

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

**TARHUN BİTKİSİNİN (*Artemisia drancunculus L.*)
WİSTAR ALBİNO RATLARDA OLUŞTURULMUŞ
AKUT KARACİĞER TOKSİK HASARINA KARŞI
KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**YAĞMUR GÜLPINAR
EYLÜL 2012**

**Tarhun Bitkisinin (*Artemisia drancunculus L.*)
Wistar Albino Ratlarda Oluşturulmuş Akut
Karaciğer Toksik Hasarına Karşı Koruyucu ve
Tedavi Edici Etkisinin Araştırılması**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN**

**Yağmur GÜLPINAR
EYLÜL 2012**

©2012[YAĞMUR GÜLPINAR]


T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tezin Adı: Tarhun Bitkisinin (*Artemisia drancunculus*) Wistar Albino Ratlarda Ulaştırılmış Akut Karaciğer Toksik Hasarına Karşı Koruyucu ve Tedavi Edici Etkisinin Araştırılması

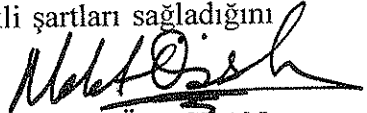
Öğrencinin, Adı Soyadı: Yağmur GÜLPINAR

Tez Savunma Tarihi: 14.09.2012


Fen Bilimleri Enstitüsü onayı


Prof. Dr. Ramazan KOÇ
FBE Müdürü

Bu tezin yüksek lisans/~~doktora~~ tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.


Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımca (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/~~Doktora~~ tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/~~Doktora~~ tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

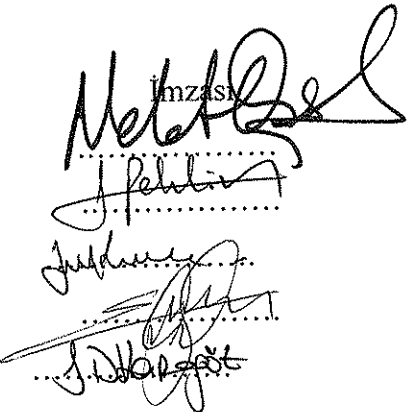
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Doç. Dr. Sacide PEHLİVAN

Yrd. Doç. Dr. İ. Halil KILIÇ

Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

Yrd. Doç. Dr. I. Didem KARAGÖZ


İmzası
.....
.....
.....
.....
.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Yağmur GÜLPINAR

İmza

ÖZ

TARHUN BİTKİSİNİN (*Artemissia drancunculus L.*) WİSTAR ALBİNO RATLARDA OLUŞTURULMUŞ AKUT KARACİĞER TOKSİK HASARINA KARŞI KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

YAĞMUR GÜLPINAR

Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Eylül 2012, Sayfa: 48

Bu araştırmada, karbon tetraklorürle (CCl₄) oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerinde Tarhun (*Artemissia drancunculus*) bitkisinden elde edilen ekstrenin etkinliğinin değerlendirilmesi planlanmıştır. Bu çalışma tarhun bitkisinin karaciğeri koruyucu etkisinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. 60 adet *Wistar albino* rat üç kontrol, üç deneme grubu olmak üzere rastgele 6 gruba ayrılmıştır (n=10). Ratlara 6 haftalık deneme boyunca gün aşırı etanolik tarhun ekstresi gavaj (p.o.) yoluyla verilmiş ve 0.2 ml/kg CCl₄ (Merck^R, Germany) zeytinyağıyla (1:5 oranında) karıştırılarak intraperitoneal (i.p.) yolla enjekte edilmiştir. Kontrol I'e bazal diyet ve serum fizyolojik, kontrol II'ye CCl₄:zeytinyağı (1:5, 0.2 ml/kg), kontrol III'e 500 mg/kg etanolik tarhun ekstresi ve serum fizyolojik uygulanmıştır. Deneme gruplarına ise CCl₄:zeytinyağı (1:5, 0.2 ml/kg) ve sırasıyla 250-500-750 mg/kg etanolik tarhun ekstresi uygulanmıştır. Deneme sonunda hafif eter anestezisi altında tüm hayvanlardan kardiyak kan alınarak AST, ALT, MDA, direk bilirubin, TAS ve TOS parametreleri değerlendirilmiştir. Ardından tüm hayvanlar sakrifiye edilmiş ve çıkarılan karaciğer dokusu histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Kontrol I grubu ratlara ait preparatlarda, normal karaciğer yapısı korunurken, kontrol II grubunda yaygın bir siroz oluşumu gözlenmiştir. Etanolik tarhun ekstresi uygulanan tüm gruplarda biyokimyasal ve histopatolojik olarak olumlu etkiler saptanmış olup *A. drancunculus* bitkisinin doza bağımlı olarak karaciğeri güçlendirici ve koruyucu aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer hasarı, CCl₄, *Artemissia drancunculus*, siroz.

ABSTRACT

RESEARCH ON THE PROTECTIVE AND THERAPEUTIC EFFECTS OF TARRAGON PLANT (*Artemissia drancunculus L.*) AGAINST INDUCED ACUTE LIVER TOXICITY DAMAGE OF WISTAR ALBINO RATS

GULPİNAR, Yagmur

M.Sc. in Biology

Gaziantep University

Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

September 2012, Pages: 48

In this study, it is planned to evaluate the efficacy of the extract obtained from Tarragon (*Artemissia drancunculus*) plant on acute liver injury induced with carbon tetrachloride (CCl₄). This study was first to evaluated the effect of tarrago against to liver toxicity. 60 *Wistar albino* rats divided into 6 groups randomly as three control, and three experimental groups (n=10). Every other day during a 6 week trial ethanolic extract of tarragon was given to the rats by gavage (p.o.) and 0.2 ml/kg CCl₄ (Merck^R, Germany) mixed with olive oil (1:5 ratio) was injected to rats intraperitoneally (i.p.). Basal diet and normal saline to the 1st control group, CCl₄:olive (1:5, 0.2 ml/kg) oil to the 2nd control group, and 500 mg/kg ethanolic extract of tarragon and normal saline was applied to the 3rd group. In experimental groups, CCl₄:olive (1:5, 0.2 ml/kg) and respectively 250-500-750 mg/kg of ethanolic extract of tarragon was administered. At the end of experiment cardiac blood was taken from all animals under light ether anesthesia and AST, ALT, MDA, direct bilirubin, TAS and TOS parameters were evaluated. Then, all the animals were sacrificed and removed liver tissue was subjected to histopathological evaluation. At the preparations of the 1st control group rats, while maintaining normal liver structure, only in the group that CCl₄ treated the formation of a common cirrhosis was observed. In all groups that ethanolic extract of tarragon was applied biochemically and histopathologically positive effects were detected and it was determined that *A. drancunculus* has protective and stronger effect in dose dependent manner.

Key Words: Liver injury, CCl₄, *Artemissia drancunculus*, cirrhosis.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca maddi manevi desteğiyle her zaman yanımda olan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bana büyük emek veren ve beni yetiştiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a

Tezimin hazırlanmasında yardımcı olan, beni yönlendiren; değerli bilgi, beceri ve tecrübelerini aktaran, sabır ve anlayışını esirgemeyen sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ'e

İlgisini ve desteğini her zaman gördüğüm değerli hocam Yrd. Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ' a

Patoloji değerlendirmelerimde yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Metin KARAKÖK' e

Karaciğer hasarı modellemesinde bilgi ve deneyimlerini aktaran İstanbul Medipol Üniversitesi'nden değerli hocam Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK' e

Deney çalışmaları boyunca bana yardımcı olan sevgili yüksek lisans arkadaşlarım Yük.Biyolog İzzettin GÜLER ve Biyolog Ahmet ÇAKMAK' a

Yine laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan sevgili lisans arkadaşlarım Mustafa DOĞAN, Ercan AYATA ve Mustafa SEVİNDİK' e

Maddi manevi destekleriyle tüm yaşamım ve eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve beni destekleyen başta anne ve babam olma üzere biricik aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Karaciğer.....	4
2.1.1. Karaciğer Morfolojisi.....	4
2.1.2. Karaciğerin Fonksiyonları.....	7
2.1.3. Karaciğer Hasarı.....	9
2.1.4. Karaciğerin Hasara Karşı Yanıtı.....	10
2.1.4.1. İnflamasyon.....	11
2.1.4.2. Dejenerasyon.....	11
2.1.4.3. Nekroz.....	12
2.1.4.4. Fibrozis.....	12
2.1.4.5. Siroz.....	12
2.1.5. Karaciğer Hücre Harabiyetini Belirleyen Testler.....	13
2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	14
2.2.1. Serbest Radikal Kaynakları.....	16
2.2.2. Serbest Radikal Hasarı.....	17
2.3. Antioksidanlar.....	19
2.4. Karbon Tetraklorür (CCl ₄).....	20
2.5. Tarhun (<i>Artemisia drancunculus</i>).....	22
2.5.1. Botanik Bilgi.....	22
2.5.2. Yetiştirildiği Yerler.....	23
2.5.3. Toplanması – Saklanması.....	23
2.5.4. Bilinen Bileşimi.....	23
2.5.5. Aktivitesi.....	24
2.5.6. Toksisitesi.....	24
3. MATERYAL METOD.....	25
3.1. Deney Hayvanları.....	25
3.2. Ekstraktların Hazırlanması.....	25
3.3. Deney Prosedürü.....	25
3.4. Vücut Ağırlık Takibi.....	26

3.5. Biyokimyasal İncelemeler.....	26
3.6. Histopatolojik İncelemeler.....	27
3.7. İstatistiksel Analiz.....	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. Vücut Ağırlık Değişimi.....	28
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	28
4.3. Histopatolojik Değerlendirmeler.....	31
5. TARTIŞMA SONUÇ.....	39
6. KAYNAKÇA.....	42

GRAFİKLER LİSTESİ

	SAYFA
Grafik 1: Ortalama vücut ağırlıklarının değişimi.....	28
Grafik 2: Serum AST ortalama değerleri.....	29
Grafik 3: Serum ALT ortalama değerleri.....	29
Grafik 4: Serum Direkt Bilirubin ortalama değerleri.....	29
Grafik 5: Serum MDA ortalama değerleri.....	30
Grafik 6: TAS ortalama değerleri.....	30
Grafik 7: TOS ortalama değerleri.....	31

RESİMLER LİSTESİ

SAYFA

Resim 1: Kontrol I- Karaciğer dokusundan hazırlanan kesitlerde portal alan ve merkezi venleri içeren normal karaciğer histolojisi (H-E,100x).....	32
Resim 2: Kontrol I- Karaciğer dokusu (Retikülin,100x).....	32
Resim 3: Kontrol II- CCl ₄ uygulama sonrası hidropik dejenerasyon ve steatozis (H-E,100x).....	33
Resim 4: Kontrol II- CCl ₄ verilen sıçanlarda karaciğer dokusundan alınan kesitlerde portal alanlar arası ve portal alan ile merkezi venler arasında ince ve kalın demetler oluşturulmuş fibröz doku oluşumu (Retikülin,100x).....	33
Resim 5: Kontrol III- Sağlıklı sıçanlarda karaciğer dokusu (H-E,100x).....	34
Resim 6: Kontrol III- Sağlıklı sıçanlarda karaciğer dokusu(Retikülin,100x)..	34
Resim 7: Deneme I' e ait karaciğer dokusu (H-E,100x)	35
Resim 8: Deneme I' e ait karaciğer dokusu (Retikülin,100x).....	35
Resim 9: Deneme II'ye ait karaciğer dokusu (H.E, 100x).....	36
Resim 10: Deneme II'ye ait karaciğer dokusu (Retikülin,100x).....	36
Resim 11: Deneme III-CCl ₄ uygulanmış gruba göre karaciğerde daha az oranda hidropik dejenerasyona ve yağlanmaya (H-E,100x).....	37
Resim 12: Deneme III- Az oranda fibrozis oluşumu (Retikülin,100x).....	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 1: Tarhun (<i>Artemisia drancunculus</i>) bitkisi.....	23

SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ

CCl ₄	Karbon tetraklorür
KC	Karaciğer
i.p.	Intra peritoneal
AST	Aspartat aminotransferaz
ALT	Alanin aminotransferaz
GGT	Gama glutamin transferaz
MDA	Malondialdehit
TAS	Total antioksidan kapasite
TOS	Total oksidan kapasite

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Serbest radikaller paylaşılmamış elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir. Bu moleküller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de ilaçların ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir (Akkuş, 1995; Meram ve Aktaran, 2002).

Serbest radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma etkilenmez. Fakat radikal oluşum hızı savunma sistemlerinin hızını aşarsa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve organizmada oksidatif bir stres meydana getirir (Kavas, 1989).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşur. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksifikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler bulunması nedeniyle serbest radikaller toksikolojik açıdan da önemlidir (Sinclair ve ark., 1990).

Eksojen yollarla vücuda alınan toksik maddelerin organizmada metabolize edilememesi sonucu hücrelerde açığa çıkan serbest radikaller karaciğer hasarına sebep olur. Karbon tetraklorür (CCl_4) yada diğer halojenli hidrokarbonlardan köken alan bu radikal metabolitlerin bazıları karaciğer üzerinde etkin bir rol oynar (Gross ve ark., 1987; Lieber, 1994; MacDonald-Wicks ve Garg, 2003).

Oksidatif stres oluşumunda rol alan ve birçok araştırmacı tarafından karaciğer hasarı oluşturduğu tespit edilen en önemli kimyasallardan biri CCl_4 'dir (Lu ve ark., 2002). Deneysel çalışmalarda pek çok etkenle karaciğer hasarı oluşturulabilmesine rağmen insandaki siroz gelişim sürecine benzerlik gösterdiği için, en çok tercih edilen ve

kullanılan maddedir (Moghaddam ve ark., 1998; Akiyoshi ve Terada, 1998; Onori ve ark., 2000; Nanni ve ark., 2000; Sun ve ark., 2001; Geier ve ark., 2002; Lee ve ark., 2003; Guisepe, 2004).

Karaciğer; anatomik lokalizasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal rolü nedeniyle toksik madde ve ilaçlara sıkça maruz kalan bir organdır. Karaciğerde meydana gelen hasarın değişik şekillerinin; oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluştuğu bilinmektedir (Sherlock, 1986; Foulisve ark., 1988).

Karaciğerde siroza; toksik maddeler (karbon tetraklorür, alkol, fosfor, kloroform, manganez, arsenik, kömür katranı v.s.) enfeksiyonlar ve parazit larvaları, karaciğerde alyuvar yıkımı sonucunda aşırı düzeyde hemosiderin birikimi gibi faktörler neden olmaktadır (Masaiki ve ark., 1998).

CCl₄' e bağlı karaciğer hasarında meydana gelen lipid peroksidasyonu oldukça önemlidir (Nadkarni ve Souza,1988). CCl₄, akut veya gecikmiş tipte karaciğer toksifikasyonlarına sebebiyet vermektedir (Maccay ve ark., 1984). Hasara bağlı olarak ilerleyen süreç sonunda karaciğer fibrozisi ve siroz oluşumu görülmektedir.

Karaciğer fibrozisi; ekstrasellüler matriks komponentlerinin artması ile karakterizedir. Ekstrasellüler matriksin yapımı ve yıkımı arasındaki denge; oluşan toksik oksijen radikallerine bağlı olarak, potent profibrojenik mediatörlerin de aktive olması ile sürekli matriks yapımı yönünde bozulmaktadır (Liebert ve ark., 2005). Yapılmış olan birçok çalışmada karaciğer hastalıklarında; oksidatif stres ve buna bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer hasarı ile fibrozis arasında ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Shimizu, 2003).

Karaciğer, vücuttaki stratejik konumundan dolayı; vücudun maruz kaldığı çeşitli ksenobiyotiklerin, çevre kirliliği etkenlerinin ve kemoterapötik ajanların metabolizmasının, salgılama ve atılım işlemlerinin gerçekleştirilmesi için bir anahtar organdır. Karaciğer hastalıkları bütün dünyayı ilgilendiren bir sorun olarak varlığını sürdürmektedir. Karaciğerle ilgili hastalıklarda kullanılan klasik ilaçlar bazen yetersiz kalabilmekte ve ciddi yan tesirlere neden olabilmektedir. Bu yüzden karaciğer hastalıklarının tedavisi için alternatif ilaçların araştırılması ve bugün

kullanılan etkinliği ve güvenirliği Őüpheli ilaçların yerine konulması gereklidir (De-Oliveira ve ark., 1997).

