

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARACİĞER TOKSİKASYONUNDA *SILYBUM*
MARIANUM VE *TARAXACUM OFFICINALE*
EKSTRATLARININ BAZI BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER VE HİSTOPATOLOJİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Ali KARAKUŞ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

DANIŞMANLAR

1. DANIŞMAN

Prof. Dr. Yeter DEĞER

2. DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Serkan YILDIRIM

VAN-2014

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARACİĞER TOKSİKASYONUNDA *SİLYBUM*
MARIANUM VE *TARAXACUM OFFICINALE*
EKSTRATLARININ BAZI BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER VE HİSTOPATOLOJİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Ali KARAKUŞ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

DANIŞMANLAR

1. DANIŞMAN

Prof. Dr. Yeter DEĞER

2. DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Serkan YILDIRIM

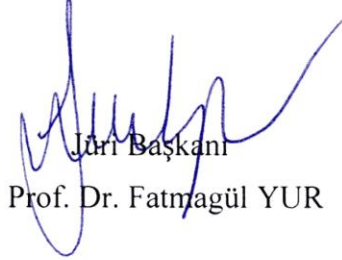
VAN-2014

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2014-SBE-D038 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

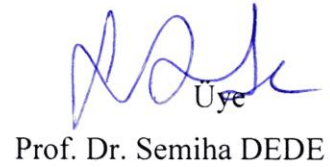
T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

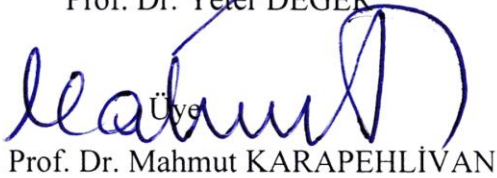
**KARACİĞER TOKSİKASYONUNDA *SILYBUM*
MARIANUM VE *TARAXACUM OFFICINALE*
EKSTRATLARININ BAZI BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER VE HİSTOPATOLOJİ ÜZERİNE ETKİSİ**

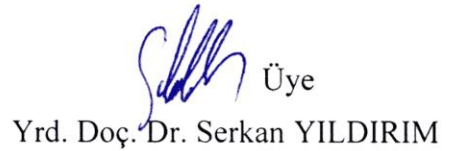
Ali KARAKUŞ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ


Jüri Başkanı
Prof. Dr. Fatmagül YUR


Üye
Prof. Dr. Yeter DEĞER


Üye
Prof. Dr. Semiha DEDE


Üye
Prof. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN


Üye
Yrd. Doç. Dr. Serkan YILDIRIM

TEZ KABUL TARİHİ

14/10/2014

TEŐEKKÖR

Tez çalıőmam sırasında yol gōsteren, tezin yapılmasında bŸyŸk katkıları olan ve desteğini esirgemeyen Danıőman Hocalarım Sayın Prof. Dr. Yeter DEęER ve Yrd. Doç Dr. Serkan YILDIRIM'a, Anabilim Dalı Baőkanımız Sayın Prof. Dr. FatmagŸl YUR'a, Anabilim dalımız ōęretim Ÿyeleri olan Sayın Prof. Dr. Nihat MERT, Prof. Dr. Semiha DEDE ve Prof. Dr. Handan MERT'e, Anabilim dalı Araőtırma Gōrevlisi Sedat ÇETİN'e, beni her zaman destekleyen değerli aileme, en zor zamanlarımda yanımda olan sevgili eőim Őęretim Gōrevlisi Sinem KARAKUő'a ve mali destek sağlayan YŸzŸncŸ Yıl Ūniversitesi Bilimsel Araőtırma Projeleri Baőkanlıęına teőekkŸrlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
Teşekkür.....	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VI
Tablolar Listesi.....	VIII
Şekiller Listesi.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Karaciğer.....	4
2.1.1. Karaciğerin anatomisi.....	4
2.1.2. Karaciğerin fonksiyonları.....	5
2.1.3. Karaciğer hasarının değerlendirilmesi.....	6
2.1.4. Karaciğer hasarındaki histopatolojik bulgular.....	6
2.2. Karbontetraklorür.....	6
2.2.1. Karbontetraklorür'ün karaciğer üzerine etkisi.....	7
2.3. Malondialdehit (MDA).....	8
2.4. Antioksidanlar.....	9
2.4.1. Antioksidanların sınıflandırılması.....	10
2.4.1.1. Enzimatik antioksidanlar.....	10
2.4.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	11
2.5. Flavonoidler.....	12
2.5.1.. <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertner (<i>Carduus marianus</i> L.) türü.....	12
2.5.1.1. <i>Silybum marianum</i> 'un kimyasal bileşimi	13
2.5.2.. <i>Taraxacum officinale</i> G .H. Weber-Ex.Wiggers türü.....	14
2.5.2.1. <i>Taraxacum officinale</i> 'nin kimyasal bileşimi.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Gereç	17
3.1.1. Hayvan materyali.....	17
3.1.2. Analizlerde kullanılan cihaz ve malzemeler.....	17

3.1.3. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler.....	18
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması.....	19
3.2.2. Kan örneklerinin alınması ve analizleri.....	20
3.2.3. Doku örneklerinin alınması ve analizleri.....	21
3.2.4. Karaciğer doku örneklerinin histopatolojik analizleri.....	26
3.3. İstatistik Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Seruma Ait Biyokimyasal Bulgular.....	27
4.2. Karaciğer Dokusuna Ait Biyokimyasal Bulgular.....	30
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	38
ÖZET.....	51
SUMMARY.....	52
KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	63
EKLER.....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	: Adenozindifosfat
ALT	: Alanin aminotransferaz
AOA	: Antioksidan aktivite
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATP	: Adenozintrifosfat
CCl₃[·]	: Triklorometil radikali
CCl₃OO[·]	: Triklorometil peroksit
CCl₄	: Karbontetraklorür
CDNB	: 1-kloro-2,4-dinitrobenzene
CoA	: Koenzim A
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DTNB	: 5.5'-2-ditiyo-bis-2-benzoik asit
DTT	: Dithiothreitol
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
FAD	: Flavın adenin dinükleotit
G	: Gram
GMP	: Guanozin monofosfat
GP_x	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Redükte glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon S-transferaz
H[·]	: Hidrojen

HO₂•	: Perhidroksi radikal
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
Ig	: İmmünoglobülin
İp	: İntraperitonal
LHD	: Laktat dehidrogenaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
MES	: 2-(<i>N</i> -morpholino) ethanesulfonic asit
mg/kg	: Miligram/kilogram
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin difosfat hidrojen
ng	: Nanogram
nm	: Nanomol
PBS	: Phosphate buffered saline
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
Tris-HCl	: Tris-hydroxymethyl-aminomethane hydrochloride

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.	Antioksidanlar.....	10
Tablo 2.	Kontrol ve deneme gruplarına ait serum ALT, AST ve LDH enzim aktivitelele.....	27
Tablo 3.	Kontrol ve deneme gruplarına ait karaciğer dokusu MDA, GSH düzeylele ve GP _x , GST, GR enzim aktivitelele.....	30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Karaciğer anatomisi.....	4
Şekil 2.	Karbontetraklorür.....	7
Şekil 3.	Karbontetraklorür metabolizması ve reaktif metabolitlerin oluşumu.....	8
Şekil 4.	Lipit peroksidasyonu.....	9
Şekil 5.	<i>Silybum marianum</i> 'un bitki, çiçek ve tohum kısımları.....	13
Şekil 6.	<i>Taraxacum officinale</i>	15
Şekil 7.	MDA standart eğrisi.....	22
Şekil 8.	Deney gruplarındaki ratlara ait serum ALT aktiviteleri.....	28
Şekil 9.	Deney gruplarındaki ratlara ait serum AST aktiviteleri.....	29
Şekil 10.	Deney gruplarındaki ratlara ait serum LDH aktiviteleri.....	29
Şekil 11.	Deney gruplarına ait karaciğer dokusu MDA düzeyleri.....	31
Şekil 12.	Deney gruplarına ait karaciğer dokusu GSH düzeyleri.....	31
Şekil 13.	Deney gruplarına ait karaciğer dokusu GP _x aktiviteleri.....	32
Şekil 14.	Deney gruplarına ait karaciğer dokusu GST aktiviteleri.....	33
Şekil 15.	Deney gruplarına ait karaciğer dokusu GR aktiviteleri.....	33
Şekil 16.	Kontrol (K) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı.....	34
Şekil 17.	<i>Silybum marianum</i> (SM) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı.....	35
Şekil 18.	<i>Taraxacum officinale</i> (TO) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı.....	35
Şekil 19.	CCl ₄ (C) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı.....	36
Şekil 20.	CCl ₄ (C) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı.....	36
Şekil 21.	<i>Silybum marianum</i> + CCl ₄ (SM + C) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı.....	37
Şekil 22.	<i>Taraxacum officinale</i> + CCl ₄ (TO + C) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı	37

1. GİRİŞ

Vücutun en büyük organlarından biri olan karaciğer diyafragmanın altındaki abdominal boşlukta yerleşmiş olup, ağırlığı yaklaşık 1,5 kg kadardır. Karaciğer, sindirim kanalından emilen besinlerin işlendiği ve vücudun diğer kısımları tarafından kullanılmak üzere depolandığı bir organdır. Bu yüzden sindirim sistemi ile kan arasında bir geçiş bölgesi oluşturmaktadır. Karaciğer metabolitlerin bir araya getirilmesi, dönüştürülmesi, biriktirilmesi ve toksik maddelerin zehirsizleştirilmesi ve atılımı gibi pek çok işleve sahiptir (Blumenthal, 2000; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Karaciğerde çeşitli patolojik tablolara yol açan 600'den fazla etkenden biri de karbontetraklorür (CCl₄)'dür (Burtis ve Ashwood, 1999). CCl₄ endüstriyel bir çözücü olarak özellikle kuru temizleme sanayi başta olmak üzere birçok alanda sıkça kullanılan, karaciğer üzerine toksik etkisi olan bir kimyasaldır. CCl₄ karaciğerde mitokondrial monooksijenaz (P450 2E1) sistemince metabolize edilmektedir. Bu esnada oluşan serbest radikaller hücre membranlarındaki fosfolipitlerde bulunan yağ asitlerinin peroksidasyonuna yol açarak hücre harabiyetine neden olurlar (Handa ve Sharma, 1990; Wu ve ark., 1999; Weber ve ark., 2003; Lee ve ark., 2007).

Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunun (LPO) son ürünü olarak malondialdehit (MDA) meydana gelmektedir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (Mercan, 2004).

Çeşitli etkiler sonucu karaciğerde meydana gelen hepatosellüler zedelenmenin tanısı, seyri ve uygulanan tedavinin cevabının izlenmesi için spesifik olan testler alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH) enzimlerinin aktivitelerinin ölçümüne başvurulur (Govri ve ark., 2008; Yang ve ark., 2013).

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya ekzojen nedenlerle oluşan, serbest radikaller ve bunlara bağlı olarak gelişen oksidatif stres ile m¼cadele eden antioksidan savunma sistemine sahiptir. Özellikle karaciğerde glutatyon (GSH) ve glutatyon metabolizması ile ilişkili olan glutatyon perosidaz (GP_x), glutatyon S-tarnsferaz (GST), glutatyon red¼ktaz (GR) enzimleri bu sistemde önemli yer tutmaktadır (Baudrimont ve ark., 1997).

Çeşitli nedenlere bağlı olarak meydana gelen karaciğer endikasyonlarının tedavisinde kolegog, koleretik, kolesistokinetik, hepatoprotektif ve antikanserojenik etkili ilaçlara gereksinim duyulmaktadır. Aynı zamanda halk arasında bu hastalıkların tedavisinde bitkisel ve hayvansal kaynaklı ilaçlar eski zamanlardan beri kullanılmaktadır (Blumenthal, 2000).

Tıbbi bitkiler, fitoterapinin g¼n¼m¼z modern tıp içerisindeki öneminin artmasıyla, v¼cudun antioksidan mekanizmasına destek vermek ve serbest radikallerin oluşturabileceği hastalıklara ve rahatsızlıklara karşı profeksi oluşturulması için sıklıkla kullanılmaktadır (Zheng ve Wang, 2001; Miliuskas ve ark., 2004). Yapılan araştırmalarda tıbbi bitkilerin antioksidatif etkinliğinin y¼ksek olduğunu göstermiştir (Czinner ve ark., 2000; Mrino ve ark., 2007). Bu nedenle önemli karaciğer rahatsızlıklarının giderilmesi veya önlenmesi için tıbbi bitkiler, her geçen yıl artan oranda kullanılmaya başlanmıştır (Harish ve Shivanandappa, 2006).

D¼nyanın değişik bölgelerinde karaciğer hastalıklarında proflektik veya tedavi amaçlı olarak yararlı fitokimyasallar içeren *Silybum marianum* (L.) Gaertner, *Cynara scolymus* L., *Taraxacum officinale* Weber, *Angelica archangelica* L. gibi bitkiler tek başlarına yada kombine olarak kullanılmaktadır (Aktay ve ark., 2000).

Silybum marianum L. (deve dikenini) ok eski zamanlardan beri çoğunlukla sindirim sistemi problemlerinde ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Blumenthal ve ark., 1998; Simanek ve ark., 2001; Fraschini ve ark., 2002). Silibinin, *Silybum marianum* bitkisinden elde edilen ve silimarin adı verilen flavonolignan karışımı içindeki başlıca bileşiktir. Silimarin otuz yılı aşkın bir s¼redir klinik olarak alkole bağlı karaciğer hastalıklarının tedavisinde ve anti-hepatotoksik

ajan olarak kullanılmaktadır (Özgüven ve Koçak, 1989; Saller, 2001; Şentürk ve ark., 2010). Fakat silimarinin asıl aktivitesi; içerdiği flavanolignanlar ve diğer polifenolik bileşikler ile antioksidan özellik göstermesi ve buna bağlı olarak serbest radikal tutucu işlevinin bulunmasıdır (De Groot ve Rauen, 1998).

Taraxacum officinale Weber (karahindiba) kökünün en önemli bileşenlerinden biri olan inülin, karaciğer yaralanmalarında karaciğere koruyucu etki ettiği gösterilmiştir. *Taraxacum officinale* bitki ekstratı yapısında bulunan laktonlar, triterpen, steroller, flavonoidler, fenolik asitler gibi bileşikler sayesinde antioksidan özellik göstermektedir (Amim ve ark., 2013). *Taraxacum officinale* bitkisi genellikle karaciğer ve safra rahatsızlıklarında kullanılmasına rağmen, bitkinin bazı bileşenlerinin idrar söktürücü, müshil, safra söktürücü, anti romatizmal, iltahap sökücü, kanser önleyici gibi hastalıklar üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Schutz ve ark., 2006; Domitrovic ve ark., 2010; Düzcan, 2010).

Deneysel olarak yapılan çalışmalarda CCl₄ uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunda oksidatif hasar ve histopatolojik değişikliklerin meydana geldiği bildirilmektedir.

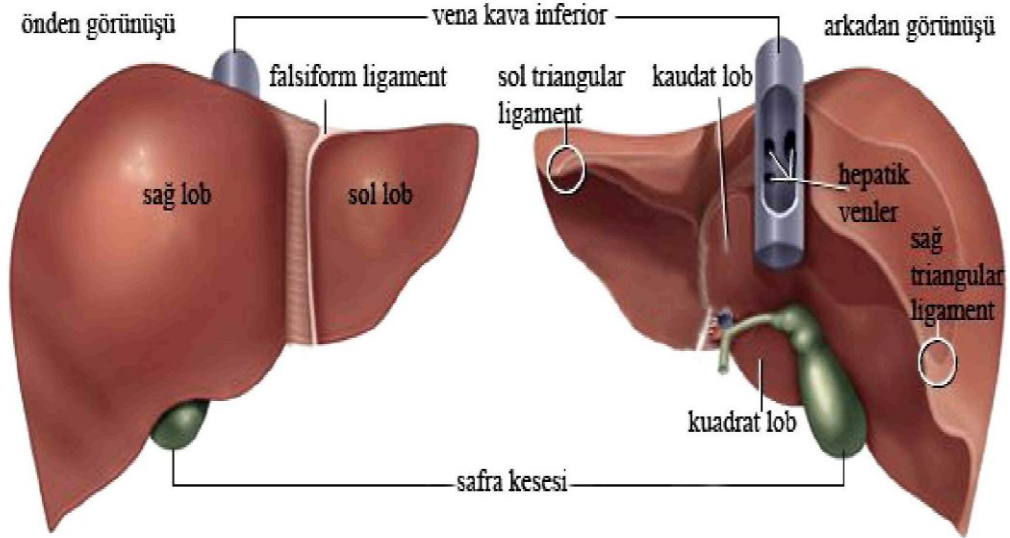
Yapılan bu çalışmada, antioksidan özellikleri kanıtlanmış olan *Silybum marianum* ve *Taraxacum officinale* bitki ekstraktlarının deneysel karaciğer toksikasyonunda serum ALT, AST, LDH enzim aktiviteleri, karaciğer dokusu MDA, GSH seviyeleri, GST, GR, GPx enzim aktiviteleri ile histopatoloji üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

2.1.1. Karaciğerin anatomisi

Birçok önemli biyokimyasal fonksiyonun merkezi konumunda olan karaciğer vücudun deriden sonra en büyük organıdır (Junquera ve Carnerio, 2003). Yaklaşık 1200-1600 gr ağırlığında olup, yetişkinde vücut ağırlığının %2 sini oluşturmaktadır (Menteş, 1993). Karaciğer sağ 7-11'nci kaburgaların arkasında olup diyaframın altında, sağ üst ve sol üst kadrantındadır. Diyafram karaciğeri, plevra, akciğer, perikard ve kalpten ayırır. Bağ dokusundan oluşmuş bir kapsül olan Glisson kapsülü ile sarılıdır. Glisson kapsülü aynı zamanda karaciğer damarları çevresinde organ içerisine uzantılar göndererek organı lobüllere ayırır. Karaciğer topografik olarak epigastriumun büyük bölümü, sağ hipokondrium ve sol hipokondriumun üst kısmının medialini kaplamaktadır (Solomon, 1997; Arıncı ve Elhan, 2001; Dursun 2001; Sancak ve Cumhuriyet, 2004; Ilanchezhian ve Roshy, 2010).



Şekil 1. Karaciğer anatomisi (Anonim, 2014a)

2.1.2. Karaciğerin fonksiyonları

Karaciğer, metabolizmanın düzenlenmesi ve uyum içerisinde işlemesi için gerekli birçok yaşamsal fonksiyona sahiptir (Karagül ve ark, 2000; Solomon, 1997).

Bu fonksiyonların başlıcaları;

1. Yabancı veya toksik maddelerin nötralize edilmesi ve atılımı,
2. İlaçların inaktivitesi, metabolizması ve atılımı,
3. Karbonhidrat metabolizmasında; glukoneogenez ve glikojen sentezi,
4. Lipit metabolizmasında; yağ asidi sentezi, kolesterol sentezi ve atılması, lipoprotein sentezi, ketogenez, safra asitlerinin sentezi ve vitamin D'nin aktivasyonu,
5. Protein metabolizması; pıhtılaşma faktörleri ve bir kısım immunglobülinlerde olduğu gibi plazma proteinlerinin sentezi ve üre sentezi,
6. Tiroid, steroid ve diğer hormonların başlıca katabolizma yeri ve plazma hormon düzeylerinin düzenlenmesi,
7. Bilirubinün glukuronik asitle konjugasyonu ve atılımı,
8. Bazı vitaminlerin (A, B₁₂, D, E ve K) ve minerallerin (bakır ve demir) depolanması,
9. Vücudun enerji kaynaklarının üretimi: Karaciğerin önemli özelliğinden biri enerji kaynağı olan glukozu üretmesidir. Karaciğer kandaki glukoz oranını devamlı kontrol eder ve beslenme sırasında alınan glukozu, glikojene çevirerek depolar. Kandaki glukoz miktarı düşmeye başlayınca, karaciğer depoladığı glikojeni tekrar glukozla çevirerek kana verir ve böylece kandaki glukoz düzeyinin düşmesinin engellenmesini sağlar.
10. Kendi kendini onarabilir: Kendini yenileme özelliği vardır ve bir kısmı tahrip olduğunda kalan diğer hücreler hemen çoğalarak eksik kısmı tamamlar. Ölen ve zedelenen hücreler ortamdaki uzaklaştırılır. Bir karaciğer hücresi yaklaşık 500'den fazla işlemi yapabilecek kapasitededir ve bu işlemleri aynı anda yapabilmektedir.
11. Bakterileri temizler: Karaciğerdeki kupffer hücreleri, bağırsaktan gelen bakterileri ortadan kaldırırlar.

