaldığını göstermektedir.

5.3. Biyokimyasal Sonuçlar

Urtica dioica ekstraktının serum glukozunu ve kan açlık şeker düzeyini azaltarak tip 2 diabetes mellitusu iyileştirmede faydalı olabileceği belirtilmiştir (Ahangarpour ve ark., 2012). *Urtica dioica*'nın yaprak sulu ekstraktının streptozotosin ile indüklenmiş hiperglisemik sıçanlarda antihiperglisemik etkisinin yanı sıra lipid kolesterol seviyesini ve kan glukozunu önemli ölçüde azalttığı, ancak trigliserit ve LDL düzeyini artırdığı gösterilmiştir. Sıçanların, ısırgan otunun toprak dışında kalan bölümlerinin sulu ekstraktı ile oral ön muamelesi, oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında glukoz seviyesinin düşmesine sebep olmuştur. Ayrıca, toplam LDL, kolesterol, LDL/HDL oranı ve plazma toplam AST, LDH ve ALT düzeylerini azalttığı rapor edilmiştir (Fattahi ve ark., 2016).

Urtica dioica ve *Lamium albüm* ekstraktı diyabetik sıçanlarda serum glukoz seviyesinde anlamlı düşüşe neden olmuştur. Diyabetik kontrol ile karşılaştırıldığında, her iki ekstraktın, serum kolesterol, ALT, AST ve ALP'ı önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. *Urtica dioica* ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda serum TG seviyesinin, *Lamium albüm* ile tedavi edilen sıçanlara göre anlamlı olarak düştüğü belirlenmiştir (Mohammadian ve ark., 2012).

Ahangarrpour ve ark. (2012) fruktoz ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda yaptıkları çalışmalarında, fruktoz grubunda kontrol grubuna göre HDL ve glukoz değerleri artmış iken, total Kolesterol, LDL, ALT, AST, ALP düzeylerinin azaldığını bulmuşlardır. Ekstrat %50 (U dioica) grubunda ise kontrol grubuna göre HDL'nin değişmediği, LDL, ALT, AST, ALP ve total kolesterol düzeylerinin azaldığı, glukoz düzeylerinin ise arttığı rapor edilmiştir.

Mohammadian ve ark. (2012), *Urtica dioica* ve *Lamium albüm* ekstrakt'larının diyabetik erkek sıçanlar üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmalarında, *Urtica dioica* ve *Lamium albüm* ekstrakt'ının diyabetik sıçanlarda serum glukoz seviyesinde anlamlı düşüslere neden olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca diyabetik kontrol ile karşılaştırdıklarında, her iki ekstrakt'ın serum kolesterol, ALT, AST ve ALP'yi önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuşlardır. Ek olarak, U. dioica ve L. albüm ekstrakt'ı ile tedavi edilen diyabetik sıçanlar arasında, serum AST, ALT ve ALP düzeylerinde anlamlı fark olmadığını belirlemişlerdir.

Fattahi ve ark. (2016), diyabetik sıçanların *U.dioica* ekstraktı ile oral ön muamelesinin oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında, glukoz seviyesinin düşmesine yardımcı olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, LDL, total kolesterol, LDL/HDL oranı ve plazma AST, LDH ve ALT düzeylerinin ısırgan otu ekstraktı kullanılan gruplarda azaldığını rapor etmişlerdir.

Bu çalışmanın biyokimyasal sonuçlarına göre; alkol ve alkol+ısırgan gruplarında ALT düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azalmıştı. Fakat alkol+ısırgan gruplarında alkol grubuna göre önemli ölçüde artış vardı. Ek olarak AST ve LDH seviyeleri incelendiğinde; Alkol ve Alkol+ Isırgan grubunda kontrol grubuna göre anlamlı seviyede azalma söz konusuydu. Ancak ısırgan+alkol grubunda alkol grubuna göre LDH seviyesinde önemli ölçüde artış vardı. Alkol grubu açısından bu sonuçların, daha önceki çalışmaların sonuçlarıyla çeliştiği görülmektedir. Bu durum, kullanılan alkol dozu ve tedavi süresiyle ilişkili olabilir. Ancak alkol +ısırgan grubunda bu değerlerin rejenere olması ısırgan otu tohumu ekstrakt'ının LDH düzeyleri üzerinde koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda alkol kullanılan grupta kontrol grubuna göre alkPaz düzeylerinin düştüğü, ancak alkol kullanılan ısırgan+alkol grubunda ise hem alkol hem de kontrol grubuna göre bu değerlerin önemli ölçüde arttığı tespit edildi. Bu sonuç daha önceki çalışmaların sonuçları ile uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızın lipid profili değerleri göz önüne alındığında, alkol kullanılan gruplarda total kolesterol, total lipid ve LDL düzeyleri kontrol grubuna göre artmış iken, ısırgan kullanılan ısırgan+alkol grubunda ise bu değerler alkol grubuna göre oldukça azalmıştı. Ayrıca HDL seviyeleri açısından durum değerlendirildiğinde, alkol kullanılan gruplarda HDL düzeyleri kontrol grubuna göre azalmış iken, alkol+ısırgan ekstraktı kullanılan grupta ise alkol grubuna göre bu değerlerin oldukça artması, ısırgan otu tohumu ekstraktının iyi kolesterol olarak adlandırılan HDL üzerine pozitif etkili olduğunu göstermiştir. Ek olarak bu sonuçlar, Fattahi ve ark (2016)'nın yaptığı çalışmalar ile uygunluk göstermektedir.