Serbest radikallerin zararlı etkileri, bazı maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Antioksidanların, serbest radikallerin vücutta oluşturdukları hasarın en aza indirilmesinde büyük rolü olduğu bilinmektedir (Akkuş, 1995; Meram ve Aktaran, 2002). Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe eder (Thomas, 1995; Bekerecioglu ve ark., 1998).

Bütün zararlı biyolojik ve kimyasal maddelerin detoksifikasyonu, vücudumuzun kurtarıcı organlarından karaciğerle birlikte bazı bitkisel ve sentetik (farmakolojik olarak hazırlanan ilaçlar) maddeler tarafından azaltılarak ya da tümüyle yok edilebilmektedir. Bu kurtarıcılardan biri olan bitkisel maddeler, antioksidan olarak karaciğere yardımcı olmak suretiyle zararlı etkilerden büyük ölçüde kurtulmaktadır.

Bitkisel kaynaklı bu maddeler günümüzde birçok alanda kullanılmaktadır. Bitkisel maddeler ve diğer maddelere genelde antioksidan maddeler denmektedir. Antioksidan maddeler, oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltmaları veya tümüyle yok etmelerinden dolayı tıp alanlarında farklı isimlerle lanse edilmeye baŐlanmış olup zaman içinde son halini almıŐtır. Bitkisel ilaç kullanılarak yapılan tedaviye “Bitkilerle Tedavi” (fitoterapi) kelimesinin yanında fitofarmakoterapi adı da verilmektedir (Grn, 2004).

Bu araŐtırmamızda, karbon tetraklorürle (CCl₄) oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerinde güçlendirici tonik etkisi olduğu bilinen Tarhun bitkisinden (*Artemisia drancunculus*) elde edilen etanolik ekstrenin karaciğeri koruyucu ve tedavi edici etkisinin var olup olmadığı araŐtırılmıŐtır.

BÖLÜM 2

KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. KARACİĞER

2.1.1. KARACİĞERİN MORFOLOJİSİ VE HİSTOLOJİSİ

Karaciğer sindirim kanalından emilen besinlerin işlenip gerektiğinde kullanılmak üzere depo edildiği vücudun en büyük bezidir. Kanlanması zengin bir organ olduğu için makroskopik görüntüsü kırmızı-kahverengidir. Karaciğer yaklaşık olarak 1500 gr ağırlığındadır ve bu yüzden vücudun deriden sonraki en büyük organıdır. Karın boşluğunun sağ üst kadranda, diyaframın hemen altına yerleşmiştir (Kierszenbaum, 2002).

Karaciğer; hepatik arter ve portal venin sağ ve sol kolları tarafından beslenmektedir. Karaciğere gelen kanın %70-80'i portal venden, %20-30'u hepatik arterden gelir. Tüm ince barsaklar boyunca emilen maddelerin çoğu portal ven yoluyla karaciğere ulaşır. Yalnızca kompleks lipitler (şilomikronlar) lenf damarlarıyla taşınır (Junqueira ve ark., 1998; Kierszenbaum, 2002). Hepatik arter karaciğere genel dolaşımdan bol oksijenli kanı taşırken; portal ven sindirim sisteminin kapiller yatağından besin maddelerince zengin kanı taşır (Aslan, 2005).

Karaciğerde biri fonksiyonel, diğeri arteryel olarak nitelendirilen ikili bir dolaşım söz konusudur. Fonksiyonel olan dolaşım vena porta ile başlar ve kanın % 70-80'ı bu yolla gelir. Vena porta abdominal organlardan gelen oksijenden fakir, besinden zengin kanı taşır. Arteryel dolaşım ise hepatik arterle başlar ve kanın geri kalan kısmı bu yolla gelir. Hepatik arter ise oksijenden zengin kanı karaciğere getirir (Kayalı, 1992; Junqueira ve ark., 1998; Erbenği, 2002). Her iki damar sistemi karaciğer sinüzoidlerinde birleşerek hepatik ven yolu ile vena cava infeior' a dökülürler (Erbenği, 2002).

Lenf damarlarıyla taşınan kompleks lipitler (şilomikronlar) dışında ince bağırsaklardan emilen maddelerin büyük bir kısmı portal ven yoluyla karaciğere gelir (Junqueira ve ark., 1998).

Karaciğer hilumda kalınlaşan, kollojen ve elastik liflerden zengin fibröz bir doku olan Glisson kapsülü ile örtülüdür (Kierszenbaum, 2002). Glisson kapsülü; damar ve sinir kollarıyla karaciğer parankimi için destekleyici bir yapı sağlamakta ve parankimi ikiye ayırmaktadır (Aslan, 2005). Hilum bölgesinde bu kapsül organın içerisine girerek gittikçe incelen trabekülalar oluşturmaktadır. Bu şekilde karaciğer fizyolojik ve morfolojik olarak birbirine eş değerde çok sayıda küçük bölgelere ayrılmış olur ki, bu bölgelere “Karaciğer Lobülleri” adı verilir. Bu nedenle karaciğer, lobüler bir bez karakteri göstermektedir (Kayalı, 1992; Junqueira ve ark., 1998; Erbeni, 2002; Tekelioğlu, 2002).

Karaciğer lobusları piramid biçiminde olup, longitudinal yönde alınan histolojik kesitlerde poligonal olarak gözlemlenirler. Deve ve domuz gibi bazı hayvan türlerinde karaciğer lobülleri arasındaki bağ dokusu fazlaca gelişerek, lobülü tümüyle sarar. Bu tür hayvanlarda karaciğer lobüllerinin sınırı kesin olarak belli olur. İnsan ve sıçan gibi diğer tür memelilerde ise bağ dokusu sadece lobüllerin köşe kısımlarında bulunduğundan ve lobüllerin yüzeyleri birbirine değdiğinden, her bir lobüle ilişkin sınırları belirlemek zordur (Kayalı, 1992; Tekelioğlu, 2002; Erbeni, 2002). Portal alan ya da Glisson üçgeni adı verilen bu bölgelerde bir venül (portal venin bir dalı olan v. interlobularis), bir arteriyol (hepatik arterin bir dalı), bir safra kanalı (Ductuli biliferi) ve lenfatik damarlar bulunur (Junqueira ve ark.,1998).

Karaciğerin üst yüzü diyafram ile alt yüzü karın organları ile komşudur. Bu yüzden “H”şeklinde bir yarık görülür, bu yarıklar karaciğeri 4 loba ayırır. Bu loblar, sağ lob(lobus hepatis dexter), sol lob (lobus hepatis sinister), dörtgen lob (lobus quadratus) ve kuyruklu lob (lobus caudatus)’ dur (Solomon, 1992).

İşlevsel birim olarak ele alınan lobül; merkezinde ven yapısı olmak üzere onun etrafında ışınal tarzda dizilmiş karaciğer hücrelerinden oluşur (Kayalı, 1992; Tekelioğlu, 2002). Santral ven lobulün merkezindedir. Parankimal epitel hücrelere ait tek hücre tabakaları santral venden çıkarak yayılırlar. Karaciğer hücreleri

birbirleriyle anastomozlar yaparak ilerleyen epitelyal hücre kordonları oluşturur. Remak plakları adı verilen bu kordonların arasında sinüzoid adı verilen geniş kan damarları bulunur. Sinüzoidler; karaciğer hücre tabakalarının her iki tarafına kan taşıyan vasküler kanallardır. Bunlar santral ven yakınlarında zengin intralobüler, vasküler bir ağ oluştururlar. Sinüzoidleri kaplayan hücreler ya endotel hücrelerdir ya da Kupffer hücreleridir (Aslan, 2005). Kupffer hücreleri endotel hücrelerinin sinüzoid lümenine bakan kısımlarında bulunurlar. Kupffer hücreleri spesifik karaciğer makrofajlarıdır. Yaşlanmış eritrositleri sindirip, hemoglobini metabolize etmek ve immünolojik reaksiyonlarda rol almak, kupffer hücrelerinin görevleri arasındadır (Junqueira ve ark.,1998).

Endotel hücreler ile hepatositler arasındaki doku aralığı ise Disse aralığı olup; besin maddeleri ile kan ve karaciğerden artık ürünlerin transferini sağlayan interstisyel sıvıyı içerir (Aslan, 2005). Hücrelerin Disse aralığına bakan yüzeylerinde çok sayıda mikrovillus gözlemlenir.Yağ depolayıcı hücreler olarak bilinen İto hücreleri (adiposit) Disse aralığına yerleşmiş yıldızlı hücrelerdir. Bu hücreler eksojen yollarla karaciğere gelen A vitaminini lipit damlacıkları içerisinde biriktirme potansiyeline de sahiptirler. Çeşitli şekillerde oluşan karaciğer hasarı sırasında aktive olarak, kollajen lif ve ekstraselüler matriks bileşenlerini sentezlerler (Junqueira ve ark.,1998).

Karaciğer hücrelerine ‘Hepatosit’ adı verilir (Junqueira ve ark.,1998). Hepatositler, altı veya daha fazla yüzeye sahip ve 20-30 mikrometre çapındadır. Hepatositler merkezi yerleşimli, bir ya da iki nükleusu olan polihedral hücrelerdir. Oldukça geniş ve yuvarlak bir nükleusa sahiptirler. Hepatositlerin sitoplazması hematoksilen eozin ile boyanmış kesitlerde, çok sayıda mitokondri ve bir miktar düz endoplazmik retikulumun bulunması nedeniyle eozinofiliktir. Hepatositler karaciğer lobülü içinde bir-iki hücre kalınlığında tabakalar oluşturacak şekilde lobülün periferinden merkezine doğru ışınal olarak dizilmişlerdir (Junqueira ve ark., 1998).

Karaciğer hücrelerinin diğer bir özel yapısı; karaciğer hücreleri arasında yer alan intralobüler safra kanalcıklarıdır. Hücrelerin arasında bağlantı yapılarının ve birbirlerine bakan yüzeylerinde membran girintilerinin oluşturduğu lobül içi safra kanalcıkları sistemi bulunur (Kayalı, 1992). Karaciğer hücrelerince sentezlenen ve

hücreler arası kanalcıklar sistemi ile lobülden dışarı verilen safra; lobül merkezinden lobül çevresine doğru yönelmiştir (Tekelioğlu, 2002; Erbenği, 2002).

Safra kanalikülleri; safra kanal sisteminin ilk kısımlarıdır. Safra kanalikülleri karaciğer lobülünün plakları boyunca anastomoz yapan karmaşık bir ağ oluştururlar ve portal alanlarda sonlanırlar. Bu nedenle safra kanın ters yönünde, yani lobülün merkezinden çevresine doğru ilerleyerek, kubik hücrelerden oluşmuş safra kanalcıkları ya da Herring kanallarına girer (Aytekin ve Solakoğlu, 2006). Her lobulde 12-15 tane Herring kanalı bulunmaktadır. Herring kanalları lobüllerin periferinde yerleşmiş, tek sıra kubik epitelle döşeli 20 µm çapında dar ve kısa kanalcıklardır (Kayalı, 1992). Bu bağlantılar safra salgısının kanalcık dışına sızmasını önleyen sıkı tipte (zonula adherens) bağlantılardır (Tekelioğlu, 2002). Kanalcıklar kısa bir mesafe katettikten sonra portal alanlardaki safra kanallarında sonlanırlar. Safra kanalları; kubik ya da prizmatik epitel ile örtülüdür ve belirgin bir bağ dokusu kılıfına sahiptir. Safra kanalları; sağ ve sol hepatik kanalları oluşturarak karaciğeri terk ederler (Aytekin ve Solakoğlu, 2006).

Lenf sıvısının büyük bir bölümü karaciğerde üretilir ve karaciğer lenfi diğer bölgelerinkinden daha fazla miktarda plazma proteini içerir. Lenfatik damar ağı lobüller arasında başlar, portal hepatise doğru giderek birleşen damarlar biçiminde bir yapı gösterir. Portal alanda diğer yapıların yanı sıra lenf kapilleri izlenir. Hücrelerde üretilen lenf sıvısı çapı ve duvar kalınlığı kalınlaşan lenf damar sistemi ile karaciğer dışına iletilir (Tekelioğlu, 2002).

2.1.2. KARACİĞERİN FONKSİYONLARI

Karaciğer hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyon gösteren vücudun çok yönlü bir organıdır ve yaşam için gerekli birçok farklı fonksiyona sahiptir (Junqueira ve ark., 1998).

Karaciğer, gastrointestinal sistemden emilen besinlerin metabolize edildiği ve depolandığı organdır (Robbins ve ark., 2000).

Karaciğerin en önemli fonksiyonlarından biri safranın üretilmesidir. Safra sıvısı içerisinde; su, elektrolitler, safra asitleri, fosfolipitler, kolesterol ve bilirubin bulunur. Bu maddelerin % 90'ı distal intestinal epitelden emilim yoluyla alınır ve hepatositler aracılığıyla kandan safra kanaliküllerine taşınır (Junqueira ve ark., 1998; Tekelioğlu, 2002). Safranın, safra kanalikleri içine salgılanması karaciğerin ekzokrin fonksiyonudur. Safra asitleri, gastrointestinal kanaldaki lipitlerin absorpsiyonunu kolaylaştırmak için lipitleri emulsiyon haline getirmede önemli bir fonksiyona sahiptir (Robbins ve ark., 2000). Büyük bölümü hemoglobinin parçalanması sonucu meydana gelen bilirubin mononükleer fagosit sistemde oluşur ve hepatositlere taşınır (Junqueira ve ark., 1998). Bilirubin, kırmızı kan hücreleri parçalandığı zaman açığa çıkan pigmenttir, safra ile birlikte atılır.

Karaciğer hücresi, kendisi için ürettiği proteinlere ek olarak albumin, protrombin, fibrinojen, α ve β globulinler ve lipoproteinler gibi plazma proteinlerini de sentezler. Bu proteinlerin sentezi granüllü endoplazmik retikuluma bağlı poliribozomlarda yapılır (Kurikawa ve ark., 2003).

Lipidler ve karbonhidratlar, karaciğerde trigliserit ve glikojen halinde depolanır. Yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, yağ asitlerinden trigliserit oluşumu, fosfolipit sentezi, lipoproteinlerin sentezi, keton cisimlerinin sentezi, kolesterol biyosentezi de karaciğerde gerçekleşir.

Demir ve vitaminler için büyük bir depo görevi görür (Robbins ve ark., 2000). Bunlara ek olarak, karaciğerde glikoz, glikojene çevrilir ve depolanır. Glikoza ihtiyaç olduğu zaman glikojen parçalanır ve kana glikoz salgılanır. Aminoasitler, yağ asidine ve üreye çevrilir. Bakteri ve yıpranmış kırmızı kan hücrelerini fagosite eder (Solomon, 1992). Tiroid, steroid ve diğer hormonların başlıca katabolizma yeridir ve plazma hormon düzeylerinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Aslan, 2005).

Karaciğer, genişleyebilen veya küçülebilen bir yapıya sahiptir. Bu özelliği sayesinde kan damarlarındaki kanı depolayabilir veya salabilir. Karaciğer sağlıklı bir vücutta, toplam kanın %10'unu, yani 450 ml kanı bünyesinde tutar. Vücutta kan ihtiyacı arttığında (örneğin ağır egzersizler sırasında) karaciğer, bünyesinde depoladığı kanı dolaşıma vererek kan ihtiyacını giderir.

Vücuda girmiş birçok ilaçların ve zehirlerin meydana getirdiği toksik etkiyi azaltır ya da ortadan kaldırır. Karaciğer; ilaçlar ve toksinler gibi ekzojen bileşiklerin detoksifikasyonunda primer organdır (Aslan, 2005). Amonyak, üre, ilaçlar, hormonlar ve bunun gibi daha birçok toksik tesir yapan maddeler karaciğer tarafından vücuda faydalı hale getirilir. Bu maddeler hepatositlerin granülsüz endoplazmik retikulumunda oksidasyon, metilasyon ve konjugasyonla metabolize edilebilir. Glukuronil transferaz, glukuronik asidin bilirubine bağlanması haricinde steroidler, barbituratlar ve antikonvülzanlar gibi çeşitli ilaçların konjugasyonuna ve bu yolla atılmasına yardımcı olur (Robbins ve ark., 2000).

Karaciğerin büyük bir fonksiyonel rezervi ve rejenerasyon kapasitesi de vardır ve fulminan hepatik hastalıklar dışında bütün hastalıklarda rejenerasyon gerçekleşebilir (Robbins ve ark., 2000).