2.1.3. Karaciğer hasarının değerlendirilmesi

Hepatosellüler zedelenmeyle ilişkili testler serum transaminazları veya aminotransferazları olarak adlandırılan, alanin aminotransferaz (ALT, serum glutamik- piruvik transaminaz SGPT), aspartat aminotransferaz (AST, serum glutamik- oksaloasetatik asit transferaz SGOT) enzimleridir. ALT esas olarak karaciğerde bulunurken, AST karaciğer dışında, iskelet ve kalp kaslarında, böbrekler, beyin, pankreas, akciğerler, lökositler ve eritrositlerde bulunur. ALT sitozolde, AST ise hem sitozolde hem de mitokondride bulunmaktadır. Transaminazlar normal hücre döngüsünü yansıtacak şekilde dolaşımda az miktarda bulunur, transaminazlardan zengin dokularda zedelenme durumunda serum düzeyleri yükselir. Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer zedelenmesi sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Sadece fulminan seyirli hepatitlerde artık nekroze olacak yeterli miktarda hepatosit kalmadığında düzeyleri normal hatta düşük olabilir ki; bu kötü prognoz belirtisidir (Navarro ve ark., 1998; Okar, 2011).

2.1.4. Karaciğer hasarındaki histopatolojik bulgular

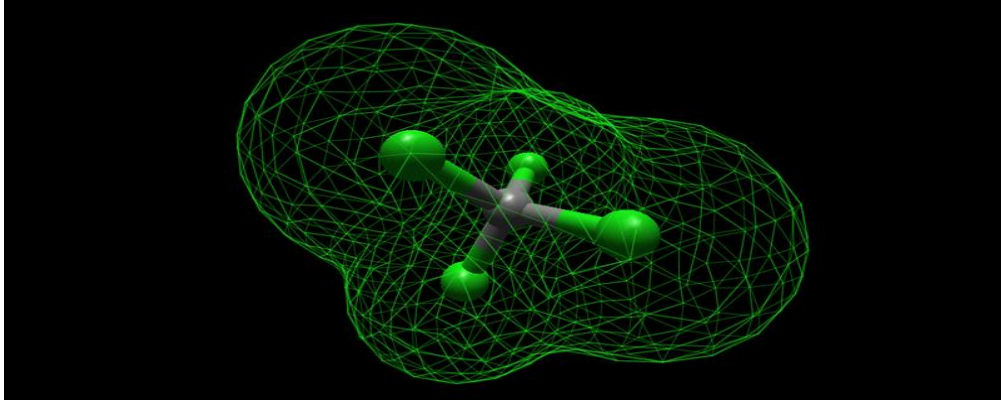
Karaciğer hasarlarının histolojik bulguları zehirlenme şiddetine, toksik maddenin türüne ve bu maddeye maruz kalma şekline bağlıdır. İlaçlar ve diğer kimyasal maddelerle meydana gelen karaciğer hasarları morfolojik geniş bir etki alanını kapsar ve karaciğer hastalıklarının hemen hemen tüm histolojik örnekleri gözlenebilir. Bu durumlar kolestaz, steatoz, hepatitler, dejenerasyon, nekroz, fibrozis, siroz, vasküler bozukluklar ve neoplazidir (Chisari ve Ferrari, 1995; Sturgill ve Lambert, 1997; Li ve Friedman 1999; Robbins ve ark., 2000; Kutlu, 2006; Tümğör ve ark., 2005; Üstüner, 2006; Fu ve ark., 2008; Domitrovic ve ark., 2009).

2.2. Karbontetraklorür (CCL₄)

Karbontetraklorür (CCL₄) deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan bir ksenobiyotiktir ve mitokondriyal monooksijenaz (P450 2E1) sisteminde metabolize edilir. Metabolizma esnasında öncelikle stabil olmayan başlangıç metaboliti triklorometil (CCl₃) serbest radikali oluştuktan sonra lipit ve

proteinler ile kovalent bağlar oluşturarak hızla triklorometil peroksite (Cl_3COO^-) veya hidrojen atomlarını kaybetmiş olan kloroform formuna dönüşür. Daha sonra sekonder olarak oluşan konjuge dien, lipit hidroperoksit ve malondialdehit gibi yapılar ile kısa zincirli karbonhidratlar oluşmaktadır. Oluşan bu serbest radikaller hücre membranlarındaki fosfolipitlerde bulunan yağ asitlerinin peroksidasyonuna yol açarak hücre harabiyetine yol açmaktadır (Robbins ve ark., 2000; Üstündağ ve ark., 2005).

CCl_4 'e bağlı karaciğer hasarında meydana gelen lipit peroksidasyonu oldukça önemlidir. Çünkü bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreç sonunda karaciğer fibrozu ve siroz oluşabilir (Üstündağ ve ark., 2005).

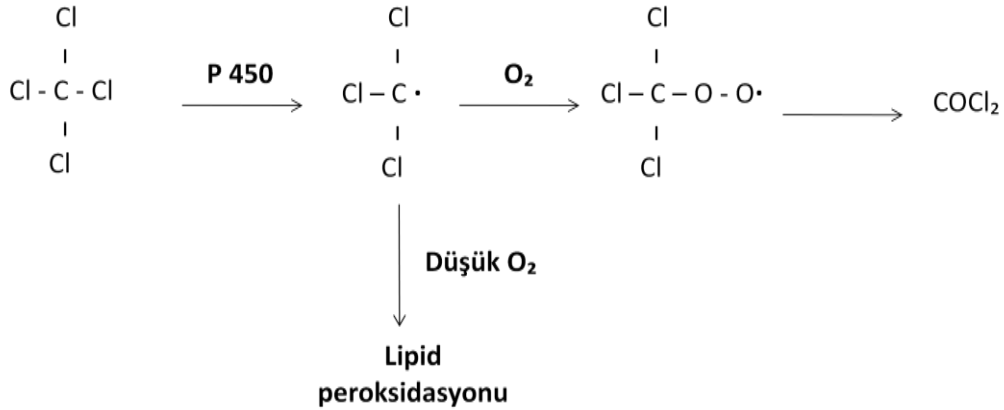


Şekil 2. Karbontetraklorür (Anonim, 2014b)

2.2.1. Karbontetraklorür'ün karaciğer üzerine etkisi

CCl_4 karaciğerde hasar dahil çeşitli patolojik zarara yol açan maddelerden biridir. CCl_4 zehirlenmesinden ölümün en sık nedeni akut karaciğer yetmezliğidir (Robbins ve ark., 2000). İnsanlarda olduğu gibi deney hayvanlarında da hepatotoksisite oluşturan toksik bir maddedir (Lee ve ark., 2007). Bu hasarların oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluştuğu bilinmektedir. Serbest radikallerin lipit peroksidasyonu ve başka yollarla hepatosit membranını hasarlayabilecekleri *invivo* ve/veya *invitro* ortamlarda deneysel olarak ortaya konmuştur (Foulis ve ark., 1988; Sherlock, 1986).

CCl_4 'ün toksikasyonu sonucunda karaciğerde lipit peroksidasyonunun başlatılan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile bir dizi olaylar zinciri başlar. Meydana gelen lipit hidroperoksidler, özellikle distal dokularda toksisiteye sebep olan aldehytlere dönüşür. Bundan dolayı hücre hasarı yalnızca endoplazmik retikulum, mitokondri ve lizozom gibi organellerin intrasellüler membran yıkımı ve plazma membranında hasar ile değil, aynı zamanda oluşan reaktif aldehytlere diğer dokulara taşınması ile de oluşabilir. Oluşan ürünler, hücrede birikerek hasarın daha da ağırlaşmasına sebep olurlar (Yılmaz ve Bahçecioglu, 2000; Üstündağ ve ark., 2005; Noyan ve ark., 2006; Adewole ve ark., 2007). Lipit peroksidasyonu, lipoprotein sentezi için gerekli olan yapılarada zarar vererek hepatik lipidozise yardımcı olmaktadır. Karaciğerde aşırı lipit birikimi sonucunda, organda fonksiyon bozukluğu ve siroza doğru ilerleyen hasarlar ortaya çıkmaktadır (Noyan ve ark., 2006; Adewole ve ark., 2007).

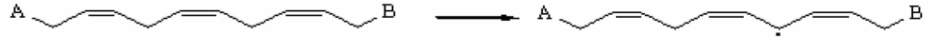


Şekil 3. Karbontetraklorür metabolizması ve reaktif metabolitlerin oluşumu (Wallace ve Meyer, 2010).

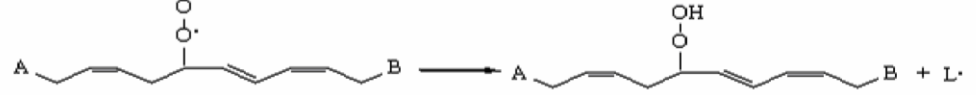
2.3. Malondialdehit (MDA)

Çoklu çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanmalarına ve polimerizasyonuna sebep olur. Ayrıca iyon transportu, enzim aktivitesi, deformabilite ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirebilir. Bunların dışında MDA, hücre membranından kolayca geçip, DNA iplikçiklerinde kopmalar meydana getirmektedir (Akkuş, 1995).