Sonuç olarak histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular doğrultusunda; ısırgan otu ekstraktında bulunan ve daha önceki çalışmalarda kaydedilen birçok terapötik özelliklerinin etkisiyle, karaciğerdeki dejeneratif-nekrotik değişikliklerin ve fibrozisin önemli düzeylerde geri dönüşümünün mümkün olduğu ve karaciğer yağlanması üzerine baskılayıcı etki ortaya koyduğu anlaşılmıştır. Çalışmanın sonuçları, ileri derecede alkolik hepatik fibrozisli ya da alkolik sirotik olgularda, ısırgan otu tohumu ekstraktının tedavi edici potansiyelinin olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aauz J, Rivera-Espinoza Y, Shibayama M, Favari L, Flores-Beltrán RE, Muriel P. Nicotinic acid prevents experimental liver fibrosis by attenuating the prooxidant process. *Int Immunopharmacol.* 2015; 28: 244-51.
- Abdelghany AH, BaSalamah MA, Idris S, Ahmad J, Refaat B. The fibrolytic potentials of vitamin D and thymoquinone remedial therapies: insights from liver fibrosis established by CCl₄ in rats. *J Transl Med.* 2016; 29(14): 281.
- Ahangarpour A, Mohammadian M, Dianat M. Antidiabetic effect of hydroalcoholic *Urtica dioica* leaf extract in male rats with fructose-induced insulin resistance. *Iran J Med Sci.* 2012; 37(3): 181-86.
- Aithal AP, Bairy LK, Seetharam RN, Kumar N. Haemostatic potential of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in Wistar rats with carbon tetrachloride induced liver cirrhosis. *Stem Cell Investig.* 2018;5: 21.
- Akbay P, Başaran AA, Undeger U, Başaran N. Invitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica*. *L. Phytother Res.* 2003; 17: 34-7.
- Ayatollahi M, Hesami Z, Jamshidzadeh A, Gramizadeh B. Antioxidant Effects of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell against Carbon Tetrachloride-Induced Oxidative Damage in Rat Livers. *Int J Organ Transplant Med.* 2014; 5(4): 166-73.
- Bai T, Lian LH, Wu YL, Wan Y, Nan JX. Thymoquinone attenuates liver fibrosis via PI3K and TLR4 signaling pathways in activated hepatic stellate cells. *Int Immunopharmacol.* 2013; 15(2): 275-81.
- Bnouham M, Merhfour FM, Ziyat A, Mekhfi H, Aziz M, Legssyer A ve ark. Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica Dioica*. *Fitoterapia.* 2003; 74: 677 – 81.
- Casini A, Ceni E, Salzano R, Biondi P, Parola M, Galli A, Foschi M, et al ve ark. Neutrophil-derived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells role of nitric oxide. *Hepatology.* 1997; 25: 361-67.
- Chrubasik JE, Roufogalis BD, Wagner H, Chrubasik S. A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. Part II: *Urticae radix*. *Phytomedicine.* 2007;14: 568–79.
- Davis P. *Flora of Turkey and the east aegean islands.* Edinburgh Univ. Press.1982; Pp: 633-35.
- Emam MA, Farouk SM, Abdo M. The ameliorative potential of probiotics and/or Silymarin on thioacetamide induced hepatotoxicity in rats: Histological and immunohistochemical study. *Int. J. Morphol.* 2018;36(2): 661-69.
- Farzami B, Ahmadvand D, Vardasbi S, Majin FJ, Khaghani SH. Induction of insulin secretion by a component of *Urtica dioica* leave extract in perfused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2003; 89: 47- 53.
- Fijalek Z, Soltyk K, Lozak A, Kominek, Ostapczuk P. Determination of some micro- and macroelements in preparations made from peppermint and nettle leaves. *Pharmazie.* 2003; 58: 480–82.
- Gülçin I, Küfrevioğlu OI, Oktay M, Büyükokuroğlu, M.E. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L). *J Ethnopharmacol.* 2004; 90: 205-15.