2.1.3. KARACİĞER HASARI

Karaciğer; sindirim sistemi ve dolaşım sistemi arasındaki yerleşimi ve ortaya koyduğu fonksiyonlar nedeniyle pek çok etkenle hasara uğrayabillir. Çeşitli mikrobiyolojik, toksik, metabolik, neoplastik hastalıklar ile dolaşım bozukluklarından zarar görebilir. Erken hepatik hasarlar karaciğerin rezervi nedeniyle maskelenebilir, ancak harabiyetin ilerlemesi ciddi hasarlarla sonuçlanabilir (Anthony ve ark., 1978; Gross ve ark., 1987; Lieber, 1994; Robbins ve ark., 2000; Wang ve ark., 2005).

Akut karaciğer yetersizliği, önceden herhangi bir karaciğer rahatsızlığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden ve ciddi bir şekilde bozulmasıyla karakterize, ensefalopatinin eşlik ettiği, potansiyel olarak geri dönüşümlü olabilen, ancak mortalitesi oldukça yüksek olan bir klinik sendromdur.

Karaciğer hastalığı karaciğerde iltihaplanma veya doku hasarına neden olan ve karaciğer fonksiyonlarını etkileyen bir hastalıktır.

Karaciğer parankiminde çeşitli nedenlerle dejenerasyon oluşurken aynı zamanda rejenerasyon da oluşur. Ancak organa gelen hasar sürekli olur ve tekrarlanırsa hücre yenilenmesinden daha fazla oranda bağ dokusu artışı meydana gelir. Bağ dokusundaki bu artış karaciğer yapısındaki bozuklukla sonuçlanır. Karaciğer parankiminin tahrip olması ve bunun yerine yağ dokunun gelişmesi, fonksiyonel karaciğer hücreleri yanında vasküler ve safra kanalları sistemlerini de bozar (Junqueira ve ark., 1998).

Kronik karaciğer hastalıkları, hepatosellüler hasar ile karakterize olup, genellikle karaciğer fibrozu ve karaciğer sirozu ile sonuçlanmaktadır (Armbrust ve ark., 1997). Siroz, karaciğerin anatomik yapısının fibrozis ve nodülleşme sonucu bozulması olarak tanımlanmaktadır. İlerleyici ve kronik bir karaciğer hastalığıdır. Değişik etiyolojik nedenlerle ortaya çıkan hastalığın seyri etiyolojiye bağımlı değildir (Sherlack ve Doaley, 1997).

Karaciğer, çeşitli şekillerde zarar görebilir;

- Hücreler iltihaplanabilir (hepatit gibi: hepar = karaciğer + itis = enflamasyon).
- Safra akışı (chole = safra staz = ayakta gibi kolestaz gibi) kesintiye uğrayabilir.
- Kolesterol ve trigliserit (steat = yağ + osis = birikimi, steatoz gibi) birikebilir.
- Karaciğer kan akışını etkileyebilir.
- Karaciğer dokusu, kimyasal ve mineral hasar ya da anormal hücreler tarafından infiltre olabilir.

2.1.4. KARACİĞERİN HASARA KARŞI YANITI

Karaciğerin hasar verici nitelikteki olaylara karşı, nedene bakılmaksızın, 5 farklı genel cevap şekli vardır;

- İnflamasyon
- Dejenerasyon
- Nekroz
- Fibrozis
- Siroz

2.1.4.1. İnflamasyon

Akut veya kronik olaylarda, inflamatuvar hücrelerin karaciğere gelmesi ile ilişkili hepatosit hasarı ile birlikte olan inflamasyon varlığına hepatit denir. İnflamasyon lökositlerin giriş bölgesinde (portal bölgede) sınırlı olabileceği gibi, tüm parankime de yayılabilir. İnflamasyonu hepatosit nekrozu veya apoptozisi izleyebilir veya inflamasyona sebep olan durumun düzelmesi ile iyileşme de olabilir (Robbins ve ark., 2000).

2.1.4.2. Dejenerasyon

Karaciğerde toksik ya da immünolojik nedenlerle meydana gelen ödem veya yağ ve diğer maddelerin hepatosit sitoplazmalarında birikmesi sonucu oluşan hücresel şişmeye balonlaşma dejenerasyonu adı verilir. Vakuoler değişiklik olarak da adlandırılan bu görünüm, her türlü zedeleyici etkenle oluşabilir. Bakır, demir, safra materyali gibi bazı maddeler hepatosit sitoplazmasında birikebilir. Lipolizin artışı ve karaciğerde serbest yağ asidinin birikimi steatoza (karaciğer yağlanması) neden olur. Alkol kullanımı karaciğer yağlanmasının en önemli sebebidir. Nükleusun yerini değiştirmeyen çok sayıda küçük yağ damlacığının varlığına mikroveziküler steatoz adı verilir. Mikroveziküler steatoz sıklıkla şiddetli karaciğer fonksiyon bozukluklarıyla birlikte ve serbest yağ asidi beta-oksidasyonunun son ortak yollarındaki bozuklukları paylaşan bazı kalıtsal (Reye sendromu) veya kazanılmış hastalıklarda gözlemlenebilir. Makroveziküler steatoz ise karaciğerde artmış yağ asidi yükü, yetersiz oksidasyon ve karaciğerden değişik formdaki yağların azalmış sekresyonu gibi patolojik değişikliklerin olduğu karmaşık olaylar sonucu oluşur (Dixon ve ark., 2002). Belirgin makroveziküler steatoz, nekroinflamasyon ve fibrozis ile sonuçlanan bir dizi olaylara neden olabilir veya bu olaylara eşlik edebilir. Makroveziküler steatoz ise alkolik karaciğer hastalığında, diabette ve obezite varlığında görülür (Elizabeth, 2001).

Karaciğer yağlanmalarının yaklaşık beşte biri iltihap ve/veya fibrozis ile beraberdir. Bu duruma steatohepatit denir. Alkole bağlı olmayan steatohepatit'lerin % 20'si siroza kadar ilerleyebilir. Başka bir hastalığın sonucu oluşmadıkça tek başına kişiye bir zararı yoktur. Çok çabuk düzelebilir. Ancak aynı zamanda başka hastalıklarla

beraber görülebileceğinden, karaciğer yağlanması olan kişilerde bu hastalıklar mutlaka araştırılmalıdır ve sonuca göre tedaviye başlanmalıdır (Kuray, 2006).

2.1.4.3. Nekroz

Karaciğerde hasara yol açan herhangi bir olay hepatosit nekrozuna yol açabilir. Serum alanin aminotransferaz (ALT) hepatosellüler nekrozun ölçümünde kullanılan en özel ve en yaygın testtir. Beslenme durumu iyi ve yeterli intrasellüler (hücre içi) enzim deposuna sahip bir kişide yüzde bir kadar küçük oranda karaciğer hücresi harabiyeti ALT'nin serum seviyesini yükseltir. Serum aspartat aminotransferaz (AST) da benzer şekilde davranır, fakat her çeşit çizgili kas bu enzimi içerdiği için hepatosit nekrozu için daha az özeldir (William ve ark., 1992).

2.1.4.4. Fibrozis

Yara iyileşmesinin doğal bir sonucu olan fibrozis, karaciğerde de inflamasyona ya da doğrudan toksik hasara cevap olarak da oluşabilir. Fibrozis, mikroasiner yapıyı bozacak ve karaciğerin özel kan akımını etkileyecek biçimde olduğunda, ağır bir durumdur. Kollajen birikiminin hepatik kan akımının düzeni ve hepatosit perfüzyonu üzerinde uzun süreli sonuçları vardır. Başlangıç döneminde, fibrozis portal bölgenin içinde, çevresinde ya da santral venler çevresinde gelişebilir ya da sinozoidler içerisinde depolanabilir. Zamanla fibröz bandlar karaciğerin çeşitli bölgelerini birleştirir (portal-portal, portal-santral, santral-santral) ve bu olaya köprüleşme fibrozisi adı verilir. Köprüleşme nekrozunu izleyerek oluşan fibrozis, rejenerasyonla birlikte olduğunda hastalık süreci siroza doğru ilerler. Geri dönüşümü mümkün olan diğer bütün lezyonlardan farklı olarak ilerlemiş karaciğer fibrozisi çoğu olguda geri dönüşüzdür (Robbins ve ark., 2000).

2.1.4.5. Siroz

Karaciğerde, fibrotik süreç ve parankimal hasar nedeni ile rejenerasyon hepatositlerden oluşan ve skar dokusu ile çevrelenmiş nodüller oluşur, bu duruma siroz denir. Bu bir enfeksiyon, zehirlenme veya başka bir hastalık sebebiyle olabilir. Sirozik bir karaciğer kontrakte olup küçülmekte, şekli bozulmakta, soluklaşmakta ve adeta bir skar dokusunu andırır hale gelmektedir (Sherlock ve Dooley, 1997; Robbins ve ark., 2000).

Sirozun patogeneziindeki merkezi olay, programlanmış fibrozistir. Karaciğerin diffüz olarak fibrozis, nodül oluşumu ve rejenerasyon göstermesi ile karakterize geri dönüşümsüz bir lezyondur. Hepatositlerin ölümüne yol açan ve uzun süren süreçler sonunda meydana gelen sirozun oluşma hızı ve seyri, etyolojiye göre değişiklik gösterir.

Karaciğerde siroza; toksik maddeler (karbon tetraklorür, ilaçlar, alkol, fosfor, kloroform, manganez, arsenik, kömürkatranı v.s.), enfeksiyonlar, kronik viral hepatitler, parazit larvaları, alkolik karaciğer hastalığı, safra yolu hastalıkları (intrahepatik ve ekstrahepatik kolestaz), primer hemokromatozis, Wilson hastalığı, Alfa-1 antitripsin eksikliği, idiyopatik (kriptojenik), malnutrisyon ve karaciğerde alyuvar yıkımı sonucunda aşırı düzeyde hemosiderin birikimi gibi faktörler neden olmaktadır (Doi ve ark., 1991; Fischer ve ark., 1991; Güzel, 1996; Masaiki ve ark., 1998).

2.1.5. KARACİĞER HÜCRE HARABİYETİNİ BELİRLEYEN TESTLER

Karaciğer hastalıklarının tanısında kullanılan laboratuvar bulguları genel anlamda “karaciğer hastalığının varlığını araştıran testler” ile “karaciğer hastalığının nedenini araştıran testler” olarak iki grupta incelenir. Birinci grupta yer alan testler yanlış, ancak yerleşmiş bir tanımlamayla karaciğer fonksiyon testleri olarak ifade edilirler. Bu laboratuvar bulgularının bir kısmı karaciğerdeki yapısal değişiklikleri, bir kısmı biliyer sisteme ilişkin patolojileri bazıları ise karaciğerin sentez kapasitesini göstermekte olup bu yönüyle bir karaciğer hastalığının varlığını, niteliğini ve bir ölçüde de ağırlığını yansıtan testlerdir. Karaciğer fonksiyon testleri genel kapsamıyla alkalen fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamiltransferaz (GGT), bilirubin, albumin ve protrombin zamanıyla ifade edilmektedir. Bu testlerden ALT ve AST hepatoselüler hasarı, GGT ve ALP kolestazı göstermekle öncelikli olarak bilirubin her iki nedenle de artabilir. İlk iki enzim hepatositlerde sentezlenirken, son ikisi safra kanalı epitel hücrelerinde sentezlenmektedirler. Albumin düzeyi ve protrombin aktivitesi ise karaciğerin sentez kapasitesini yansıtan testlerdir. Karaciğer hastalıklarının bir çoğunda bu iki grup testin birlikte bozulmuş olduğu görülür (Lott ve Wolf, 1986). ALP, AST,

ALTdeğerleri genellikle artar, ancak ileri derecede nekrozu olan hastalarda enzim düzeyleri normal olabilir. GGT düzeyide hafifçe artabilir(Thomas ve ark., 1989; Balistreri ve Rej., 1996; Sherlock ve Doaley, 1997). Laboratuvar bulguları siroz tanısında önemlidir. Fakat bulguların normal olması hastalığın olmadığı anlamına gelmez.

2.2. SERBEST RADİKALLER VE OKSİDATİF STRES

Serbest radikaller; dış orbitallerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir (Üstündağ ve ark., 2005).

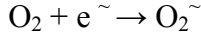
Organizmada hem organik hem de inorganik moleküller olarak bulunurlar (Akkuş, 1995). Elektron ve proton sayıları eşit olmadığından dayanıksızdırlar. Radikaller tek elektronu başka bir moleküle verebilir (redüksiyon) veya bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Bu şekilde, radikal olmayan bir yapının, radikal şekle dönüşmesine neden olan moleküllere serbest radikaller ya da oksidan moleküller denir. Bu moleküller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de ilaçların ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile oluşabilmektedir (Cross ve ark., 1987).

Serbest radikal molekülleri, antioksidan savunma gücü ile dinamik bir denge içinde bulunduğu sürece organizma için yararlıdır ve yaşam için gereklidir. Fagositik hücreler tarafından mikroorganizmaların öldürülmesinin ana mekanizması serbest radikal üretimidir. Serbest radikaller apoptozisin tetikleyicisi, habercisi ve efektörü olarak görev yaparlar. Aşırı hücre proliferasyonunu önleyerek homeostaziste yer alırlar. Serbest radikaller ikinci haberci olup, transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. Hücreler arası haberleşmede görev alırlar. Hücrenin büyümesini sağlayan olayları düzenlerler. Sitozolda ve mitokondride üretilen serbest oksijen radikali, protein sistein kalıntılarının redoksunu düzenleyerek proteinlerin yapı ve işlevinin düzenlenmesinde rol oynarlar (Hatungil, 2002).

Aerobik organizmalarda serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir (Kavas, 1989). Bu radikallerin başlıcaları şunlardır;

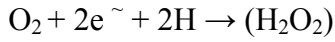
Süperoksit Radikali (O₂^{•-}):

Süperoksit radikalleri hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşurlar. Çok güçlü ve oksidan bir moleküldür. Başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girebilir. Hem indirgeyici hem de oksitleyici özelliğe sahiptir (Meram ve Aktaran, 2002).



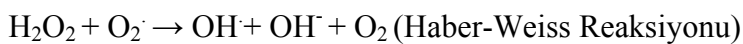
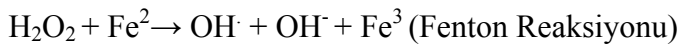
Hidrojen Peroksit Radikali (H₂O₂^{•-}):

Oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron almasıyla ya da süperoksit radikaline 1 elektronun eklenmesiyle peroksit molekülü meydana gelir. Oluşan bu molekül 2 hidrojen atomuyla birleşerek hidrojen peroksiti (H₂O₂) oluşturur (Sodergen, 2000).



Hidroksil Radikali (OH[•]):

Hidrojen peroksit; radikal olmamasına karşın elektron almasıyla son derece toksik olan OH[•]’ı oluşturmaktadır. Suyun hidroliziyle ya da parçalanmasıyla da hidrojen radikalleri ve hidroksil radikalleri oluşturabilir. Aynı zamanda hidrojen peroksit ve demirin birleşmesiyle oluşabilir. Canlı dokuda ortaya çıkan en reaktif ve hasarlayıcı radikal türüdür. Tüm hücrel elemanlarla reaksiyona girerek yeni radikallerin oluşmasına yol açar. Hidroksil radikalleri en reaktif serbest radikallerdir ve vücuttaki serbest radikal hasarının en önemli sorumlularıdır.



Singlet Oksijen (¹O₂):

Paylaşılmamış elektronu olmadığından, radikal olmayıp, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olabilir (Kavas, 1989). Singlet oksijen serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır.

Nitrik Oksit (NO):

Nitrik oksit hücrel patofizyolojide önemli bir rol oynayan çözünebilir, serbest radikal gazıdır. Vazodilatör mesajı endotelyumdan düz kasa taşıyan bir enerji aktarıcısı olarak, sentral ve periferel sinirsel aktarımda ve bağışıklıkta aktif rol alır. Ayrıca bazı memeli hücre tiplerince üretilen NO; damar tonusunun kontrolünde, platelet agregasyonunda, lökosit adezyonunda, hücre aracılı immün sitotoksitesinde, sinaptik geçirgenlikte sinyal molekülü olarak önem taşımaktadır (Mayne, 1992).

Serbest radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren veya azaltan CAT ve GPx gibi bazı endojen antioksidan enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma etkilenmez. Ancak bu denge bozulursa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve oksidatif stres olarak etkilerini gösterirler (Özdemir, 1993).