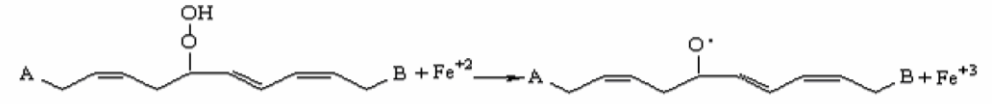
Başlama



Zincir Tepkimesinin İlerlemesi



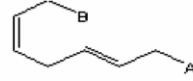
Zincir Dallanması



Parçalanma



Malondialdehit



Parçalanmış Lipit Peroksit

Şekil 4. Lipit peroksidasyonu (Wallace ve Meyer, 2010).

2.4. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu kontrol altında tutmak, bunların oluşturabilecekleri hasarı önlemek ve radikallerin temizlenmesini arttıran maddelere “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” denilmektedir. Bunlar, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak LPO’yu inhibe etmektedirler. Gelişmiş yapılu hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır (Scandalios, 2002; Stocker ve ark., 1987; Jensen, 2003).

2.4.1. Antioksidanların sınıflandırılması

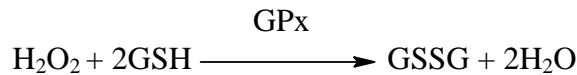
Tablo 1. Antioksidanlar (Scandalios, 2002).

Enzimatik Olan Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Glutasyon (GSH)	Melatonin
Glutasyon-S-transferaz (GST)	Flavonoidler	Seruloplazmin
Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	Askorbat (Vit. C)	Transferin
Süperoksit dismutaz (SOD)	β -Karoten (Vit. A)	Ferritin
Peroksidaz (PLGPx)	α -Tokoferol (Vit. E)	Laktoferrin
Katalaz (CAT)	Ürat	Albumin
Fosfalipit hidroperoksit glutasyon	Bilirubin	Lipoik asid

2.4.1.1. Enzimatik antioksidanlar

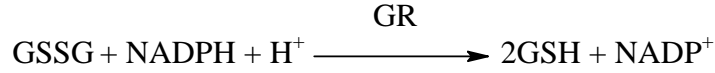
Enzimatik savunma sistemlerini suda çözerler ve sitoplazmadaki zararlı oksijen türevlerini ortadan kaldırırlar. Ayrıca serbest radikal zincir tepkimesinin başlaması için gerekli olan serbest radikal miktarını azaltılmasını sağladıkları için primer antioksidanlar olarak da isimlendirilirler (Gutteridge , 1995; Hsiao ve ark., 2001).

Glutasyon peroksidaz (GP_x: EC.1.11.1.9): Glutasyon peroksidaz (GP_x), hidroperoksitlerin indirgenmesinde sorumlu metallo enzimdir. Lipit peroksitlerini daha az toksik yağ asitlerine indirger. Oluşan hidrojen peroksit (H₂O₂), glutasyon peroksidaz ya da katalaz aracılığı ile suya indirgenir. Selenyum bağımlı glutasyon peroksidaz, H₂O₂ ve organik hidroperoksitlerin glutasyon tarafından indirgenmesinin katalize eden peroksidazlardan biridir (Basaga, 1990; Memişoğulları, 2005; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Fahmy ve ark., 2009).

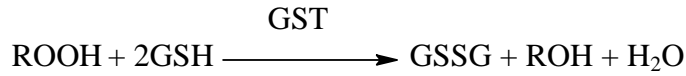


Glutasyon redüktaz (GR: EC.1.6.4.2): Hidroperoksitlerin indirgenmesi sırasında glutasyon (GSH) okside olur. Hücre içerisinde serbest radikallerin

detoksifikasyonunun devamlılığı için okside glutatyonun (GSSG) redükte formuna (GSH) geri dönüştürülmesi gerekir. NADPH'nın kullanıldığı bir reaksiyonla okside glutatyon, glutatyon redüktaz (GR) enzimi ile tekrar redükte GSH formuna çevrilir. Bunun için gerekli olan NADPH pentoz fosfat yolundan sağlanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2000; Dringen ve ark., 2005).



Glutatyon-S-transferaz (GST: EC 2.5.1.8): Glutatyon-S-transferazlar, hücrenel detoksifikasyon ve transporttan sorumlu iki protein alt birimden oluşan multifonksiyonel protein ailesidir. GST ailesi hepatositlerdeki başlıca detoksifiye edici sistemdir. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı GST'ler, selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi gösterirler (Halliwell ve Gutteridge, 2000; Dringen ve ark., 2005).



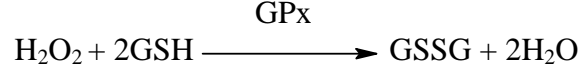
2.4.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik olmayan ancak antioksidan özelliğe sahip moleküller, reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği oksidatif strese karşı bazen enzimatik antioksidanlarla birlikte direnç gösterirlerken bazen de tek tek direnç gösterirler (Wood ve Simith, 1991).

Glutatyon (GSH): Glutatyon (GSH), en önemli enzimatik olmayan tripeptid yapıda ve tiyol içeren multifonksiyonel hücre içi antioksidandır (Nelson ve Cox, 2004).

GSH, aerobik koşullar altında normal büyümenin ve metabolizmanın sonucunda oluşan hidrojen peroksit ve diğer peroksitlerin uzaklaştırılmasında GPx antioksidan enzimi ile birlikte görev alır. GSH ve GPx, peroksitleri suya indirgeyerek

detoksifikasyonu gerçekleştirir ve hücreyi oksidatif hasara karşı korurlar (Ahmad, 1995).



Detoksifikasyon görevi dışında GSH, hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (Nelson ve Cox, 2004).

2.5. Flavonoidler

Flavonoidler, polifenol bileşikleri içerisinde yer alan ve heterosiklik piron veya piron halkası yardımıyla birleşmiş iki benzen halkasından oluşan yapılardır. Kimyasal yapılarına göre flavonoidler, flavonol (quercetin, kaempferol), flavanol (kateşinler), flavon (apigenin) ve isoflavon (genistein) olarak gruplandırılmaktadır (Young ve ark., 2006).

Flavonoidler ve diğer bitki fenolikleri süperoksit (O•), lipit alkoksil (RO•) ve peroksil (ROO•), nitrik oksit (NO) radikal temizleme, demir ve bakır şelasyonu, α - tokoferol rejenerasyonu fonksiyonlarına ek olarak; vazodilatatör, immünstimulan, antiallerjik, östrojenik, antiviral etkilere sahiptirler (Burak ve Çimen, 1999).

Fenolik antioksidanlar lipit radikallere, hızla H⁺ vermesi şeklinde lipit oksidasyonu ile etkileşir. Görevi lipit peroksi (ROO•) ve alkoksil (RO•) radikalini parçalamak ve böylece lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunu sonlandırmaktır (Burak ve Çimen, 1999; Young ve ark., 2006).

2.5.1. *Silybum marianum* (L.) Gaertner (*Carduus marianus* L.) türü

Bu bitki Almanya'da Meryem Ana'yı andıran dinsel bir sembol olarak görüldüğü için Meryemana Dikeni ismi verilmiştir. Kızılderililer ise bu bitkiye deve dikeni, kutsal diken olarak adlandırmışlardır (Tanker ve Tanker., 1998).



Şekil 5. *Silybum marianum*'un bitki, çiçek ve tohum kısımları (Anonim, 2014c)

2.5.1.1. *Silybum marianum*'un kimyasal bileşimi

En önemli bileşenleri flavonolignandan meydana gelen silimarin, taxifolin, quarcettrin, albumin, müsilajı sabit yağ ve acı maddelerdir. Meryemana Dikeni ekstratları % 70–80 silimarin içermektedir. Bu silimarin silybin, silydianin ve slychristin ihtiva eder. Bunların dışında % 25-30 sabit yağ, nişasta ve tanen bulunur. Silimarin bileşiklerinin karaciğer hücrelerinde ribozomal RNA moleküllerini sitimüle ederek protein sentezini arttırdığı sanılmaktadır. Aynı preparatlar mantar zehirlenmelerinde amonitin ve pholloidin alkaloidlerinin karaciğerde zehir etkisini önleyici olarak da kullanılmaktadır (Meriçli, 1984; Zeybek ve Zeybek, 1994; Acartürk, 1996; Tanker ve Tanker, 1998; Das ve Mukherjee, 2012).

Bu bitki üzerinde yapılan klinik araştırmalar ve deneyler sonucu içerisindeki kimyasalların karaciğerin hastalık ve problemlerinde tedavi edici ve karaciğeri kuvvetlendirici amaçlı kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Önceleri sadece Almanya'da sonrasında ise birçok Avrupa ülkesinde yapılan araştırmalarda, kronik hepatit, kolanjit, siroz ve birçok karaciğer hastalığında bu bitkide bulunan maddelerin kullanıldığı ortaya konmuştur. Meryemana Dikeni tüm karaciğer fonksiyonlarını destekler ve yeni karaciğer hücrelerinin oluşmasında yardımcı olur. Bu bitkinin içeriğindeki silibin maddesi aynı zamanda kuvvetli bir antioksidan olup sigara, alkol ve kirli hava ile alınmış olan zehirli maddeleri 'oksidatif zarar' sonucu üretilen serbest radikalleri etkisiz hale getirir (Zeybek ve Zeybek, 1994; Acartürk, 1996).

Silybum marianum tohumlarının karaciğer koruyucu etkiye sahip olan silimarin etken maddesi kısmen silikristin ve silidianin'den gelir. Bu bileşikler karaciğer hücresinin dış membranında toksin girişini ve bağlanmasını bloke ederler. Silibinin, süperoksit anyon radikalleri ve nitrik oksit üretimini azaltır, Kupffer hücrelerinin lökotrien formasyonunu inhibe eder. Silimarin karaciğer, bağırsak ve midede glutasyon üretimini artırır. Glutasyon karaciğerde hücrelerin detoksifikasyonu için kullanılır. Silibinin demir fazlasına bağlı hepatik ve mitokondrial glutasyon oksidasyonunu azaltır (Zeybek ve Zeybek, 1994; Acartürk, 1996).