- Hasan IH, El-Desouky MA, Hozayen WG, Abd el Aziz GM. Protective Effect of Zingiber Officinale against CCl₄-Induced Liver Fibrosis Is Mediated through Downregulating the TGF- β 1/Smad3 and NF- κ B/I κ B Pathways. *Pharmacology*. 2016; 97(1-2): 1-9.
- Hirano T, Homma M, Oka K. Effects of stinging nettle root extracts and their steroidal components on the Na⁺, K⁺-ATPase of the benign prostatic hyperplasia. *Planta Med*. 1994; 60: 30-33.
- Hoşbaş S. *Urtica dioica* L. bitkisi üzerinde farmakognozik araştırmalar [Doktora Tezi]. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2008.
- Khorshid HR, Azonov JA, Novitsky YA, Farzamfar B, Shahhosseiny MH. Hepatoprotective effects of setarud against carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Indian J Gastroenterol*. 2008; 27(3): 110-12.
- Kumar KA, Sundareswaran K, Venkateswaran PR. Performance study on a grid connected 20 kWp solar photovoltaic installation in an industry in Tiruchirappalli (India). *Energy for Sustainable Development*. 2014; 23: 294-304.
- Legssyer A, Ziyat A, Mekhfi H, Bnouham M, Tahri A, Serhrouchni M, Hoerter J, Fischmeister R ve ark. Cardiovascular Effects of *Urtica dioica* L. in isolated rat heart and aorta. *Phytother Res*. 2002; 16: 503-57.
- Li CJ, Yang ZH, Shi XL, Liu DL. Effects of aspirin and enoxaparin in a rat model of liver fibrosis. *World J Gastroenterol*. 2017; (21-23): 6412-19.
- Lichius JJ, Muth C. The Inhibiting effects of *Urtica dioica* root extracts on experimentally induced prostatic hyperplasia in the mouse. *Planta Med*. 1997; 63: 307-10.
- Mahjoub S, Davari S, Moazezi Z, Qujeq D. Hypolipidemic effects of ethanolic and aqueous extracts of *Urtica dioica* in rats. *World Appl Sci J*. 2012; 17(10): 1345-48.
- Oto G. Isırgan otu (*Urtica dioica* L.)'nun dimetilbenzantrazen (dmba) uygulanan tavşanlarda biyokimyasal, hematolojik parametreler ve bazı tümör markırları üzerine etkisi [Doktora tezi]. Van: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi; 2007.
- Sadegh Fattahi, Monireh Golpour, Haleh Akhavan-Niaki. *Urtica Dioica*, An Emerald in the Medical Kingdom. *Int. Biol. Biomed. J*. Winter 2016; 1(2): 1-10.
- Salama SM, Suzy M, Abdulla, MA, Mahmood A, AlRashdi AS, Ahmed S, Hadi, AHA. Mechanism of Hepatoprotective Effect of *Boesenbergia rotunda* in Thioacetamide-Induced Liver Damage in Rats. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*. DOI: 10.1155/2013/157456.
- Shah B, Shah G. Antifibrotic effect of heparin on liver fibrosis model in rats. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2012; 3(6): 86-92.
- Shaker ME, Salem HA, Shiha GE, Ibrahim TM. Nilotinib counteracts thioacetamide-induced hepatic oxidative stress and attenuates liver fibrosis progression. *Fundam Clin Pharmacol*. 2011; 25(2): 248-57.
- Shaker ME, Shiha GE, Ibrahim TM. Comparison of early treatment with low doses of nilotinib, imatinib and a clinically relevant dose of silymarin in thioacetamide-induced liver fibrosis. *Eur J Pharmacol*. 2011; 30(2-3): 593-00.
- Sherlock S. Alcohol and the liver. In: Sherlock S, Dooley J, eds. *Diseases of the liver and biliary system*. 10th ed. London: Blackwell Science, 1997; 385-403
- Shiga A, Shiota K, Nomura Y. Immunohistochemical and ultrastructural studies on the sinusoidal lining cells of canine hepatocellular carcinoma. *J Vet Med Sci*. 1996; 58: 509-914.

Tanakol R. Antioksidan vitaminler, hastalıkta ve sağlıkta önemleri. Klinik Gelişim. 1998; 11: 347–56.

Türkdoğan MK, Ağaoğlu Z, Yener Z, Sekeroğlu R, Akkan HA, Avcı ME. The role of antioxidant vitamins (C and E), selenium and *Nigella sativa* in the prevention of liver fibrosis and cirrhosis in rabbits: new hopes. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 2001; 108(2): 71-3.

Türkdoğan MK, Özbek H, Yener Z, Tuncer İ, Uygan İ, Ceylan E. The role of *Urtica dioica* and *nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. Phytotherapy Research. 2003; 17: 942-6.