Serbest radikaller antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulur ve normal şartlar altında organizma kendini antioksidan mekanizmalarla korur. Oksidan-antioksidan dengenin oksidan lehine bozulmasına oksidatif stres denir (Sinclair ve ark., 1990; Sies, 1991).

Miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diabetes mellitus, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oksidatif stresle ilişkisi vardır (Engin ve ark., 2005).

2.2.1. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller; normal metabolik olaylar sırasında meydana gelebildikleri gibi çok çeşitli dış etkenlere bağlı olarak da oluşabilirler (Fang ve ark., 1992).

Serbest radikaller elektriksel olarak (+) yüklü (-) yüklü ve nötr olabilirler. Bir serbest radikal, radikal olmayan bir yapıyla reaksiyona girerse diğer bir serbest radikal oluşur. Serbest radikallerin bu özelliği onların zincir reaksiyonu oluşturmalarına olanak sağlar (Freeman ve Crapo, 1982).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar.

Ekzojen kaynaklar; karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksifikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, doğal zararlı gazlar (ozon, oksijen ve hiperbarik oksijenin yüksek konsantrasyonları), sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, pestisidler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler, patojenik bakteri ve virüslerdir (Akkuş, 1995). Ekzojen kaynaklı serbest radikaller canlıda geri dönüşümü olmayan harabiyetlere (siroz, tümör, kanser v.s.) hatta canlının ölümüne bile sebebiyet vermektedir. Ekzojen kaynaklı etmenler toksikolojik açıdan önemlidir (Sinclair ve ark., 1990).

Endojen kaynaklar ise; mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, araşidonik asit metabolizması, redoks döngüsü, fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar, notrofil, eozinofil) ve endotelyal hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, indolamin dioksijenaz, triptofan dioksijenaz, galaktoz oksidaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, monoamin oksidaz gibi oksidan enzimler ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır. Ateroskleroz, diyabet, kanser, romatoid artirit, Parkinson gibi hastalıklar ve yaşlılık serbest radikal oluşumunu artırır (Kavas, 1989).

2.2.2. Serbest Radikal Hasarı

Günümüzde, birçok biyolojik hasarın ortaya çıkmasında serbest radikallerin önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Serbest radikaller aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilmekte olup, protein, lipid ve nükleik asit gibi makro moleküllerle etkileşimleri sonucu, hücre yapı ve fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olmaktadır. Oluşan serbest radikaller, ortamdan uzaklaştırılmadığı takdirde pek çok yolla metabolik bozukluklara, kimyasal modifikasyonlarla protein, lipid, karbonhidrat ve DNA'da hasarlar ve hatta ölüme yol açarlar. Bu bileşikleri inaktif hale getirebilecek doğal savunma kaynakları vardır

(Diplock, 1991). Antioksidanlar, oksidasyonu başlangıç veya gelişme basamağında ya da her iki basamakta önleyen veya geciktiren maddelerdir (Cook ve Samman, 1996). Serbest radikaller antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulur ve normal şartlar altında organizma kendini antioksidan mekanizmalarla korur. Antioksidanlar serbest radikallerin ve metabolitlerinin blokerleri olarak fonksiyon göstermektedirler (Torun ve Yardım, 1993).

Serbest radikal hasarı için en kritik bölge plazma membranıdır. Hücre dışında meydana gelen serbest radikaller, hücre içine girebilmek için plazma membranını geçmek zorundadırlar. Bu nedenle zararlı etkilerini ilk olarak membranlarda başlatırlar. Hücre membranı serbest oksijen radikalleri ile hızla reaksiyona girebilen çoklu doymamış yağ asitlerinden oldukça zengindir. Bu yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olur. Poliansature yağ asitlerinin bu oksidatif yıkılımı lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Membran akışkanlığında azalma ve permiabilite değişiklikleri meydana gelir. Hücrelerden başta potasyum olmak üzere çeşitli elektrolitlerin kaybını artırır. Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar ve litik enzimleri (elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipooksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz) aktive ederler. Kapiller ve venüllerin endotelial tabakalarında oluşan bu hasarlar, permiabilite artışına ve plazmanın, hatta eritrositlerin ekstravazasyonuna yol açar (Sinclair ve ark., 1990; Thomas, 1995). Başlayan zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam ettiğinden dolayı oldukça zararlıdır. Lipit peroksidasyonu ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür ama antioksidan reaksiyonlar ile zincir uzaması durdurulur (Burton ve Traber, 1989).

Lipit peroksidasyonu, oksijen türevi serbest radikaller tarafından tetiklenen oksidatif stresin en önemli organik göstergelerinden birisidir. Üç karbonlu birketoaldehid olan Malondialdehit (MDA) normal metabolik şartlarda, önce asetat veya malonata kadar okside olur, daha sonra krebs siklusu ile CO₂'e indirgenerek atılır. Fakat aşırı lipit peroksidasyonunda MDA konsantrasyonu artar ve dokulara hasar verir (Ulus ve ark., 2003).

Biyolojik sistemlerdeki oksidatif stresin ölçülmesinde günümüzde en yaygın metod MDA ölçümüdür. MDA miktarı lipit peroksidasyonunun derecesini gösterir

(Halliwell, 1987).MDA, proteinlerin lizin reziduleriyle ve fosfolipitlerin amin gruplarıyla reaksiyona girer (Uchida, 2003). MDA, kolaylıkla diffüze olabildiğinden, DNA bazlarıyla da reaksiyona girerek hasara neden olabilir.

2.3. ANTIOKSİDANLAR

Vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların sebep oldukları hasarı geciktirmek ya da hasarı önlemek üzere fonksiyon gösteren maddelere antioksidan denir. Antioksidanlar hücrenin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler. Radikallerin reaktif yapılarına bağlı olarak, hücresel komponentlerdeki karbonhidrat, protein ve lipitlerin oksidasyonu sonuçlanacak zararın önlenmesinde görevlidirler (Sinclair ve ark., 1990). Peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler (Thomas, 1995; Bekerecioglu ve ark., 1998).

Antioksidan ajanlar, oksidan moleküllere karşı etkilerini dört yolla göstermektedirler (Thomas, 1995);

1) Süpürücü etki gösterenler: Oluşturdukları etki ile yeni radikal oluşumunu engelleyip; oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Bu gruba örnek olarak süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimler; ferritin, seruloplazmin ve metallothionein gibi metal bağlayıcı proteinler verilebilir.

2) Giderici etki gösterenler: Oksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini inhibe eden bileşiklerdir. β-karoten, vitamin C ve vitamin E bu tür etkiye örnektir.

3) Zincir kırıcı etki gösterenler: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kırarlar ve oksidan etkiyi durdururlar. Bunlara örnek olarak bazı vitaminler, mineraller, hemoglobin, ürik asit, bilirubin ve albumin verilebilir.

4) Onarıcı etki gösterenler: Tamir fonksiyonu olan bu gruba örnek olarak da DNA tamir enzimleri ve metiyonin sulfoksit redüktaz verilebilir.

Antioksidanlar endojen (organizma tarafından sentezlenen) ve eksojen (dışarıdan besinlerle alınan) kaynaklı olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdi gibi; serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de sınıflandırılırlar (Halliwell, 1987). Antioksidanlar hücre dışında savunma mekanizmasında rol oynadıkları gibi hücre içinde de farklı organellere yerleşebilir. Bunlar enzimatik ve non-enzimatik yapıda olabilirler (Jerry ve ark., 2000).

Hücre dışı savunma; albumin, bilirubin, seruloplazmin, ürik asit gibi molekülleri içermektedir. Asıl antioksidan savunmayı hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz, glutatyon-Stransferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalazdır. Bunların aktivitesi, serbest radikallerin sentez ve yıkılma hızının yanı sıra beslenme ile alınan eser elementlerin (Mn, Se, Cu, Zn, Fe) varlığına da bağlıdır (Kehrer, 1993).

2.4. KARBON TETRAKLORÜR (CCl₄)

Karbon tetraklorür (CCl₄) renksiz, berrak, uçucu bir sıvıdır. Önceleri kuru temizleme, yangın söndürme, tahıl dezenfeksiyonu ve böceklerle mücadelede yararlanılan bu kimyasal bileşik; günümüzde petrol ürünlerinde, müzelerde sergilenen eşyaların dış ortamın zararlı etkilerinden korunmasında, soğutucu ekipmanların ısı transferlerinde, bitki ve tohum ekstratlarının elde edilmesinde, vernik, cila, reçine çözücüsü ve organik bileşiklerin imalatında kullanılmaktadır. Çevreden insan vücuduna günlük ortalama 0.1 µg CCl₄ girişi olduğu tahmin edilmektedir. Birleşik Devletler Çevre Koruma Dairesi (EPA) hayvan deneylerinden elde edilen sonuçlara dayanarak, CCl₄'ü insan için olası kanserojen (grup B2) sınıfına dahil etmiştir. Güçlü bir kimyasal stabiliteye sahiptir. Bunun sonucu olarak 30 ila 60 yıl arasında değişen çok uzun bir yarılanma ömrü vardır (Thrall ve ark, 2000).

CCl₄ solunum, beslenme ve direkt olarak kolayca vücuda girer. Gastrointestinal kanaldan emilimi oldukça hızlıdır. Diyetten etkilenir, yağlar ve alkol ile CCl₄ emilimi daha da hızlanır. Karaciğer, beyin, böbrek, kaslar, yağ dokusu ve kanda daha yüksek konsantrasyonlarda olmak üzere tüm vücuda dağılır (Thrall ve ark, 2000).

CCl_4 'ten en fazla etkilenen organlar karaciğer ve böbreklerdir. Deneysel çalışmalarda pek çok madde ile karaciğer hasarı oluşturulmasına rağmen, CCl_4 en çok tercih edilen maddelerden biridir (Moghaddam ve ark., 1998; Akiyoshi ve Terada, 1998; Onori ve ark., 2000; Sun ve ark., 2001; Geier ve ark., 2002; MacDonald-Wicks ve Garg, 2003).

CCl_4 , akut hasarlar oluşturması yanında uzun süreli kullanımı ile kronik hasarlar oluşturarak siroza kadar uzanan sonuçlar vermektedir (Montfort ve Tamayo,1978; Perez-Tamayo, 1983; Onori ve ark., 2000; Sun ve ark., 2001). CCl_4 ' le deneysel olarak oluşturulan karaciğer hasarlarıinsanlardaki karaciğer hasarları modeline uygunluk göstermektedir (Perez-Tamayo, 1983).

İnsanlarda CCl_4 ' ün önemli bir kısmı yağ dokusuna yerleşir. Daha sonra buradan ayrılıp akciğerlere doğru hareket eder. Metabolize olan CCl_4 ' ün %4 kadarı nefesle dışarı verilir, geriye kalan kısmı ise protein ve diğer hücre içi moleküller ile etkileşir. Vücuttaki yarılanma ömrü yaklaşık 24 saat kadardır ve meydana gelen ürünler idrar ve dışkı ile dışarı atılır.

CCl_4 ' e bağlı karaciğer hasarında meydana gelen lipid peroksidasyonu oldukça önemlidir (Nadkarni ve Souza, 1988). Çünkü bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreç sonunda karaciğer fibrozu ve siroz oluşabilir (Lee, 1994; Shimiziu, 2003).

CCl_4 iyi bilinen bir hepatotoksindir. CCl_4 metabolizmasının ilk basamağı sitokrom p-450 enzimi aracılığıyla serbest radikallere yıkılımıdır (Weber ve ark., 2003).

CCl_4 ' ten karaciğer hücrelerinin granülsüz endoplazmik retikuluma yerleşmiş olan monooksijenazlar tarafından, bir klor atomu ayrılarak dayanıksız bir radikal olan triklorometil (CCl_3) oluşur. CCl_3 'de oksijen varlığında CCl_3O_2 (triklorometilperoksi) radikalini meydana getirir. Açığa çıkan CCl_4 'ün bu reaktif serbest radikal metabolitleri, hücredeki antioksidan savunma sistemlerini aştığında membrandaki yağ asitleri serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Mikrozomal lipidlere ve diğer hücresel makromoleküllere direkt olarak tutunur, membran yapısının bozulmasına, hücre enerji kaynaklarının azalmasına,

protein sentezinin baskılanmasına ve böylece karaciğer hasarına neden olurlar (MacDonald-Wicks ve Garg, 2003). Hepatik hasarı, selüler enzimlerin hızlıca kan dolaşımı içerisine salınımı ve perisentral nekroz oluşumu takip eder. Parankimal kitle artışına bağlı azalmış vaskülarizasyon, fonksiyonel ihtiyacı karşılayamaz ve karaciğeryetmezliği gelişimine neden olur (Onori ve ark., 2000).

2.5. TARHUN (*Artemisia drancunculus*)

2.5.1. Botanik Bilgi : Bileşikgiller familyasında olup 120-150 cm. boylanabilen, 2-10 mm genişliğinde, keskin ama hoş kokulu, dayanıklı çok yıllık çalimsı bir bitkidir. Yuvarlak kesitli ve dallara ayrılan yapılı gövdesi açık yeşil renklidir; bitkinin tabanına doğru gövde kahverengileşir. Yapraklarince, uzun ve parlak yeşil renklidir. Yaprak altında bulunan yağ bezeleri biberimsi acı tadı olan güzel bir koku yayarlar. Çiçekleri küre biçimli, küçük ve yeşilimsi beyaz renkli olur. İki önemli türünden Fransız tarhununu (*A. drancunculus*) ilkbaharda yaprakları bölünerek, Rus tarhununu (*A. drancunculoides*) ise tohumları ekilerek çoğaltılır. Körpe ya da kurutulmuş yaprakları pek etkili çeşnisi nedeniyle, dünyanın en seçkin mutfaklarında baharat olarak bolca kullanılmaktadır.Özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi başta olmak üzere ülkemizin çeşitli bölgelerinde taze baharat olarak sıklıkla tüketilmektedir.

Regnum: Plantae

Subregnum: Tracheobionta– Vascular plants (Damarlı Bitkiler)

Divisio: Spermatophyta – Seed plants (Tohumlu Bitkiler)

Subdivisio: Magnoliophyta– Angiosperms (Kapalı Tohumlular)

Classis: Magnoliopsida – Dicotyledons (Çift Çenekliler)

Ordo: Asterales

Familia: Asteraceae

Genus: Artemisia

Species: *Artemisia drancunculus* L.



Şekil1: Tarhun (*Artemisia drancunculus*) bitkisi.

2.5.2. Yetiştirildiği Yerler : Hititlerin hava tanrısından adını alan ve latincesi *Artemisia drancunculus* olan ayrıca tarragon adıyla da bilinen bu bitki kuzey yarım kürede yaygın olarak yetişir. Kökeni Sibiryadır, buradan tüm Avrasya'ya yayılmıştır. Günümüzde Avrupa'da büyük ölçüde kültürü yapılmakta, ülkemizde de Ankara, Gaziantep, Urfa ve Erzurum'daki bazı bahçelerde yetiştirilmektedir.

2.5.3. Toplanması - Saklanması : Temmuzdan Ekime kadar tarhun kesilerek demet yapılır, havadar, güneşli, gölgelik yerlerde kurutulur ve kaldırılır.

2.5.4. Bilinen Bileşimi : Tarhunun yapraklı dalları iyot, mineral tuzlar, A ve C vitamini yönünden zengindir. Bileşiminde uçucu yağ (%0.4-0.8), tanenler ve flavonoidler, acı madde, iyot, A ve C vitaminleri; uçucu yağın içinde de estragol, anetol, limonen, mentol, öjenol, anisol, kanfen, mirsen ve steroller gibi maddeler bulunur.

Tarhunun bileşimindeki maddeleri önemine göre şöyle sıralayabiliriz;

a) Eterik yağ türevleri %0,2-1,5 arasında olup en önemlileri metilkafkol (4-Allilanisol, Estragol veya 1-Metoksi-4 ve 2-profenil-benzol) Osimen ve Mirsen' dir. Ayrıca Kamfer, Kamfen, Anisaset, α -ve β -Pinen, Limonen, Linalool ve p-Metoksi-sinamikaldehid içerir. Taze tarhun %0.2-0.6 eterik yağ içerirken kurutulmuş tarhun %0.4-1 nadiren %1.5 oranında içerir.

b) Flavonoidlerden; Kuercetin ve Patuletinglikozitler ile Lipofil (yağ çözücü) Flavon; 5,3'-Dihidroksi-7,4'-Dimetoksiflavon içerir.

c) Kumarinlerden; Herniarin, Skoparon ve Skopoletin ile İzokumarinlerden; Artemidin, Artemidinal ve Artemidinol içerir.

d) Minerallerden; potasyum, kalsiyum ve magnezyum içerir (<http://www.dogaltedavi.net>).