Tohumlar silimarinin lökotrien üretimini azaltması sayesinde antiinflamatuvar etkinlik gösterir. Bir çalışmada drog, asetaminofen, cisplatin ve vinkristin harabiyeti görülen böbrek hücrelerinde koruyucu etkinlik göstermiştir. Silibinin ve silikristin böbrek hücrelerinde laktat dehidrogenaz enzimi aktivitesi, proliferasyon oranı ve protein biyosentezi üzerine dikkate değer stimüle edici etkinlik göstermiştir. Silibinin prostat spesifik antijenin (PSA) intraselüler ve salınmış formlarını azaltır, prostat kansinomlarında hücre büyümesini inhibe eder. Silibin tarafından uyarılmış G1(hepatositlerin hücre siklusuna girdiği faz) tutulması siklin-bağımlı kinaz (CDK'ler) aktivitesini azaltır ve antikarsinojenik etkinlik sağlar (Zeybek ve Zeybek, 1994; Acartürk, 1996).

2.5.2. *Taraxacum officinale* G. H. Weber-Ex. Wiggers türü

Karahindiba papatyagiller (Asteraceae) familyasından yaygın bir bitki türüdür (Davis, 1982). Çiçekleri sarı, yaprakları yeşil olsa da bitkinin adına "karahindiba" denilmiştir (Tanker ve ark., 2004). Mısır ve Kıpçak Türklerinin katagan, Çağatay Türklerinin saçratku olarak bildikleri bu bitki günümüze karahindiba olarak gelmiştir (Fortea ve ark., 2009).



Şekil 6. *Taraxacum officinale* (Anonim, 2014d)

2.5.2.1. *Taraxacum officinale*'nin kimyasal bileşimi

Taraxacum officinale ekstratı seskiterpen laktonlar (taraksin ve taraksaserin), beta-amirin, taraksasterol, tarakserol, serbest steroller (sitosterin, stigmasterin ve fitosterin), fruktosan, inülün gibi polisakaritler, pektin, resin, çeşitli flavonoidler ve flavonoid glukozitleri (luteolin 7-glukozid ve iki luteolin 7-diglukozid) içerir. Bununla birlikte, beta karoten, kolin, demir, magnezyum, sodyum, potasyum, bakır ve fosfor gibi vitamin ve mineralleri içine alan zengin bir kaynaktır. Bünyesinde bulundurduğu bu kimyasal bileşenler *Taraxacum officinale*'nin antioksidan aktivite göstermesinde etkilidir. (Fortea ve ark., 2009; Amim ve ark., 2013).

Karahindiba, çiğ yenildiğinde veya kurutulup çay biçiminde tüketildiğinde, kan temizleyici, sindirim kolaylaştırıcı, ter ve idrar söktürücü ve canlandırıcı etkilere sahiptir. Pankreas üzerine olumlu etkisi vardır ve böbreklerin çalışmasında aktif rol oynar. Karahindiba kanı inceltir ve kanın koyu olması halinde başarıyla kullanılabilir. Ergenlik sivilceleri ısırgan otunun ve karahindibanın kan temizleyici özellikleri sayesinde iyileştirilebilirler. Karahindiba, öncelikle böbreklerin ve karaciğerin fonksiyonlarını destekleyici bir bitkidir. Potasyum kaybına yol açmayan bir idrar söktürücüdür. Bağ dokuyu olumlu etkileyerek, yeterli oranda kanın tüm hücrelere ulaşabilmesine yardımcı olur. Güçsüz ve bitkin kişilere güç kazandırır (Tanker ve ark., 2004; Fortea ve ark., 2009).

Karahindiba, içerdığı mineral tuzların yanı sıra, metabolizma hastalıklarına karşı çok önemli maddeleri de içerir. Sarılık ve dalak hastalıklarında da karahindiba başarıyla kullanılabilir. Kan temizleyici etkisi sayesinde, romatizma ve gut hastalıklarında da yardımcı olabilir. Karahindiba, safra kesesi ve karaciğer hastalıklarında oldukça yardımcıdır (Ody, 1999; Tanker ve ark., 2004; Fortea ark., 2009).

Karaciğeri en olumlu etkileyebilen bitkilerden biridir. Taze olarak yenilen 5-6 çiçek sapı, kronik karaciğer iltihaplarında ve karaciğer yağlanmasında iyileşme sağlayabilir. Taze çiçek sapsarı karaciğer ve safrakesesinin çalışmalarını düzenler. Bu sapsarı şeker hastalığına da iyi gelir. Karahindiba sapsarı daha başka hastalıklarda da yardımcı olurlar. Deri kaşıntılarını, egzamaları iyileştirebilirler. Mide sıvılarını düzene sokar ve mideyi atık maddelerden temizler. Bu değerli bitki eskiden beri çok önemli bir yere sahip olmasına rağmen ne yazık ki, pek çok kişi tarafından tanınmaz ve zararlı bir ot olarak bilinir (Fortea ve ark., 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan materyali

Araştırmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Hayvanları Ünitesinden temin edilen 2-3 aylık, yaklaşık 200-250 g ağırlığında 66 adet Wistar Albino dişi rat kullanıldı. Çalışma Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 03.10.2013 tarih ve 10 sayılı kararı doğrultusunda gerçekleştirildi (Ek 1).

Ratlar 20 günlük deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlatma uygulanmış, sıcaklığı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ayarlanmış odalardaki kafeslerde barındırıldı. Hayvanlara ticari rat yemi (pellet yem) ve içme suyu *ad libitum* verildi. Çalışmada kullanılan ratlar rastgele seçilerek, Kontrol (K), CCl_4 (C), *Silybum Marianum* (SM), *Taraxacum Officinale* (TO), *Silybum Marianum* + CCl_4 (SM + C), *Taraxacum Officinale* + CCl_4 (TO + C) olarak 6 gruba ayrıldı.

3.1.2. Analizlerde kullanılan cihaz ve malzemeler

Otoanalizör (Roche, 800).

Shaker (Nüve, SC 350)

Su banyosu (Nüve, BM 402)

Derin dondurucu (Arçelik)

Dijital pH metre (Inolab)

Jelli vakumlu tüp

Hassas terazi (Gee Avery)

Soğutmalı santrüfuj (Universal 320R)

Isıtıcı tabla (Nüve, HP 221)

Değişik hacimlerde otomatik pipet (Ependorf, Scorex)

Farklı boyutlarda deney tüpü, ependorf tüp, balon joje ve beher glas (Isolab)

ELİSA cihazı (Zenyth, 200 rt)

Homojenizatör (IKA yellow line)

3.1.3. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler

Karbontetraklorür (Merck, Germany)

AST kiti (Roche/Hitachi Kit no; 0575002, Germany)

ALT kiti (Roche/Hitachi Kit no; 0575010, Germany)

LDH kiti (Roche/Hitachi Kit no; 0566070, Germany)

MDA kiti (Cayman, kat no: 10009055, USA)

GSH kiti (Cayman, kat no:703002, USA)

GR kiti (Cayman, kat no:703202, USA)

GP_x kiti (Cayman, kat no:703102, USA)

GST kiti (Cayman, kat no:703302, USA)

Dinitro ditiodibenzoik asit (Merc, kat no: L 381991)

Asetik asit (Merck, kat no:1.00056.2500)

N-hekzan (Merck. 4368)

Absolut etanol (Merck. 0986)

EDTA (Merck)

RIPA tamponu (CST, 9806)

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması

Hayvanlar 6 gruba ayrıldı.

1. **Grup: Kontrol grubu (K, n=7):** Standart rat yemi ve içme suyu verildi.
2. **Grup: *Silybum marianum* grubu (SM, n=7):** *Silybum marianum* ekstratı (Solgar, USA) suda eritilerek 100 mg/kg/gün oral olarak 20 gün süreyle verildi.
3. **Grup: *Taraxacum officinale* grubu (TO, n=7):** *Taraxacum officinale* ekstratı (Solgar, USA) suda eritilerek 100 mg/kg/gün oral olarak 20 gün süreyle verildi.
4. **Grup: CCl₄ grubu (C, n=15):** Karaciğer toksikasyonu oluşturmak için zeytinyağı ile 1/1 süspansiyonu hazırlanan CCl₄, 1.5 ml/kg olarak tek doz intraperitoneal (ip) enjekte edildi.
5. **Grup: *Silybum marianum* + CCl₄ grubu (SM + C, n=15):** *Silybum marianum* ekstratı (Solgar, USA) suda eritilerek 100 mg/kg/gün oral olarak 30 gün süreyle verildi. Karaciğer toksikasyonu oluşturmak için zeytinyağı ile 1/1 süspansiyonu hazırlanan CCl₄ 1,5 ml/kg olarak tek doz intraperitoneal (ip) enjekte edildi.
6. **Grup: *Taraxacum officinale* + CCl₄ grubu (TO + C, n=15):** *Taraxacum officinale* ekstratı (Solgar, USA) suda eritilerek 100 mg/kg/gün oral olarak 30 gün süreyle verildi. Karaciğer toksikasyonu oluşturmak için zeytinyağı ile 1/1 süspansiyonu hazırlanan CCl₄ 1,5 ml/kg olarak tek doz intraperitoneal (ip) enjekte edildi.

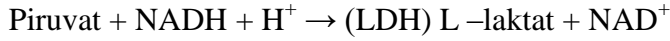
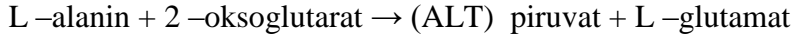
5. ve 6. gruptaki hayvanlara antioksidan sistemlerini güçlendirmek amacıyla CCl₄'ün kullanılmasından on gün önce *Silybum marianum* ve *Taraxacum officinale* ekstratların kullanılmasına başlandı.

3.2.2. Kan örneklerinin alınması ve analizleri

Deneme süresinin sonunda ratlar 75 mg/kg ketamin (i.p) uygulamasından sonra dorso-ventral pozisyonda masa üzerine yatırıldı. Kalp doğrudan kanüle edilerek, kan örnekleri antikoagülsüz vakumlu tüplere alındı. Bu örnekler 3000 devirde +4°C’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumları çıkarıldı. Çıkarılan bu serumlarda alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktiviteleri otoanalizörde (Cobas İntegra, 800) ticari kit Roche/Hitachi kullanılarak ölçüldü.