Wetherilt H. Isırganotu Yaprak ve Tohumlarının Besleyici Özellikleri ve Antitümörel Etkileri [Doktora tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 1989.

Yener Z, Celik I, Ilhan F, Bal R. Effects of *Urtica dioica* L seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxine-induced tissue injury in rat. Food and Chemical Toxicology. 2009; 47: 418-24.

Yener Z, Uyar A, Yaman T, Keleş ÖF. Veteriner Özel Patoloji, Matus matbaası, Ankara, 2016.


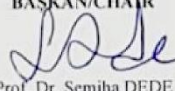
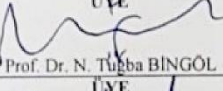
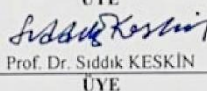
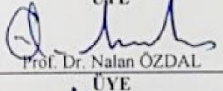
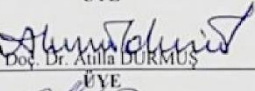
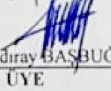

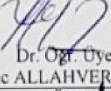

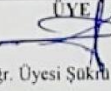

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Ağrı'da doğdu. İlk ve lise öğrenimini Ağrı'da tamamladı. 2009 yılında kazandığı Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2014 yılında mezun oldu. Bir yıl serbest klinik çalıştırdıktan sonra 2015 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. Devam eden yüksek lisans ile beraber 2016 yılında Van Gölü Et Mezbahanesinde sorumlu Veteriner hekim olarak çalışmaya başladı ve halen görevine devam etmektedir.




EKLER

5.4.1. EK 1. Etik Kurul Raporu

 <p style="text-align: center;">T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ</p> <p style="text-align: center;"><i>VAN YUZUNCUYILUNIVERSITY (TURKEY) ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE</i></p>		
Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Ratlarda Etanol İle Oluşturulmuş Karaciğer Fibrozisinde Isırgan Otu Tohumunun (Urtica Dioica Seed) Tedavi Edici Etkisinin Histopatolojik Ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması <i>Histopathological and Immunohistochemical Investigation of the Therapeutic Effect of Nettle Seed (Urtica Dioica Seed) in Ethanol-Induced Liver Fibrosis in Rats.</i>	
Araştırmacı(lar) <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü / <i>Chief investigator</i> : Prof. Dr. Zabit YENER Yardımcı Araştırmacı(lar) / <i>Co-investigator(s)</i> : Vet. Hek. Mahmut YARDIMCI	
Araştırmanın Başlama Tarihi / <i>Research Starting Date</i> : 01.06.2018		
Araştırmanın Bitiş Tarihi / <i>Research Completion Date</i> : 02.01.2019		
Proje Süresi / <i>Total Time of Project</i> : 15 ay		
Proje No / <i>Project Number</i> : TYL-2018-7586		
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / <i>Funding institution(s) (if available)</i> : YYÜ BAP Birimi		
Destek Şekli ve Miktarı / <i>Type and amount of funding</i> : 7995,98 TL		
Karar: Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu'nun 07/03/2019 tarih ve 2019/02 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. Decision: Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 07/03/2019 (decision number 2019/02.).		
	BAŞKAN/CHAIR  Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE  Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	ÜYE  Prof. Dr. Sıddık KESKİN	ÜYE Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE  Prof. Dr. Nalan ÖZDAL	ÜYE  Doç. Dr. Atilla DÜRMÜŞ	ÜYE  Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN
ÜYE  Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	ÜYE  Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEY	ÜYE  Dr. Öğr. Üyesi Canser Yılmaz DEMİR
ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Hacer ŞAHİN AYDINYURT	ÜYE  Dr. Öğr. Üyesi Şakrı ÖNALAN	ÜYE  Vet. Hek. Kerem OĞRAK
ÜYE Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	ÜYE Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	

5.4.2. Ek 2. Orijinallik Raporu

	T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLIK RAPORU		

Tarih: 04/02/2019

Tez Başlığı / Konusu: Ratlarda Etanol ile Oluşturulmuş Karaciğer Fibrozisinde İsrırgan Otu Tohumunun (*Urtica Dinnica* Seed) Tedavi Edici Etkisinin Histopatolojik Ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması


Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 39 (otuz dokuz) sayfalık kısmına ilişkin, 19/02/2019 tarihinde şahsim/tez danışmanım tarafından turmitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %8 (yüzde sekiz) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Şimge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Mahmut YARDIMCI


Öğrencinin Adı Soyadı	Mahmut YARDIMCI
Anabilim Dalı	: Veteriner Patoloji
Öğrenci No	159301015
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Pro. Dr. Z. H. YENER	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR Dr. Öğr. Üyesi Hacer AHMED AYDINYURT