Günümüze kadar tarhun bitkisinin fitoterapide etkin olarak kullanılabilecek bir drog olup olmadığı net olarak ortaya konmamış ve bu konuda yapılan çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır. Bu nedenle bugünkü bilgilere göre 2. sınıf şifalı bir bitkidir. Tarhun bitkisinin güçlendirici tonik etkisi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle yapılacak olan bu araştırmada tarhun bitkisinin hepato koruyucu aktivitesinin açığa çıkarılması hedeflenmiştir.

2.5.5. Aktivitesi: *Artemissia drancunculus* üzerinde yapılan çalışmalarda biyoaktif primer insan iskelet kası kültüründe hücrel insülin reseptör sinyalizasyonunu arttırdığı (Zhong Q. ve ark,2008), Tip II diyabetli hayvan modellerinde hipoglisemik etki göstererek anti-diyabetik özelliğine sahip en az 6 biyoaktif bileşik içerdiği (Ribnicky ve ark., 2008, Dmitry ve ark, 2007), kanı sulandırarak antikoagülan etki gösterdiği ve metanol ekstresinin *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Shigella*, *L. monocytogenes* organizmalarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği (Benli ve ark., 2007) çalışmalarda rapor edilmiştir.

2.5.6. Toksisitesi: Tarhunun tarihsel kullanımını hakkındaki bilgiler sınırlı olduğu için, ratlar üzerinde yapılan bir dizi toksikoloji çalışmalarında herhangi bir mutajenik aktivitesine rastlanmamıştır. Bu nedenle rat çalışmalarında 1000 mg/kg' a kadar kullanımının güvenli ve non-toksik olduğu rapor edilmiştir (Ribnicky ve ark., 2004).

BÖLÜM 3

MATERYAL METOD

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan sıçanlar Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edildi. Hayvanlar aklimatizasyon şartlarının sağlanması için deneye başlamadan bir hafta önce diğerlerinden ayrılarak, 20-22 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortam periyodunda, rahatça hareket edebildikleri standart kafeslerde barındırıldı. Deney süresi boyunca yem ve su alımı serbest bırakıldı. Çalışmaya başlamadan önce yapılan muayenede sağlık durumu elverişli olmayan sıçanlar çalışmanın dışında bırakıldı. Çalışmanın etik kurul onayı Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurul Başkanlığından alınmıştır (K.No: 06-02-2012/7-7).

3.2. Ekstraktların Hazırlanması

Tarhun otu (*A. drancunculus*) Gaziantep' teki yerel bostanlardan 2011 Temmuz ayında taze olarak toplandı ve Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde botanik uzmanı tarafından teşhis edildi. Bitki kısımları temizlenerek yabancı otlardan arındırıldı. Uygun şartlarda kurutuldu. Kuruyan bitki kısımları ve yaprakları alınarak toz haline getirildi. Hazırlanan tarhun bitkisinden, sokslet yöntemiyle etanol ekstraktları çıkarıldı. Elde edilen ekstraktlardan evaporasyon (buharlaştırma) yöntemiyle etanol uzaklaştırıldı. Geriye kalan kuru özüt %2 'lik Tween 20 (Merck, Germany) ile çözüldü ve toplam volüm 20 ml/kg olacak şekilde distile su ile tamamlandı (Ribnicky ve ark, 2008).

3.3. Deney Prosedürü

Çalışmada 14-16 haftalık, 140-160 gr ağırlığında dişi ve 180-220 gr ağırlığında erkek olmak üzere her iki cinsten eşit sayıda toplam 60 Wistar albino cinsi sıçan kullanıldı.

Denekler 6 gruba ayrıldı ve her gruba n=10 olmak üzere rastgele seçilmiş denekler konulduve deney süresince düzenli aralıklarla gözlemlendi. Deneme kafeslerinde çiftleşmeyi önlemek için deney sonuna kadar dişi ve erkek sıçanlar ayrı ayrı kafeslerde barındırıldı.

Gruplar ve uygulanan deneysel prosedür;

Kontrol I: Bazal diyet ve serum fizyolojik (SF, 0.2 ml/kg)

Kontrol II: CCl₄:zeytinyağı (1:5, 0.2 ml/kg)

Kontrol III: 500 mg/kg etanolik tarhun ekstresi ve SF

Deneme I: CCl₄:zeytinyağı (1:5, 0.2 ml/kg) ve etanolik tarhun ekstresi (250 mg/kg)

Deneme II: CCl₄:zeytinyağı (1:5, 0.2 ml/kg) ve etanolik tarhun ekstresi (500 mg/kg)

Deneme III:CCl₄:zeytinyağı (1:5, 0.2 ml/kg) ve etanolik tarhun ekstresi (750 mg/kg)

Ratlara 6 haftalık deneme boyunca gün aşırı etanolik tarhun ekstresi gavaj yoluyla (p.o.) verilmiş ve 0.2 ml/kg CCl₄ (Merck^R, Germany) zeytinyağıyla (1:5 oranında) karıştırılarak intraperitoneal (i.p.) yolla enjekte edilmiştir (Parmaksız M.A.,2007).

3.4. Vücut Ağırlık Takibi

Sıçanların vücut ağırlıkları çalışma boyunca günlük olarak tartıldı ve ilk gün tartılan ağırlığa göre yüzde değişim oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanarak kaydedildi;

% değişim=100 X (n. ağırlık-ilk ağırlık)/ilk ağırlık

Ağırlık_n : birinci günden sonraki günlerin ağırlık ölçümleri.

Ağırlık₁ : birinci gün ölçülen ağırlık.

3.5. Biyokimyasal İncelemeler

6. haftanın sonunda sıçanlardan, hafif eter anestezisi altında, kalblerinin sol ventriküllüne enjektörle girilerek kan örnekleri alınıp 5000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. AST, ALT, total bilirubin, TAS (Total antioksidan kapasite), TOS (Total oksidan kapasite) ve serum MDA parametreleri değerlendirildi (Bayram ve ark, 2004; Göker ve Özmen, 2009).

3.6. Histopatolojik İncelemeler

Derin eter anestezisi ile sakrifiye edilen sıçanların karaciğerleri çıkarılarak % 10'luk tamponlu formalin çözeltisi içerisinde üç gün süreyle fikse edildi. Daha sonra parafin bloklara gömülen karaciğerlerden 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Preparatlar dejenerasyon ve steatoz değerlendirmesi için Hematoksilen + Eozin ile fibrozis değerlendirmesi için ise Retikülin boyası ile boyandı. Hazırlanan tüm kesitler bir uzman patolog tarafından ışık mikroskobu ile histopatolojik yönden değerlendirildi ve fotoğrafları çekildi.

3.7. İstatistiksel Analiz

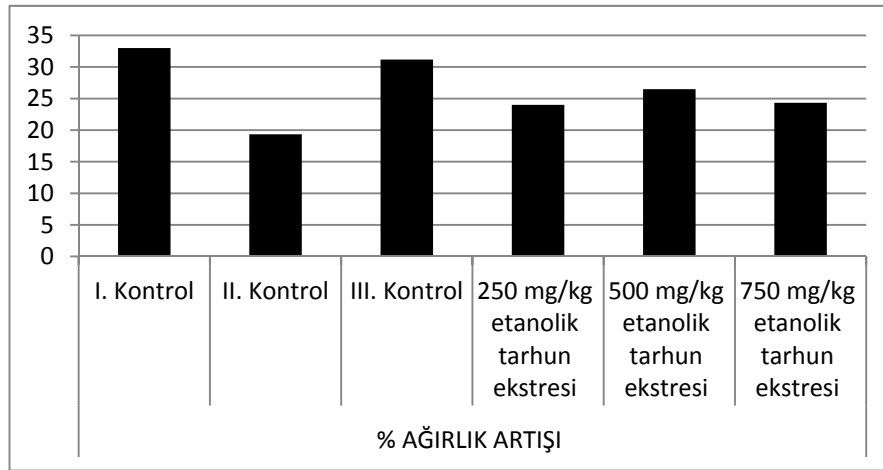
Verilerin istatistik analizi ANOVA TUKEY-HSD (Post-Hoc) testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlık Değişimi

Kontrol grupları karşılaştırıldığında en fazla ağırlık artışı, sağlıklı kontrol grubunda ve sadece etanolik tarhun ekstresi verdiğimiz kontrol grubunda görülmüştür. Sadece CCl₄ verdiğimiz kontrol grubunda ise yüzde değişim oranında anlamlı bir azalma elde edilmiştir (Grafik 1).



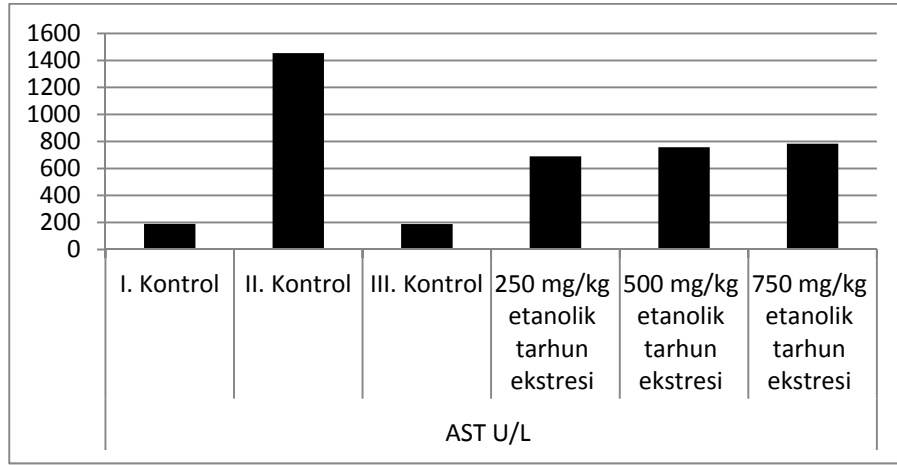
Grafik 1: Ortalama vücut ağırlıklarının değişimi.

4.2. Biyokimyasal Bulgular

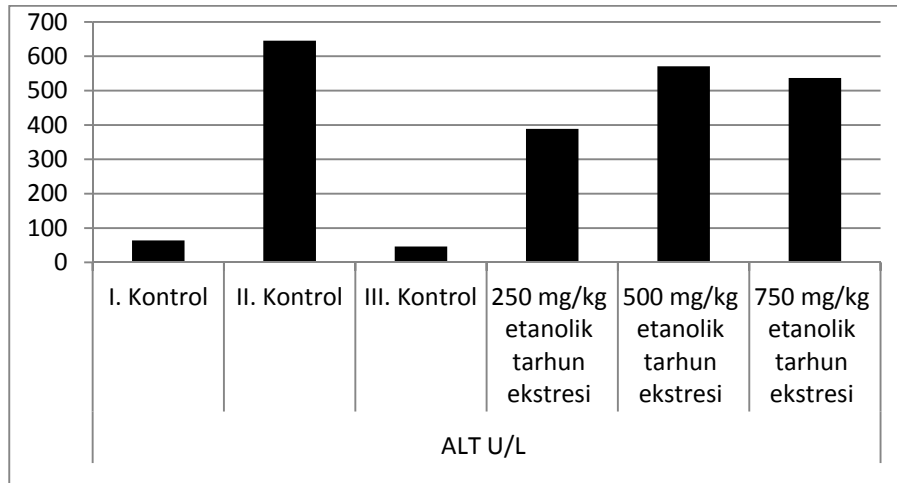
II. kontrol grubunun AST, ALT ve direkt bilirubin değişkenlerinin hem erkek hem de dişilerinde anlamlı bir yükselme elde edilmiştir ($p < 0.05$) (Grafik 2-3-4).

250 mg/kg etanolik tarhun ekstresi verilen grupta ALT ve AST düzeylerinde II. kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalmalar görülürken, direk bilirubin düzeyinde artış kaydedilmiştir ($p < 0.05$) (Grafik 2-3-4).

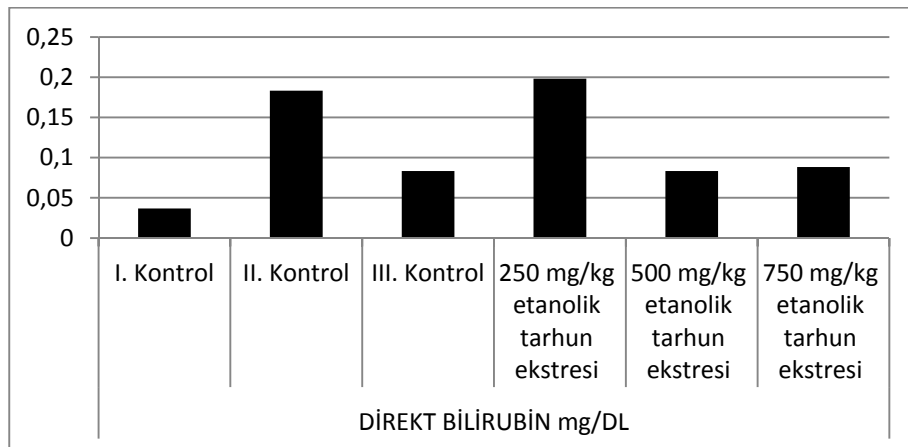
500 mg/kg ve 750 mg/kg etanolik tarhun ekstresi verilen gruplarda ise AST, ALT ve direk bilirubin deęerleri dūřuř gōstermiřtir ($p < 0.05$) (Grafik 2-3-4).



Grafik 2: Serum AST ortalama değerleri.



Grafik 3: Serum ALT ortalama değerleri.

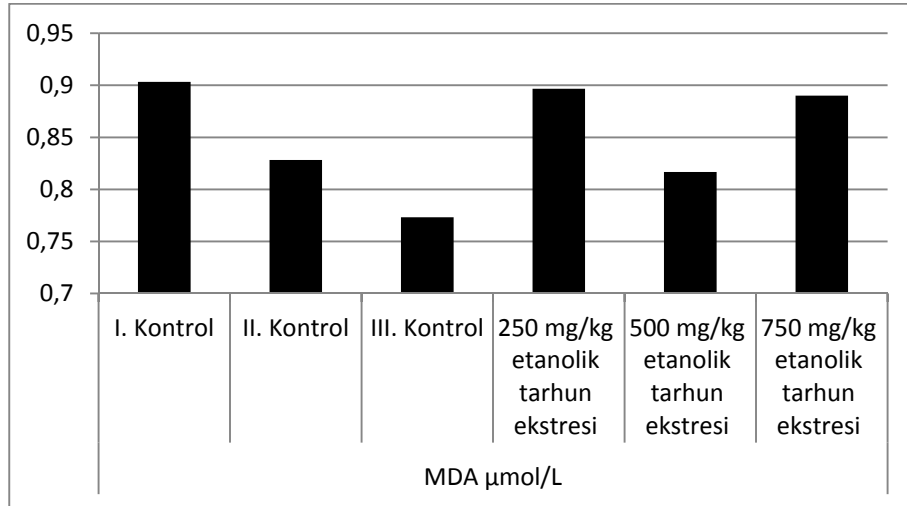


Grafik 4: Serum Direkt Bilirubin ortalama değerleri.

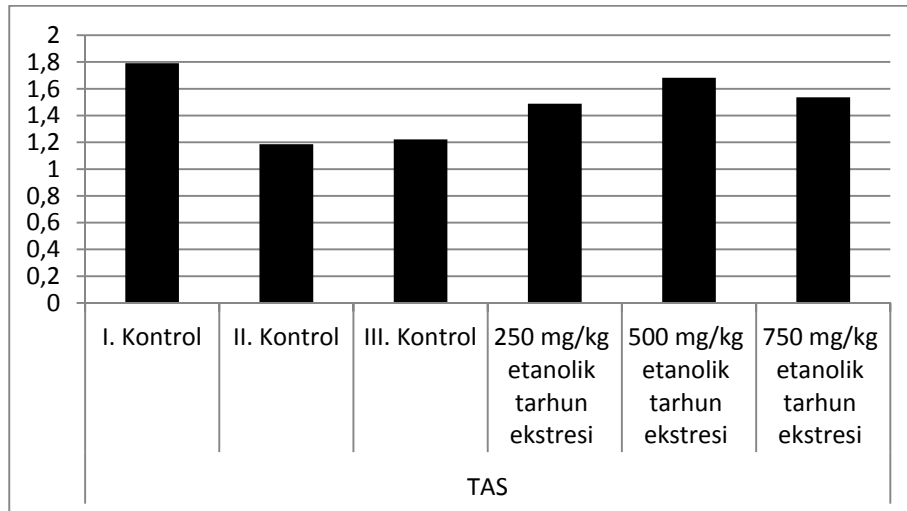
Tarhun ekstresinin antioksidan özelliğini değerlendirmede kullanılan TAS, TOS ve MDA değerlerindeki değişime bakıldığında;

MDA ve TOS açısından I. kontrol grubu ile II. kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak, bulunan bu fark negatif yönlüdür ve bu bakımdan kabul edilmemiştir (Grafik 5-7).