Alanin aminotransferaz (ALT) aktivite tayini

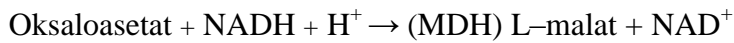
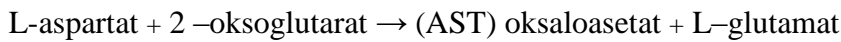
Prensip: Alanin aminotransferaz (ALT), L –alanin ile 2 –oksoglutarat arasındaki reaksiyonu katalize eder. Oluşan piruvat L –laktat ve NAD⁺’nın oluştuğu laktat dehidrojenazın (LDH) katalize ettiği bir reaksiyonda NADH tarafından indirgenir.



NADH yükseltgenmesinin hızı katalitik ALT aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki azalmanın ölçülmesiyle belirlendi.

Aspartat aminotransferaz (AST) aktivite tayini

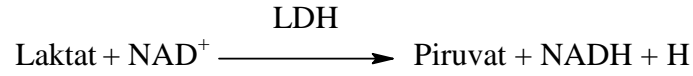
Prensip: Aspartat aminotransferaz tarafından katalizlenen reaksiyon ile artan oksaloasetat ve L -glutamatın oluşması için L-aspartat ile 2 –oksoglutarat arasında bir amino grubunun transferini katalize eder. Oksaloasetat daha sonra NAD⁺’nın oluşması için malat dehidrojenaz (MDH) varlığında NADH ile reaksiyona girer.



NADH yükseltgenmesinin hızı katalitik AST aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki azalmanın ölçülmesiyle tayin edilir.

Laktat dehidrogenaz (LDH) aktivite tayini

Prensip: Anaerobik glikolizin son enzimi olup pirüvatın laktata dönüşümünü katalize eder. Laktat dehidrogenaz laktat – piruvat reaksiyonunu katalize ederken NAD – NADH indirgenmesini sağlar.



NADH oluşumunun değeri spektrofotometrede absorbansda bir artış olarak ölçülür.

3.2.3. Doku örneklerinin alınması ve analizleri

Kanları alınan deney hayvanlarının karaciğer dokuları iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra tartılarak analizleri yapılcaya kadar derin dondurucuda (-20 °C) saklandı. Karaciğer doku örneklerinden elde edilen süpernatantlarda MDA ve GSH düzeyleri ile GPx, GR, GST enzim aktiviteleri ticari kit (Cayman Chemical Company, 2013) kullanılarak ELİSA cihazında (Zenyth, 200 rt) Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya AD Laboratuvarında ölçüldü.

Malondialdehid (MDA) düzeyi ölçümü

Homojenat hazırlanması

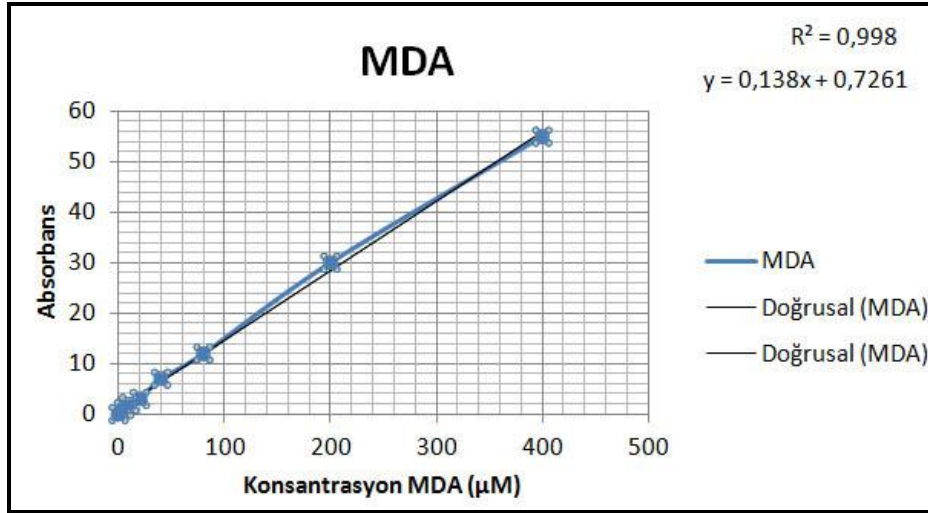
1. Örnek sayısı kadar tüp alındı ve numaralandırıldı.
2. Dokular 0,25 gram tartıldı.
3. Tartılan doku parçası RIPA tamponunda homojenize edildi.
4. Homojenat 1600 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi.
5. Santrifüj sonrası süpernatant ayrıldı.

Analizin yapılışı

1. 5 ml'deki etiketlenmiş tüplere 100 µl standart ve örnekler eklendi.
2. 100 µl SDS solüsyonu eklendi ve karıştırıldı.
3. Tüplere 4 ml renk aktifleştiriciler eklendi.
4. Hazırlanan tüpler su banyosunda 1 saat bekletildi.
5. Su banyosundan çıkarılan tüpler 10 dakika buzda inkübe edildi.
6. Tüpler 1600 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi.
7. Örnekler 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
8. Belirlenen kuyucuklara standart ve örneklerden 150 µl eklendi.
9. 530 nm - 540 nm arasında absorbansları ölçüldü.

Hesaplama

$$\text{MDA } (\mu\text{M}) = \frac{(\text{Karşılaştırmalı Absorbans}) - (\text{Y- kesişim})}{\text{Eğim}}$$



Şekil 7. MDA standart eğrisi

Glutasyon (GSH) düzeyi ölçümü

Homojenat hazırlanması

1. Örnek sayısı kadar tüp alındı ve numaralandırıldı.

2. Dokular 0,3 gram tartıldı.
3. Tartılan doku parçası PBS tamponunda (pH 7.4) te yıkandı.
4. Tüplere konulan dokuların üzerlerine 3 ml soğuk fosfat tamponu (pH 6-7) eklenerek homojenize edildi.
5. Homojenat 10000 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrası süpernatant ayrıldı.

Analizin yapılışı

1. 50 µl standart kuyucuklarına eklendi.
2. Örnek kuyucuklarına 50 µl homojene edilmiş örnekler konuldu.
3. Hazırlanan kokteylden 150 µl tüm kuyucuklara eklendi.
4. 405 nm – 414 nm arasında absorbanı okundu.

Hesaplama

$$\text{GSH } (\mu\text{M}) = \frac{(\text{405-414 Absorbans}) - (\text{Y-kesişim})}{\text{Eğim}} \times 2 \times \text{sulandırma faktörü}$$

Glutatyon peroksidaz (GPx) aktivite ölçümü

Homojenat hazırlanması

1. Örnek sayısı kadar tüp alındı ve numaralandırıldı.
2. Dokular 0,3 gram tartıldı.
3. Tartılan doku parçası PBS tamponunda (pH 7.4) yıkandı.
4. Tüplere konulan dokuların üzerlerine 3 ml soğuk fosfat tamponu (pH 7.5) eklenerek homojenize edildi.
5. Homojenat 10000 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrası süpernatant ayrıldı.

Analizin yapılışı

1. Non-enzimatik kuyucuklar: 120 µl tampon ve 50 µl co-substrat karışımı üç kuyucuğa eklendi.

2. Pozitif kontrol kuyucuklar: 100 µl tampon, 50 µl co-substrat karışım ve 20 µl sulandırılmış GPx (kontrol) üç kuyucuğa eklendi.
3. Örnek kuyucuklar: 100 µl tampon, 50 µl co-substrat karışım ve 20 µl örnekler üç kuyucuğa eklendi.
4. Reaksiyonu başlatmak için tüm kuyucuklara 20 µl kumen hidroperoksit hızlı bir şekilde eklendi.
5. En az 5 zaman noktası elde etmek için, 340 nm'de her dakikada bir kez plaka okuyucuyu kullanarak absorbansı okundu.

Hesaplama

$$\Delta A_{340}/\text{min.} = \frac{A_{340}(\text{zaman 2}) - A_{340}(\text{zaman 1})}{\text{zaman 2}(\text{min}) - \text{zaman 1}(\text{min})}$$

$$\text{GPx (nmol/min/ml)} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min}}{0,00373 \text{ m}^{-1}} \times \frac{0,19 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times \text{sulandırma faktörü}$$

Glutasyon S-transferaz (GST) aktivite ölçümü

Homojenat hazırlanması

1. Örnek sayısı kadar tüp alındı ve numaralandırıldı.
2. Dokular 0,3 gram tartıldı.
3. Tartılan doku parçası PBS tamponunda (pH 7.4) yıkandı.
4. Tüplere alınan dokuların üzerlerine 3 ml soğuk fosfat tamponu eklenerek homojenize edildi.
5. Homojenat 10000 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrası süpernatant ayrıldı.

Analizin yapılışı

1. Non-enzimatik kuyucuklar: 170 µl tampon ve 20 µl glutasyon üç kuyucuğa eklendi.

2. Pozitif kontrol kuyucuklar: 150 µl tampon, 20 µl glutatyon ve 20 µl sulandırılmış GST (kontrol) üç kuyucuğa eklendi.
3. Örnek kuyucuklar: 150 µl tampon, 20 µl glutatyon ve 20 µl örnekler üç kuyucuğa eklendi.
4. Tüm kuyucuklara 10 µl CDNB solüsyonu hızlı bir şekilde eklendi.
5. 340 nm'de absorbansı okundu.

Hesaplama

$$\Delta A_{340}/\text{min.} = \frac{A_{340}(\text{zaman 2}) - A_{340}(\text{zaman 1})}{\text{zaman 2}(\text{min}) - \text{zaman 1}(\text{min})}$$

$$\text{GST (nmol/min/ml)} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min}}{0,00373 \text{ m}^{-1}} \times \frac{0,19 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times \text{sulandırma faktörü}$$

Glutatyon redüktaz (GR) aktivite ölçümü

Homojenat hazırlanması

1. Örnek sayısı kadar tüp alındı ve numaralandırıldı.
2. Dokular 0,3 gram tartıldı.
3. Tartılan doku parçası PBS tamponunda (pH 7.4) yıkandı.
4. Tüplere alınan dokuların üzerlerine 3 ml soğuk fosfat tamponu (pH 7.5) eklenerek homojenize edildi.
5. Homojenat 10000 rpm'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrası süpernatant ayrıldı.