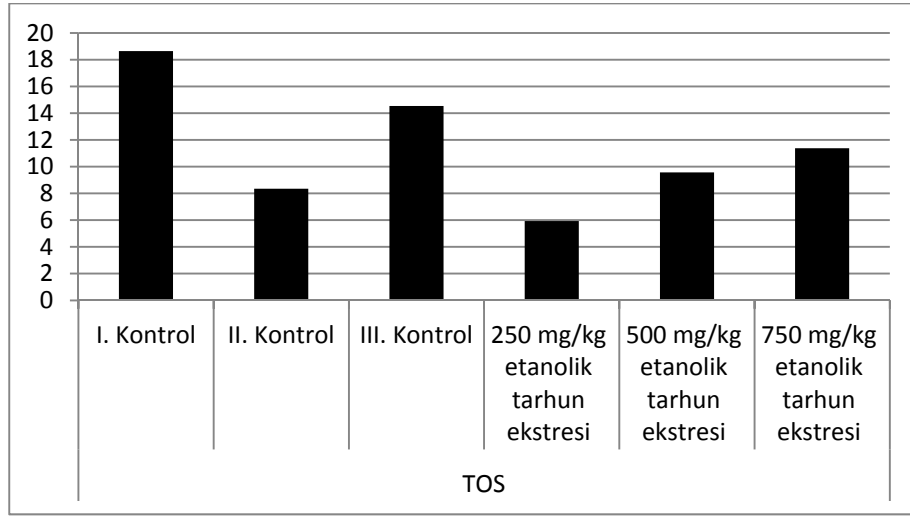
Sadece tarhun ekstresi uygulanan grupta ise TAS değerlerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Buna rağmen karaciğer hasarı oluşturulduktan sonra tarhun ekstresi uygulanan her üç grupta TAS değerleri önemli derecede artmıştır (Grafik 6).



Grafik 5: Serum MDA ortalama değerleri.



Grafik 6: TAS ortalama değerleri.



Grafik 7: TOS ortalama değerleri.

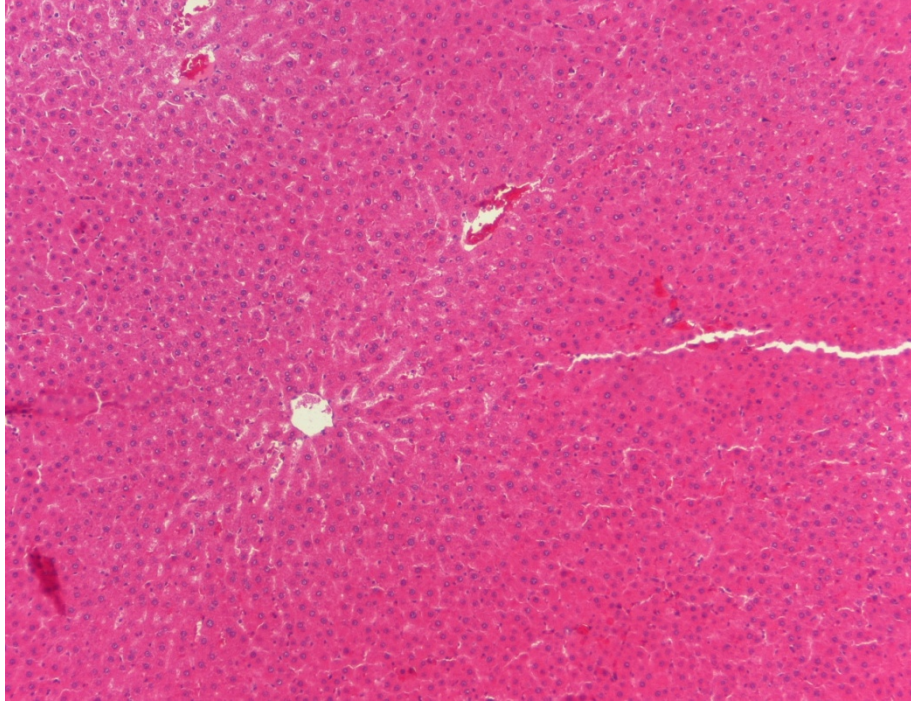
4.3. Histopatolojik Değerlendirmeler

Histolojik hasarı değerlendirmek amacıyla hidropik dejenerasyon, fibrozis oluşumu ve yağlanma dereceleri kriter alınmıştır.

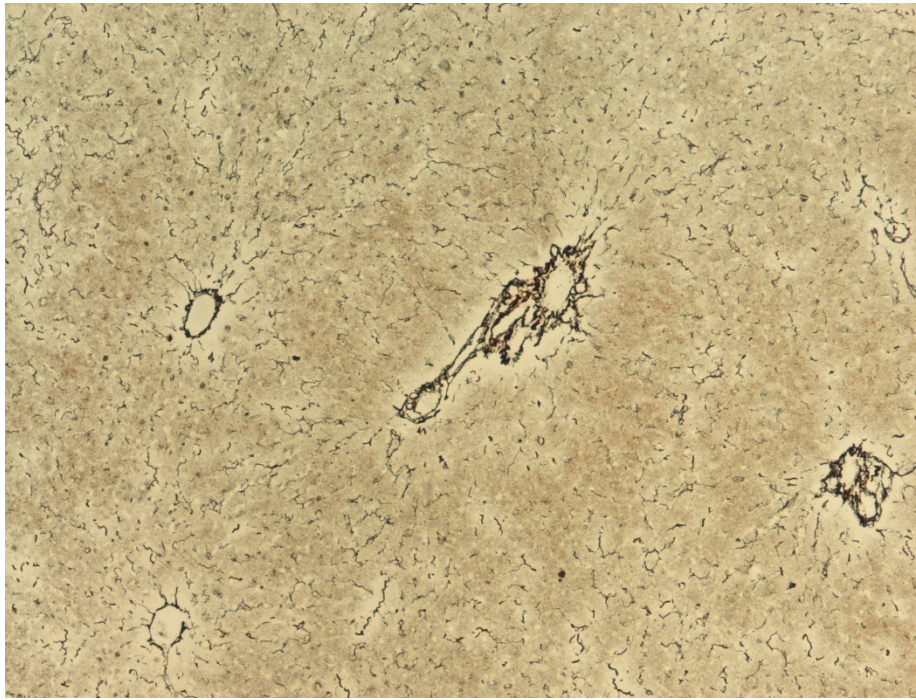
I. kontrol grubunda karaciğer görünümlerinde normal parankimal yapılanma izlenmiştir (Resim 1,2). Bu yapılanmada vena sentralis yapılarında, portal alanlarda, hepatosit kordonlarında ve sinuzoidlerde değişim bulunmamaktadır.

II. kontrol grubunun makroskopik görünümünde nekroz ve safra asit sıvısı oluşumu ile yağlanmalar gözlemlenmiştir. Ayrıca doku üzerinde nedbeleşmeler grlmştir. Yine II. kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda; artmış olan bağ dokusu sonucu normal parankimal yapı fibröz septumlarla çevrili nodüler yapıda olup, hepatosit dizileri bu nodüller içinde adacıklar şeklinde dizilmiştir. Lezyonlar ise simetrik ve/veya homojen değildir.şiddetli hidropik dejenerasyon, şiddetli yağlanma, köprüleşme nekrozu oluşumu ve yaygın bir makronodüler siroz oluşumu grlmştir (Resim 3,4).

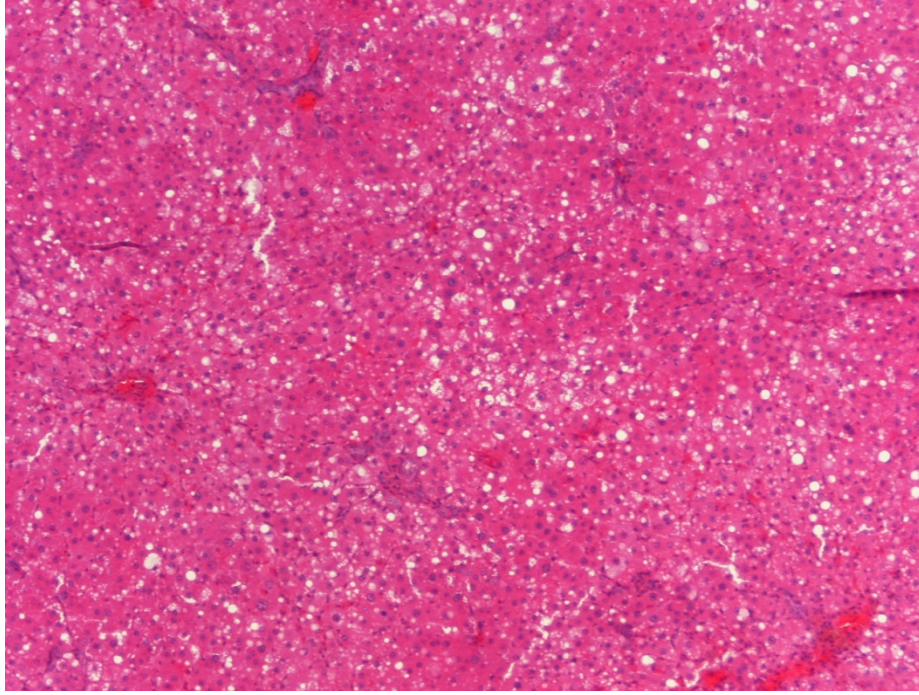
III. kontrol grubundaki histopatolojik incelemelerde de I. kontrol grubunda olduğu gibi karaciğer görünümlerinde normal histolojik yapılanmalar gözlenmiştir (Resim 5,6).



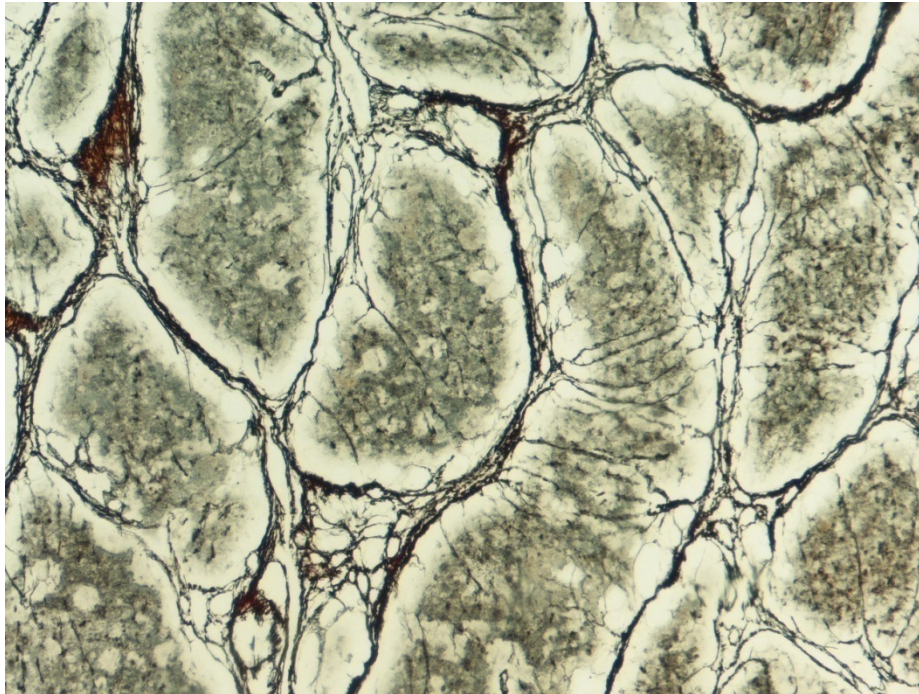
Resim 1:Kontrol I- Karaciğer dokusundan hazırlanan kesitlerde portal alan ve merkezi venleri içeren normal karaciğer histolojisi (H-E, 100x).



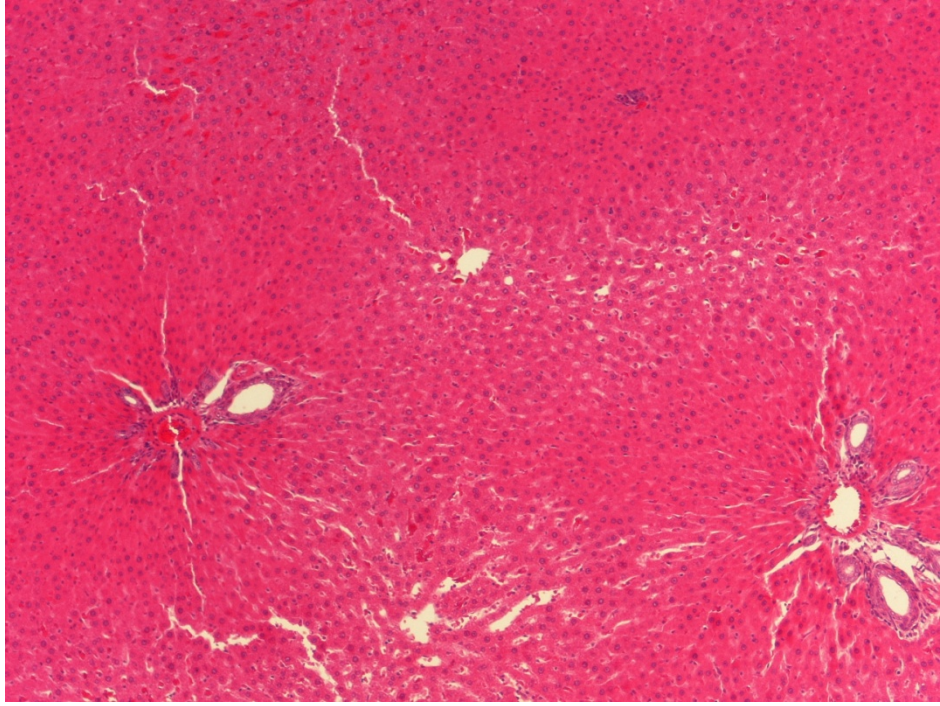
Resim 2: Kontrol I- Sağlıklı karaciğer dokusu (Retikülin, 100x).



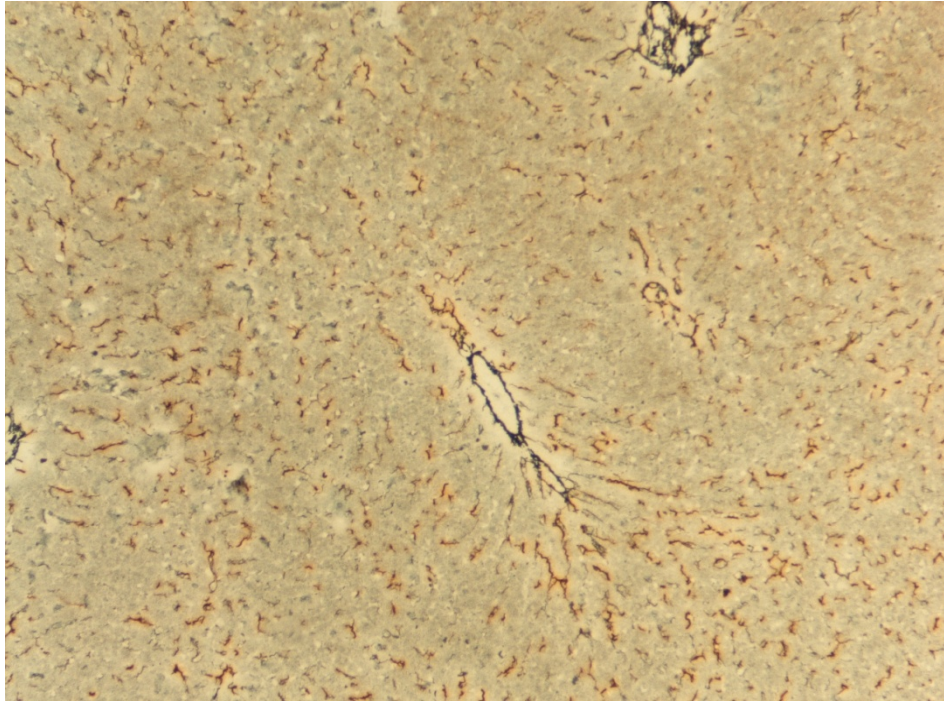
Resim 3: Kontrol II- CCl₄ uygulama sonrası hidropik dejenerasyon ve steatosis (H-E, 100x).



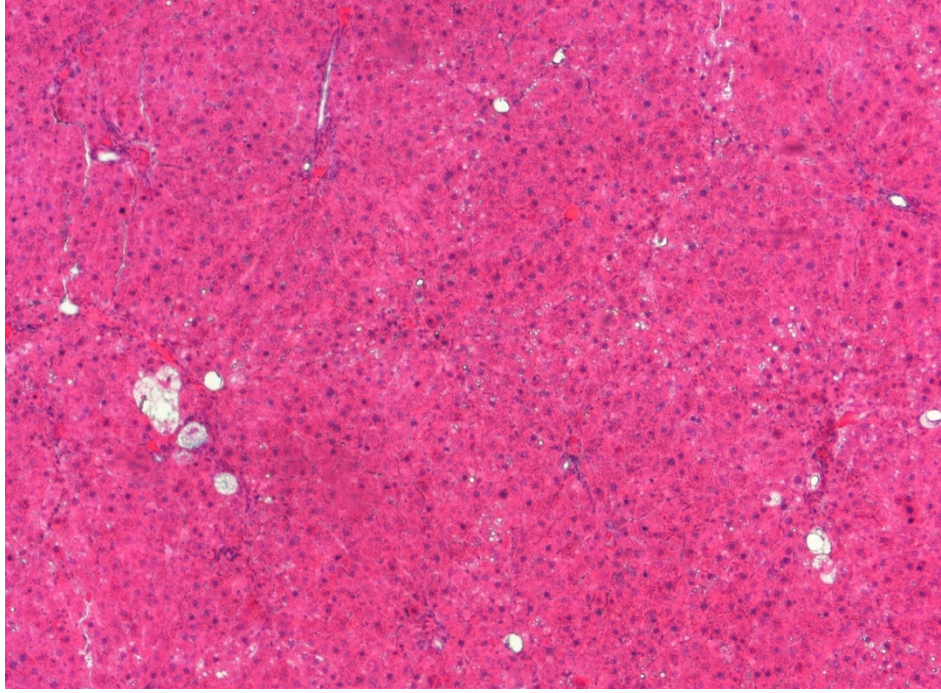
Resim 4: Kontrol II- Karaciğer dokusunda portal alanlar arası ve portal alan ile merkezi venler arasında ince ve kalın demetler oluşturmuş fibröz doku oluşumu (Retikülin, 100x).



Resim 5: Kontrol III- Sağlıklı sıçanlarda karaciğer dokusu (H-E, 100x).



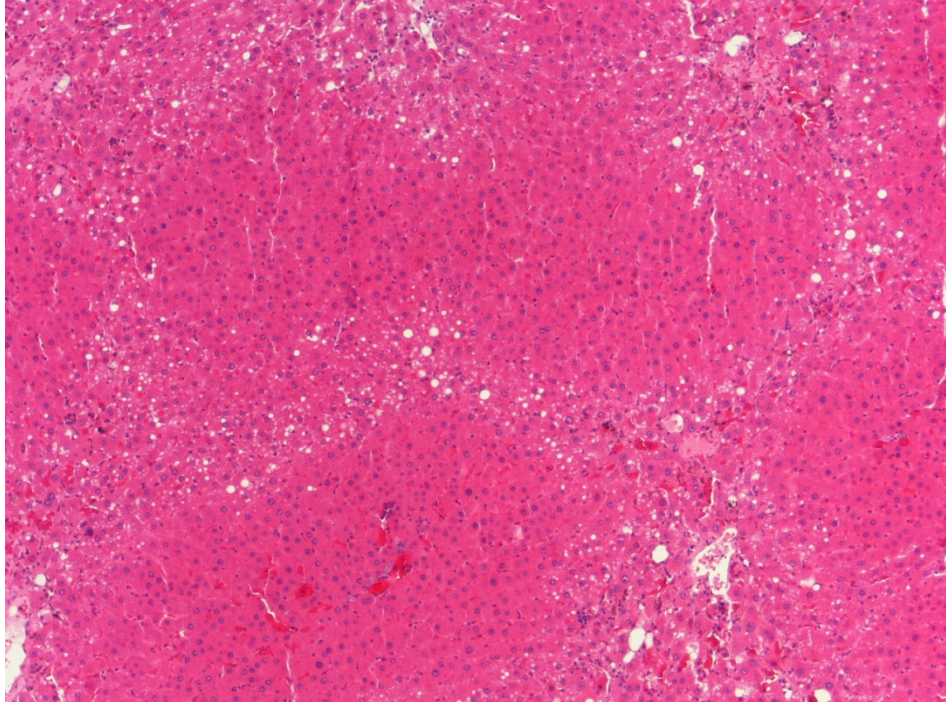
Resim 6:Kontrol III-Sağlıklı sıçanlarda karaciğer dokusu (Retikülin,100x).



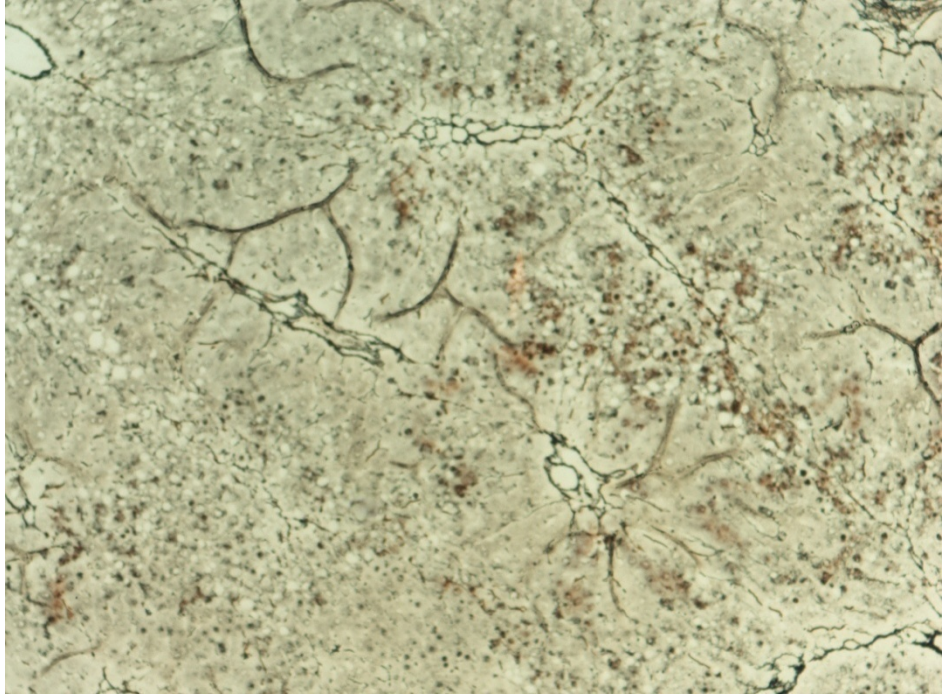
Resim 7: Deneme I' e ait karaciğer dokusu (H-E, 100x).



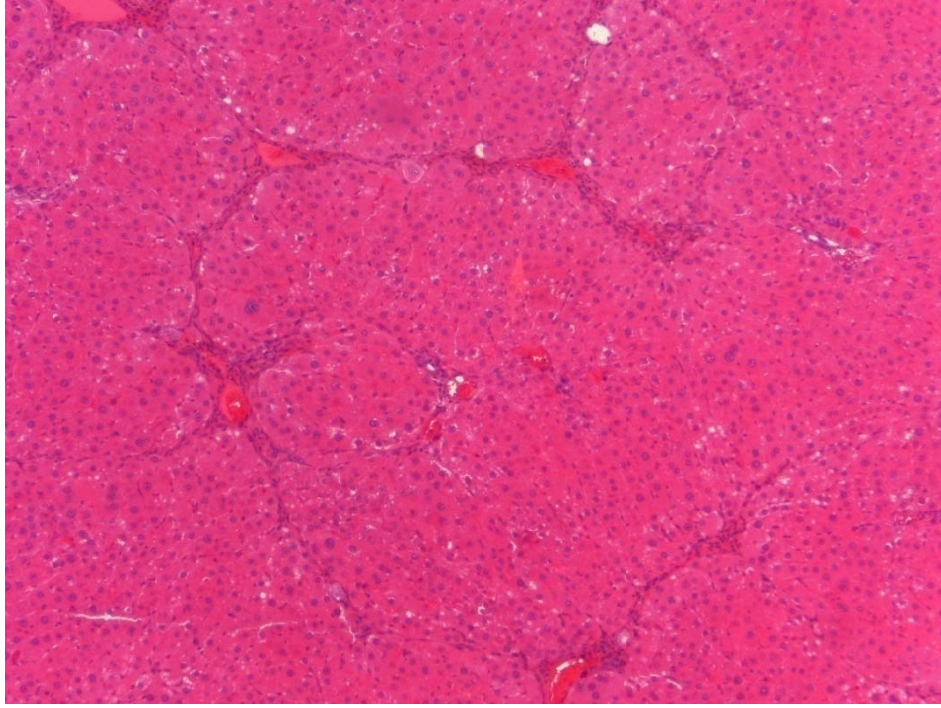
Resim 8: Deneme I' e ait karaciğer dokusu (Retikülin,100x).



Resim 9: DenemeII'ye ait karaciğer dokusu (H-E, 100x).



Resim 10: Deneme II'ye ait karaciğer dokusu (Retikülin,100x).



Resim 11: Deneme III- CCl₄ uygulanmış gruba göre karaciğerde daha az oranda hidropik dejenerasyon ve steatosise rastlandı (H-E,100x).



Resim 12: Deneme III- Az oranda fibrozis oluşumu (Retikülin,100x).

Etanolik tarhun ekstresiverilen gruplardaki hidropikdejenerasyonun II. kontrol grubuna göre belirgin derecede az olduğu; nedbeleşmenin, nekroz oluşumunun, asit sıvısı oluşumunun, yağlanmanın ve fibrozis oluşumunun azaldığı gözlenmiştir ($p<0.05$).Hidropik dejenerasyonunun ve yağlanmanın SF ve tarhun ekstresi gruplarıyla CCl₄ grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturduğu dikkati çekmiştir.

250 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarında etanolik tarhun ekstresi verilen grupta karaciğer dokusu üzerine hidropik dejenerasyon ile karaciğer yağlanması düzeylerinde anlamlı azalmalar görülmüştür ($p<0.05$) (Resim 7,8,9,10).

750 mg/kg dozundaki etanolik tarhun ekstresi verilen grupta karaciğer dokusunda hafif hidropik dejenerasyongörülürken, fibrozis ve yağlanma seviyelerinde deazalma görülmüştür ($p<0.05$) (Resim 11,12).

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Karaciğer çeşitli metabolik, toksik, mikrobik, dolaşımsal ve neoplastik hastalıklardan kolayca etkilenebilmektedir. Karaciğerin çeşitli nedenlere bağlı hasarının değişik formları, oksidatif stres ve bunu takiben oluşan serbest radikallerle oluşmaktadır (Comporti, 1985). Toksik oksidatif ve hidroksidatif radikallerin, lipid peroksidasyonu veya diğer yollarla hepatositlerin hücre membranlarını hasara uğrattığı, serbest radikallerin hem in vivo hem de in vitro ortamlarda protein, lipid ve karbonhidratları, ayrıca DNA'yı bozduğu gösterilmiştir (Halliwell, 1987). Serbest radikal miktarı, endojen sellüler çöpçü sistemin kapasitesini aştığında, önemli hücresel hasar meydana geldiği bildirilmiştir. Hasarlanma süreci etkin bir rejenerasyon ve onarımla cevaplanamazsa normal karaciğer yapısı bozulur. Kollagen ve ekstraselüler matriks proteinleri disperse aralığında birikmeye başlar ve artan bağ dokusu sirozla sonuçlanabilir (Wang ve ark, 2005).

Sadece CCl₄ uygulanan gruptaki biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirmeler dikkate alındığında CCl₄ ile akut karaciğer toksisitesi sonucu siroz oluşum modellemesinin oluşturulabildiği görülmektedir. Deney hayvanlarında karaciğer hasarı oluşturmak için deneysel çalışmalarda en sık kullanılan maddelerden birisi olan CCl₄'ün hepatotoksik etkisi, kısa yaşam süreli reaktif ara ürünlerinin metabolik aktivasyonu ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (Halliwell, 1987).

ALT ve AST enzim aktiviteleri, birçok araştırmacı tarafından bildirildiği gibi, sıçanlarda CCl₄ ile toksikasyonun indüklendiği çalışmalarda önemli oranlarda artmıştır. Enzim yüksekliğinin derecesi, daha çok olayın akut veya kronik gelişmesi ile ilişkilidir ve akut gelişen olaylarda normalin 20 katını aşan yükselmelere rastlanabilir. AST ve ALT'nin her ikisinde yüksek, ancak AST, ALT'den daha yüksekse siroz düşünülmelidir (Sentürk ve ark, 2004). Yine çalışmamızda sadece

CCl₄ uygulanan grupta AST ve ALT yüksekliğinin görülmesi, histopatolojik desteklerle beraber siroz oluşumunu desteklemektedir.

Ortalama vücut ağırlıklarının deney sonundaki oransal azalışının, toksisitenin ilerlemesi ile karaciğer harabiyetinin giderek artmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

CCl₄, akut hasarlar oluşturması yanında uzun süreli kullanımı ile kronik hasarlar oluşturarak siroza kadar uzanan sonuçlar vermektedir. CCl₄ ile intraperiton enjeksiyonundakaraciğer tarafından absorbe olan CCl₄' ün zararlı etkileri azaltılmaya çalışılır. Hepatik fibrozis sirozun ara ve kritik bir dönemidir. Eğer bu dönemde uygun bir maddeyle tedavi edilirse siroz başarılı bir şekilde önlenebilir (Riley ve Bhatti, 2001).

CCl₄ ile deneysel olarak oluşturulan karaciğer hasarları insanlardaki karaciğer hasarları modeline uygunluk göstermektedir. Bundan dolayı sıçan siroz modellerinde; hasar süreçleri yanında karaciğeri koruyucu ilaçların çalışılması; bu ilaçların, insanlar üzerinde potansiyel faydalarını ortaya koyabilecektir (Perez-Tamayo, 1983).

Bu çalışma, *A. drancunculus*' un karaciğeri koruyucu etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz etanolik tarhunekstresinin, CCl₄ sonucukaraciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda kullanılarak oluşan hasar üzerinde ne kadaretkili olduğu histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

Tarhun otu etanolik ekstrelerinin uygulandığı gruplarda karaciğer makroskobik görünümünde özellikle 750 mg/kg etanolik tarhun ekstresi uygulanan grupta nekroz oranı, nedbeleşme ve iltihaplanma oranı sadece CCl₄ uygulanan gruba kıyasla önemli derecede azalmıştır. Histopatolojik incelemeler neticesinde deetanolik tarhun ekstresi uygulanan gruplarda hidropik dejenerasyon ve yağlanma oranlarında anlamlı şekilde azalma olduğu görülmüştür (p<0.05). Ayrıca fibrozis oluşumunda da azalma

olduğukaydedilmiştir. Bu durumda etanolik tarhun ekstresindeki alımının miktar olarak artışı histopatolojik yönden karaciğer hasarını önemli derecede azaltmıştır. Buna ilave olarak AST, ALT ve direk bilirubin değerlerinde ki anlamlı düşüş *A. drancunculus*' un akut karaciğer toksisitesine karşı karaciğeri güçlendirerek daha az hasar almasını sağladığı fikrini doğurmuştur.