Analizin yapılışı

1. Non-enzimatik kuyucuklar: 120 µl tampon ve 20 µl GSSG üç kuyucuğa eklendi.
2. Pozitif kontrol kuyucuklar: 100 µl tampon, 20 µl GSSG ve 20 µl sulandırılmış GR (kontrol) üç kuyucuğa eklendi.

3. Örnek kuyucuklar: 100 µl tampon, 20 µl GSSG ve 20 µl örnekler üç kuyucuğa eklendi.
4. Tüm kuyucuklara 50 µl NADPH'i hızlı bir şekilde eklendi.
5. 340 nm'de absorbansı okundu.

Hesaplama

$$\Delta A_{340}/\text{min.} = \frac{A_{340}(\text{zaman 2}) - A_{340}(\text{zaman 1})}{\text{zaman 2}(\text{min}) - \text{zaman 1}(\text{min})}$$

$$\text{GR (nmol/min/ml)} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min}}{0,00373 \text{ m}^{-1}} \times \frac{0,19 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times \text{sulandırma faktörü}$$

3.2.4. Karaciğer doku örneklerinin histopatolojik analizleri

Histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan karaciğer doku örnekleri %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi, daha sonra çeşme suyunda 8 saat yıkandı. Rutin doku takibinde alkol (70°, 80°, 90°, 96 °ve 100°) ve ksilol serilerinden geçtikten sonra parafinde bloklanarak her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alınıp lam üzerinde preparatlar hazırlandı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyandı ve ışık mikroskobu ile incelenerek gerekli alanlar resimlendi (Luna, 1968; Taylor ve Cote, 1994).

Karaciğer dokularının histopatolojik değerlendirmesi Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.3. İstatistik Analiz

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Normal dağılım gösteren değişkenler için grupları karşılaştırmada tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yapıldı. Analizlerde p<0,05 anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Tüm analizler SPSS (20.0) paket programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmanın sonunda, kontrol (K), *Silybum mariaum* (SM), *Taraxacum officinale* (TO), CCl₄ (C), *Silybum mariaum* + CCl₄ (SM + C) ve *Taraxacum officinale* + CCl₄ (TO + C) gruplarına ait serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotranferaz (AST) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktiviteleri Tablo 2’de verildi.

Çalışmanın sonunda, kontrol (K), *Silybum mariaum* (SM), *Taraxacum officinale* (TO), CCl₄ (C), *Silybum mariaum* + CCl₄ (SM + C) ve *Taraxacum officinale* + CCl₄ (TO + C) gruplarına ait karaciğer dokusu malondialdehit (MDA) ve glutasyon (GSH) seviyeleri ve glutasyon peroksidaz (GP_X), glutasyon-S-transferaz (GST), glutasyon redüktaz (GR) enzim aktiviteleri Tablo 3’te verildi.

Çalışma sonunda, tüm gruplara ait karaciğer doku örneklerindeki histopatolojik değişiklikler Şekil 16-22’de verildi.

4.1. Seruma Ait Biyokimyasal Bulgular

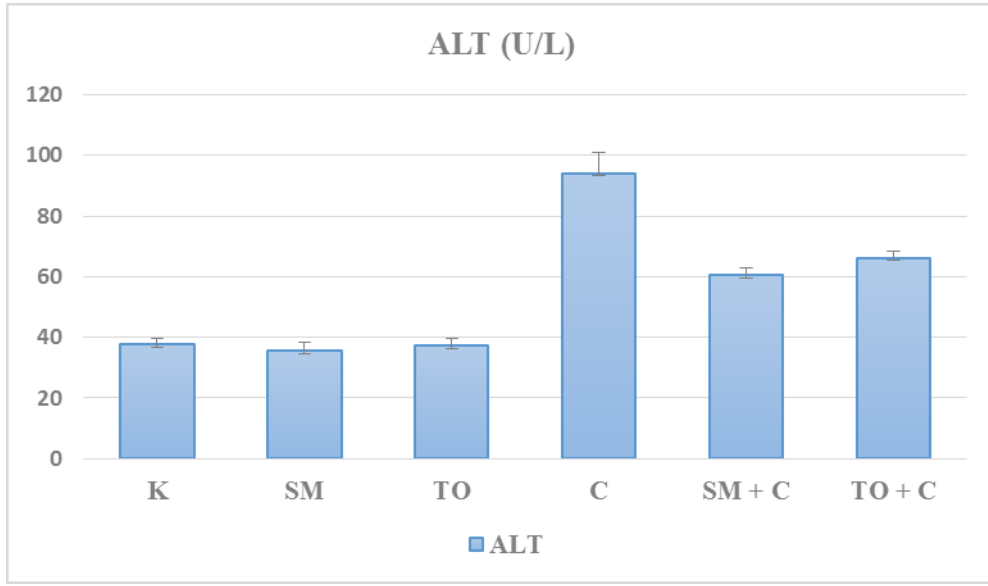
Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum ALT, AST ve LDH enzim aktiviteleri

Gruplar	N	ALT (U/L)	AST (U/L)	LDH (U/L)
		X ± S _X	X ± S _X	X ± S _X
K	7	37.85 ± 1.99 ^c	112.14 ± 5.40 ^{dc}	899.92 ± 197.32 ^{cb}
SM	7	35.71 ± 2.78 ^c	92.00 ± 4.76 ^d	744.74 ± 169.87 ^c
TO	7	37.28 ± 2.44 ^c	95.71 ± 12.68 ^d	854.37 ± 248.88 ^{cb}
C	15	94.14 ± 6.68 ^a	213.00 ± 14.20 ^a	1957.41 ± 454.25 ^a
SM + C	15	60.51 ± 2.44 ^b	137.00 ± 7.10 ^{cb}	1298.50 ± 172.58 ^{cb}
TO + C	15	66.25 ± 1.98 ^b	144.00 ± 2.49 ^b	1406.44 ± 110.35 ^{ba}
P	66	.001**	.001**	.0016*

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

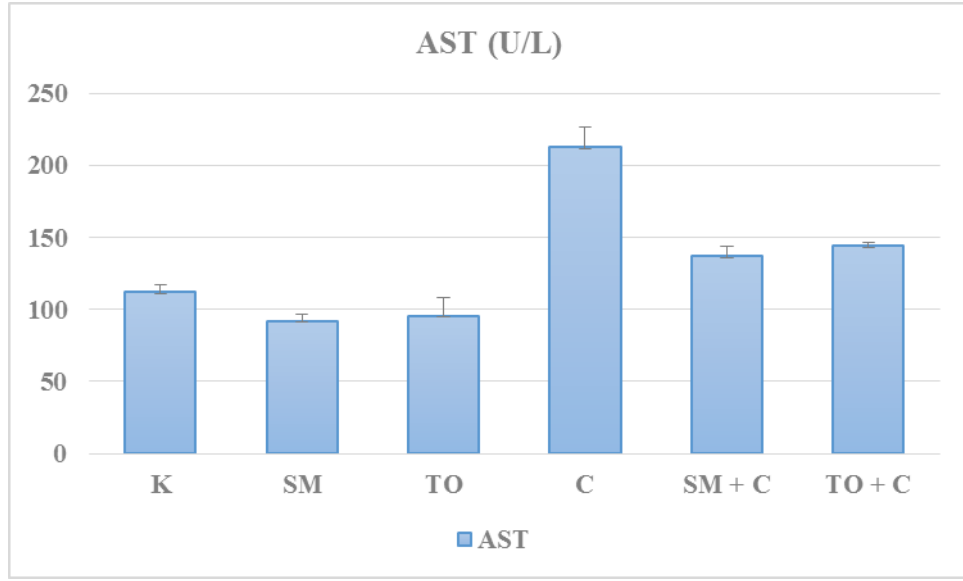
*: p<0.05, **: p<0.001

C grubunda ALT enzim aktivitesinin diğer gruplara göre istatistik olarak önem gösterecek şekilde yüksek olduğu (a, $p<0.001$), SM + C grubu ile TO + C grubunda ALT enzim aktivitelerinin C grubuna göre istatistik önem gösterecek şekilde düştüğü (b, $p<0.05$) yinede kontrol grubundan yüksek olduğu, SM ve TO gruplarının ALT enzim aktivitelerinin K grubu ile aynı olduğu tespit edildi (c, $p>0.05$).



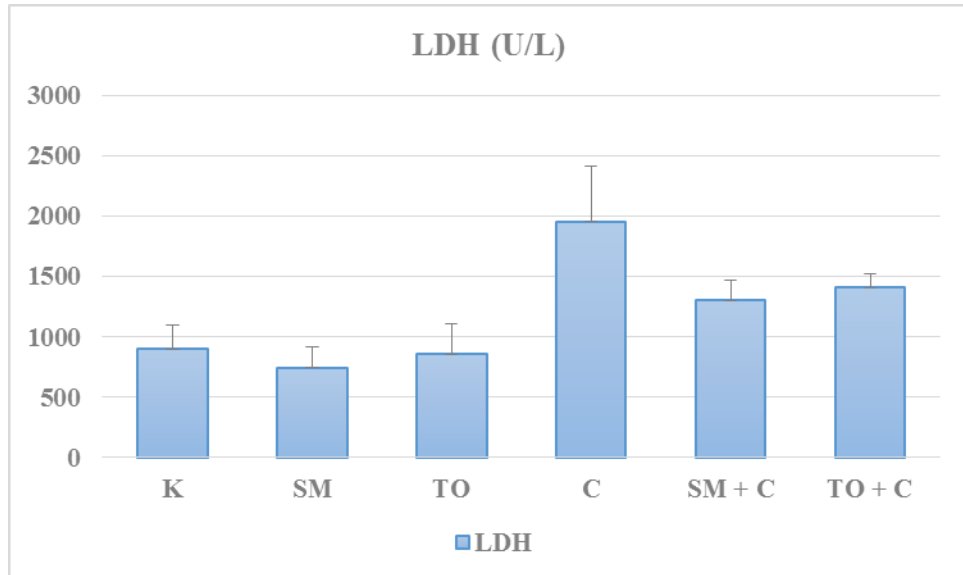
Şekil 8. Deney gruplarındaki ratlara ait serum ALT aktiviteleri

K grubuna göre C grubunda AST enzim aktivitesinin istatistik önem gösterecek şekilde arttığı (a, $p<0.001$), SM + C grubu ile TO + C gruplarında AST enzim aktivitelerinin (sırasıyla cb, b) C grubuna göre istatistik önem gösterecek şekilde düştüğü ($p<0.05$) yinede K grubundan yüksek olduğu, K grubuna göre SM ve TO gruplarında da AST aktivitelerinin düştüğü belirlendi.