Gerek hepatoselüler hasara, gerekse kolestatik karaciğer hastalıklarına bağlı olarak bilirubin artışı görülebilir. Ancak bazı durumlarda karaciğer hastalığının diğer bulgularıolmaksızın hiperbilirubinemi saptanması da mümkündür (Sonsuz, 2007). Buna göre *A. drancunculus*' un olumlu sonuçlarına karşın sadece etanolik tarhun ekstresi verilen sağlıklı hayvanlardaki bilirubin seviyesinde görülen hafif düzeydeki artışın, tarhunun hiperbilirubinemiye neden olabileceği fikrini desteklemektedir. Dolayısıyla bilirubin seviyesindeki bu artışın karaciğer hasarıyla ilişkilendirilmezken tarhun tüketiminden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Etanolik tarhun ekstresi gruplarındaki TAS seviyelerinin sadece CCl₄ uygulanan gruba kıyasla artışı *A. drancunculus*' un antioksidan bir madde olduğunu gösterirken, sadece etanolik tarhun ekstresi verilen sağlıklı hayvanlardaki TAS değerlerinin hiçbirşey uygulanmayan sağlıklı hayvanlara kıyasla düşüş göstermesi bu durumun tersi bi sonucu ortaya koymaktadır. Bu sonuç bize tarhun bitkisinin doza bağlı olarak antioksidan özellik gösterdiği fikrini vermektedir.

Tüm bu verilerin istatitksel değerlendirilmesi sonucunda *A. drancunculus L.*' nin etanolik ekstresinin doza bağlı olarak ratlarda CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarını azalttığı ön görülmüştür. Buna bağlı olarak *A. drancunculus*' un karaciğer hastalıklarının klinik tedavisinde doza bağlı destekleyici ve güçlendirici tonik bir madde olabileceğini düşündürmektedir. Bu öngörünün desteklenmesi için daha ileri klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

BÖLÜM 6

KAYNAKLAR

Akiyoshi, H., Terada, T. (1998). Mast Cell, Myofibroblast And Nerve Terminal Complexes In Carbon Tetrachloride-Induced Cirrhotic Rat Livers. *Journal of Hepatology*, **29**: 112-119.

Akkuş İ.; Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. (1995). 1.Baskı. Konya: Mimoza yayınları.

Anthony, P.P., Ihsak, K.G., Nayak, N.C. (1978). The Morphology Of Cirrhosis. *J Clinical Pathol.* **31**: 395-414.

Armbrust T., Batusic D., Ringe B. and Ramadari G. (1997). Mast cells distribution in human liver disease and experimental rat liver fibrosis. Indications for mast cell participation in development of liver fibrosis. *Journal of Hepotal.***26**:1042-1054.

Aslan D. (2005). Tietz, Klinik kimyada temel ilkeler, 5. Baskı:, 748-760.Ankara: Palme yayıncılık.

Aytekin Y., Solakoğlu S. (2006). Temel histoloji. **1**:332-347. Ankara: Nobel Yayınevi.

Balistreri W.F. and Rej R. (1996).Liver function,”Tietz textbook of clinical chemistry”, W.B. Saunders company, Pennsylvania, Philadelphia. pp: 562-563.

Bayram I., Ozbek H., Ugras S., Tuncer I., Reçber D. (2004). Askorbik asit ve Alfa-tokoferol’ün karbon tetraklorürle oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesi modelinde karacigeri koruyucu etkisi, *Van Tıp Dergisi* **11**(2): 32-38.

Benli M., Kaya I., Yigit N. (2007).Screening antimicrobial activity of various extracts of *Artemissia drancunculus L.*, *Cell biochem function*; **25**:681-686.

Bekerecioğlu M., Uğraş S., Dilek O.N. (1998). Serbest radikaller:Temel görüşler, biokimyası, fizyopatolojisi ve cerrahi ile ilgileri. *European Journal of Surgery*.**10**(3): 85-94.

Burton G. and Traber M. (1989). Antioxidant actions of carotenoids. *Journal of Nutr* **119**, 109-111.

Comporti, M. (1985). Biology Of Disease Lipit Peroxidation And Cellular Damage InToxic Liver Injury. *Journal of Toxicology.* **53**: 599-623.

Cook N.C. and Samman S. (1996).Flavonoids chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources.*Journal of Nutr Biochem*, **7**: 66-76.

Cross C.E., Halliwell B., Borish E.T. (1987). Oxygen radicals and human disease. *Ann intern med.* **107**:526-45.

De-oliveira A.C., Riberio-Pinto L.F., Otto SS., Goncalves A., Paumgartten F.J. (1997). Induction of liver monooxygenases by beta-myrcene. *Journal of Toxicology* **26**:135-40.

Diplock A.T. (1991). Antioxidant nutrients and disease prevention: An overview. *J Clin Nutr* **53**: 189-193.

Dixon D.P., Davis B.G., Edwards R. (2002). Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants: identification of two classes with putative functions in redox homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* **277**: 30859–30869.

Dmitry G., Sithes L., Yanxin W., Debora E., Slavko K., David R., Alexander P., Zhong W., William T. Cefalu, and Ilya R. (2007). Polyphenolic compounds from *Artemisia dracunculus* inhibit PEPCCK gene expression and gluconeogenesis in an H4IIE hepatoma cell line.

Doi K., Kurabe S., Shimazu N. and Inagak M. (1991). Systemic histopathology of rats with CCl₄ induced hepatic cirrhosis. *Laboratory animals*, **25**: 21-25.

Elizabeth M.Brunt. (2001). Steatohepatitis: definition and pathology. *Seminars in liver disease.* **21(1)**:3-16.

Engin A., Altan N., Işık E. (2005). Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism, *J. biochemistry.* **6(1)**, 35-40.

Erbengi T. (2002). Histoloji 2; İstanbul: Beta Basım Yayın Dağıtım A.Ş., 99-121.

Fang Y.Z., Yang S., Wu G. (1992). Free radicals, antioxidants and nutrition. *J. biochemistry.* **18**:872-879.

Fischer A., Poulsen H.E., Hansen B.A., Hage E. and Keiding S. (1991). CCl₄ cirrhosis in rats: irreversible histological changes and differentiated functional impairment. *Journal Hepatology* **12**: 110-117.

Freeman B.A. and Crapo J.D. (1982). Free radicals and tissue injury. *J. biochemistry.* **47**:412-426.

Foulis P.R., Sandford B.H., Gottfried M. (1988). Drug induced morphologic changes in the liver. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **18**: 215-228.

Geier, A., Kim, S.K., Gerloff, T. (2002). Hepatobiliary organic anion transporters are differentially regulated in acute toxic liver injury induced by carbon tetrachloride. *Journal of hepatology.* **37**: 198-205.

Göker B. ve Özmen R. (2009). Sıçanlarda ısırgan otu yaprağıyla beslenmenin akut karbon tetraklorür uygulamasına bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisi, *F.Ü. Sağlık Bil. Derg.* **23(2)**: 77-80.

Gross, J.B., Reichen, J., Zeltner, T.B. (1987). The evolution of changes in quantitative liver function tests in a rat model of biliary cirrhosis: correlation with morphometric measurement of hepatocyte mass. *Journal of hepatology*. **7**: 457-463.

Guissepe, M. (2004). Campo hyaluronic acid and chondroitin-4-sulphate treatment reduces damage in carbon tetrachloride-induced acute rat liver injury. *Life sciences*; **74**: 1289-1305.

Gürün M.S. (2004). Bitkisel Tıp. *Ankem Dergisi* 18. Cilt (2):37-55.

Güzel C. (1996). Bir organ olarak karaciğer, “Tıbbi Fizyoloji”, (Guyton and Hall textbook of medical physiology). Cilt no:884. İstanbul, Nobel Kitabevi.

Hatungil R. (2002). Serbest radikallerin yol açtığı doku hasarları. *Mersin Üniversitesi Tıp. Fak. Der.* **3**:460-469.

Halliwell B. (1987). Oxidant and human disease: Some new concepts. *FASEB J*; **1**: 358-364.

Jerry P., Liu L., Zeng M., Stamler J.S. (2000). An apoptotic model for nitrosative stress, *Journal of Biochemistry*, **39**: 1040-1047.

Junqueira L.C., Corneiro J., Kelley R.O. (1998). Temel Histoloji; **15**: 307-319. Barış Kitapçılık.

Kayalı H. (1992). Özel histoloji; *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi*; **2**:140-151.

Kavas (Özelçi) G. (1989). Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri*; **9(1)**: 1-8.

Kehrer J.P. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit. Rev Toxicol*, **23**: 21-48.

Kierszenbaum A.L. (2002) Histology and cell biology, USA, 1.Ed. Mosby.

Kuray Ş. (2006). The Merck manuel, Cecil Essentials of medicine, NMS Internal medicine, Allen R. Myers.

Kurikawa N., Suga M., Kuroda S., Yamada K., Ishikawa H. (2003). An angiotensin II type I receptor antagonist, olmesartan medoxomil, improves experimental liver fibrosis by suppression of proliferation and collagen synthesis in activated hepatic stellate cells. *Br J Pharmacol*; **139**:1085-94.

Lee R.G. (1994). Fibrosis and cirrhosis. Diagnostic liver pathology. *Journal of hepatology*. **1**:208-304.

Lee, J II., Lee, KS., Paik, YH. (2003). Apoptosis Of Hepatic Stellate Cells In Carbon tetrachloride Induced Acute Liver Injury Of The Rat: Analysis Of Isolated Hepatic Stellate Cells. *Journal of Hepatology*, **39**: 960-966.

- Lieber, C.S. (1994). Alcohol and the liver. *Gastroenterology*. **106**:1085-1105.
- Liebert J., Matlawska I., Bylka W., Murias M. (2005). Protective effects of aquilegia vulgaris on APAP induced oxidative stress in rats, *J. Ethnopharm.* **97**: 351-358.
- Lott J.A. and Wolf P.L. (1986). Alanine and aspartate aminotransferase. *Clinical enzymology*.
- Lu K.L., Tsai C-C., Ho L-K. (2002). Preventive effect of the Taiwan Folk Medicine *Ixeris laevigata* Var. *Oldhami* on α -Naphthyl-Isothiocyanate and carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rat. *Phytother. Res.*, **16**:45-50.
- MacDonald-Wicks, L.K., Garg, M.L. (2003). Vitamin E supplementation in the mitigation of carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Journal of nutritional biochemistry*. **14**: 211-218.
- Maccay P.B., Lai E.K., Payer J.L., Dubose, C.M. and Janzen E.G. (1984). Oxygen and carbon centered radical formation during carbon tetrachloride metabolism. *J.Biol. Chem.* **259**:2135-2143.
- Masaiki N., Yamada S., Orgata I., Ohta Y. and Fujiwara K. (1998). Enhancement of carbon tetrachloride induced liver injury by glucagon and insulin treatment. *Res Exp.Med.* **188**:27-33.
- Mayne P.D. (1992). Clinical chemistry in diagnosis and treatment, Oxford University Press, New York.
- Meram İ. ve Aktaran Ş. (2002). Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri. *Arşiv* **11**: 299-304.
- Moghaddam, A.P., Eggers. J.S., Calabrese, E.J. (1998). Evaluation of sex difference of tissue following acute carbon tetrachloride toxicity in male and female Sprague-Dawley rats. *J.Toxicology*. **130**: 95-105.
- Montfort, I. and Tamayo R.P. (1978). Collagenase In Experimental Carbon tetrachloride Cirrhosis Of The Liver. *J. Pathol.* **92**: 411-419.
- Nadkarni G.D. and Souza N.B. (1988). Hepatic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in carbon tetrachloride induced liver cirrhosis in rats, *Biochem Med and Met Biol*, **40**: 42-50.
- Nanni, G., Majorani, F., Maloberti, G. (2000). Action Of Chronic CCl₄ On The Retinol And Dolichol Content Of Rat Liver Parenchymal And Non-Parenchymal Cells. *Life Sciences*; **67**: 2293–2304.
- Onori, P., Morini, S., Franchitto, A. (2000). Hepatic microvascular features in experimental cirrhosis: A structural and morphometrical study in CCl₄-Treated rats. *Journal of hepatology*. **33**: 555-563.

Özdemir G. (1993).Reaktif oksijen partikülleri (ROP). Istanbul: *Roche Bilimsel Eserler Dergisi*; **1**:20-6.

Parmaksız M.A. (2007). Türkiye’de yetişen bazı bitkilerden elde edilen ekstrelerin sıçanlarda oluşturulmuş karaciğer hasarına karşı etkileri, 4-5.

Perez-Tamayo R. (1983). Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl₄ and adequate model of human cirrhosis. *Journal of hepatology*. **3**: 112-120.

Ribnicky D.M, Poulev A, O’Neal J, Wnorowski G, Molek D.E, Jager R, Raskin I. (2004). Toxicological evaluation of the ethanolic extract of *Artemissia dracunculus* for use as a dietary supplement and in functional foods. *Journal of hepatology***42**: 585-598.

Ribnicky DM, Kuhn P, Poulev A, Logendra S, Zuberi A, Cefalu WT, Raskin I. (2008). Improved absorption and bioactivity of active compounds from an anti-diabetic extract of *Artemissia dracunculus*. *Int J Pharm*. **31**:87-92.

Riley T.R and Bhattı A.M. (2001). Preventive strategies in chronic liver disease: Cirrhosis. *Am Fam Physician*, **64**:1735-1740.

Robbins S.L., Cotran R.S., Kumar V. (2000). Basic pathology. **6**:516-9. W.B. Philadelphia. Saunders Company.

Senturk H., Canbakan B., Hatemi I. (2004).Karaciğer enzim yüksekliklerine klinik yaklaşım, *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak.Derg*. **38**:9-13.

Sinclair A. J., Barnett A. H., and Junec J. (1990). Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *British Journal Hosp. Med*. **43**:334-344.

Sies H. (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application, *JournalMed*.**91**:31-38.

Sherlock S. (1986). The spectrum of hepatotoxicity due to drugs, *Journal of hepatology*. **2**: 440-444.

Sherlack S. and Doaley J. (1997).Diseaes of the liver and biliary system.Hepatic cirrhosis.London*Black well Science*. **9**:371-383.

Shimiziu I. (2003). Impact of estrogens on the progression of liver disease, liver international, *Journal of hepatology*. **23** (1): 63-69.

Sodergen E. (2000). Lipid peroxidation in vivo, Uppsala Universty, Uppsala.

Solomon E.P. (1992). Intruduction to human anatomy and physiology, *Journal of Biochemistry* **1**:217-218, 1992.

Sonsuz A. (2007). Karaciğer fonksiyon bozukluklarına klinik yaklaşım; *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi* **58**:69-78.

Sun, F., Hamagawa, E., Tsutsui, C. (2001). Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by carbon tetrachloride in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta*; **1535**: 186-191.

Tekelioglu M. (2002). Özel Histoloji; **3**:53-54. Ankara: ANTIP Yayınları.

Thomas H., Sciadht L., Knehr M., Oesch F. (1989). Effect of diabetes and starvation on the activity of rat liver epoxide hydrolases, glutathione S transferases and peroxisomal beta-oxidation. *Biochem Pharmacol*. **38**: 4291-4297.

Thomas M.J. (1995). The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working. *Crit Rev Food Sci Nutr* **35(182)**: 21-39.

Thrall K.D., Vucelick M.E., Gies R.A. (2000). Comparative metabolism of carbon tetrachloride in rats, mice and hamsters using gas uptake and PBPK modeling. *J Toxicol Environ Health*. **60**: 531-548.

Torun M. ve Yardım S. (1993). Serbest radikallerin kalp damar hastalıkları ile ilişkisi ve savunma mekanizmaları. *FABAD J Pharm Sci*. **18**: 173-184.

Uchida K., 4-Hydroxy-2-Nonenal: A product and mediator of oxidative stress, *Progr. Lip. Res.*, **569**: 1-26, 2003.

Ulus N., Sahilli M., Avcı A., Canbolat O., Ozansoy G., Ari N., Bali M., Stefek M., Stolc S., Gajdosik A., Karasu C. (2003). Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E., *Biochem. Pharmacol* **28(6)**: 815-823.

Üstündağ B., Bahçecioğlu İ.H., Şahin K., Gülcü F., Düzgün S., Özeran İ.H., Gürsu M.F. (2005). *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, **19(4)**:263-271.

Wang H., Weit W., Wang N.P. (2005). Melatonin ameliorates carbon tetrachloride induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stress. *Life Sciences*. **77**:1902-1915.

Weber L.W., Boll M., Stampf A. (2003). Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol*. **33**: 105-136.

William A., Sodeman J.R., Thomas M. (1992). Pathophysiology. Çeviri: Hekimler Birliği Vakfı, Türkiye Klinikler Yayınevi, Ankara, **2**: 954-956.

Zhong Q., Wang, David Ribnický, Xian H., Zhang, Ilya Raskin, Yongmei Yu, William T. Cefalu. (2008). Bioactives of *Artemisia drancunculus* enhance cellular insulin signaling in primary human skeletal muscle culture, *Bioc. Pharmacol* **57**:58-64.

<http://www.dogaltedavi.net>