Şekil 9. Deney gruplarındaki ratlara ait serum AST aktiviteleri

C grubunda LDH enzim aktivitesinin diğer gruplara göre istatistik olarak en yüksek olduğu (a, $p < 0.001$), SM + C grubu ile TO + C gruplarında LDH enzim aktivitesinin (sırasıyla cb, ba) C grubuna göre düştüğü ($p < 0.05$), SM + C grubunda kontrol grubuna yaklaştığı tespit edildi. SM ve TO gruplarının LDH enzim aktivitelerinin K grubu ile istatistik olarak fark göstermediği tespit edildi ($p > 0.05$).



Şekil 10. Deney gruplarındaki ratlara ait serum LDH aktiviteleri

4.2. Karaciğer Dokusuna Ait Biyokimyasal Bulgular

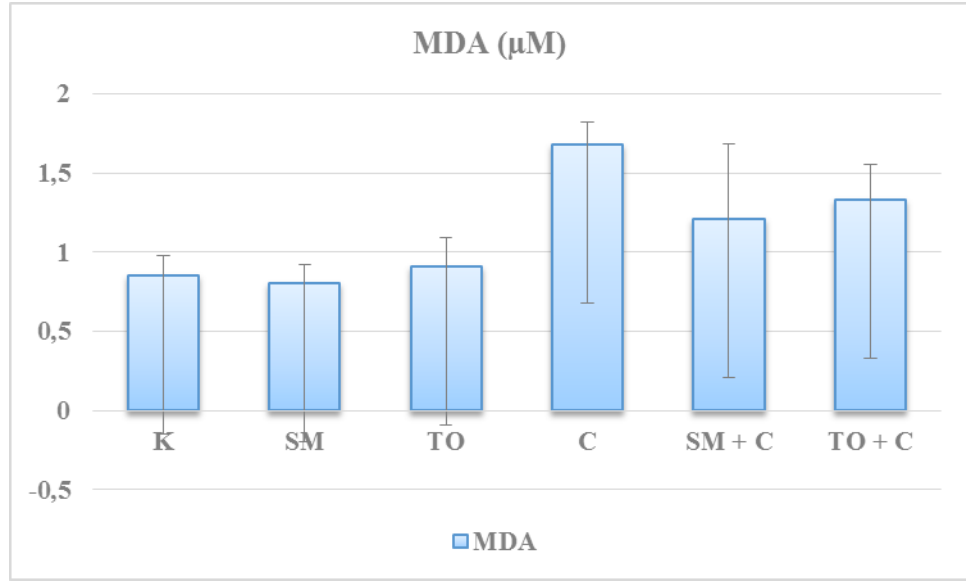
Tablo 3. Kontrol ve deneme gruplarına ait karaciğer dokusu MDA, GSH düzeyleri ve GP_x, GST, GR enzim aktiviteleri

Gruplar	N	MDA (μ M)	GSH (μ M)	GP _x (nmol/min/ml)	GST (nmol/min/m)	GR (nmol/min/ml)
		X \pm S _x	X \pm S _x	X \pm S _x	X \pm S _x	X \pm S _x
K	7	0.85 \pm 0.13 ^{dc}	10.87 \pm 0.61 ^a	65.02 \pm 16.92 ^a	36.77 \pm 4.43 ^a	127.26 \pm 27.88 ^a
SM	7	0.80 \pm 0.12 ^d	9.75 \pm 0.26 ^{ba}	63.53 \pm 19.36 ^a	32.67 \pm 4.14 ^{ba}	118.76 \pm 25.16 ^a
TO	7	0.91 \pm 0.18 ^{dc}	9.49 \pm 0.58 ^{ba}	55.15 \pm 12.14 ^a	31.37 \pm 2.73 ^{ba}	114.51 \pm 18.31 ^a
C	15	1.68 \pm 0.14 ^a	7.07 \pm 0.32 ^c	38.19 \pm 8.69 ^a	15.55 \pm 3.38 ^c	93.31 \pm 25.17 ^a
SM + C	15	1.21 \pm 0.47 ^{cb}	8.60 \pm 0.73 ^{cb}	46.67 \pm 7.82 ^a	26.56 \pm 4.41 ^{ba}	110.11 \pm 10.60 ^a
TO + C	15	1.33 \pm 0.22 ^{ba}	7.76 \pm 0.66 ^c	43.02 \pm 11.94 ^a	24.12 \pm 3.36 ^{cb}	101.76 \pm 26.29 ^a
P	66	.002*	.000**	.574	.003*	.916

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

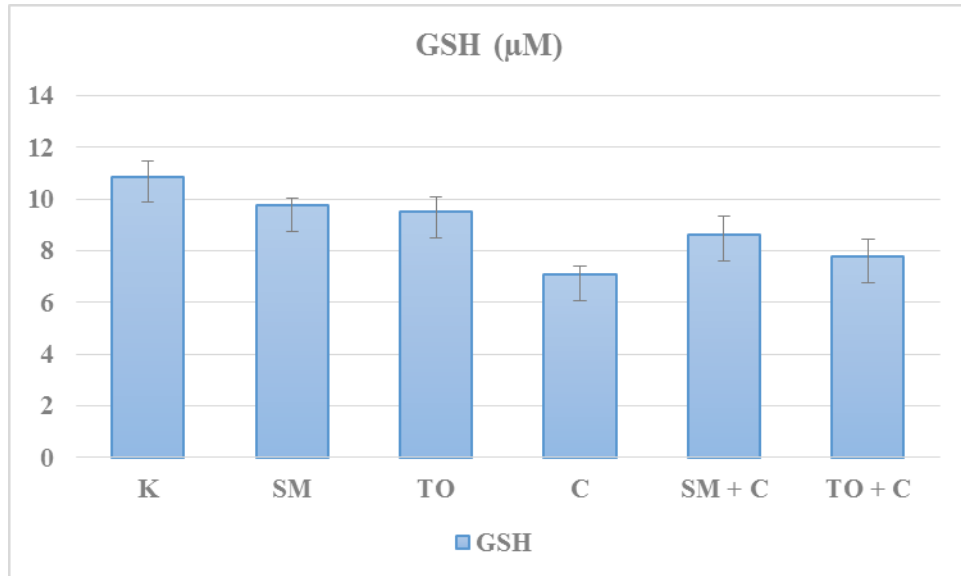
*: p<0.05, **: p<0.001

Karaciğer dokusu MDA seviyesinin C grubunda K grubuna göre yüksek olduğu (a, p<0.05), C grubuna göre MDA seviyesinin SM + C ve TO + C grubunda (sırasıyla cb, ba) istatistik açıdan önem arz edecek şekilde düşme gösterdiği (p<0.05) ve bu düşüşün SM + C grubunda daha fazla olduğu, K grubuna göre SM grubunda MDA seviyesinin düştüğü (d), TO grubunda ise kontrol grubu ile istatistik olarak aynı olduğu bulundu (dc).



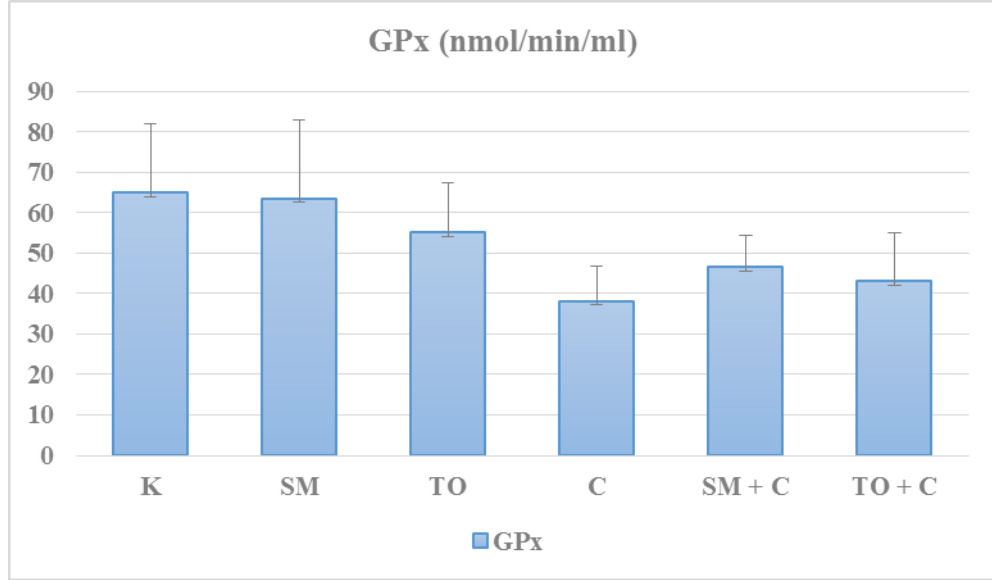
Şekil 11. Deney gruplarına ait karaciğer dokusu MDA düzeyleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karaciğer dokusu GSH seviyesinin C ve TO + C gruplarında istatistik olarak önem gösterecek şekilde düşük (c, $p < 0.05$) olduğu, SM + C grubunda GSH seviyesinin C ve TO + C gruplarına göre yüksek (cb, $p < 0.001$) olmasına karşın yine de kontrol grubundan düşük olduğu belirlendi (a, $p < 0.05$).



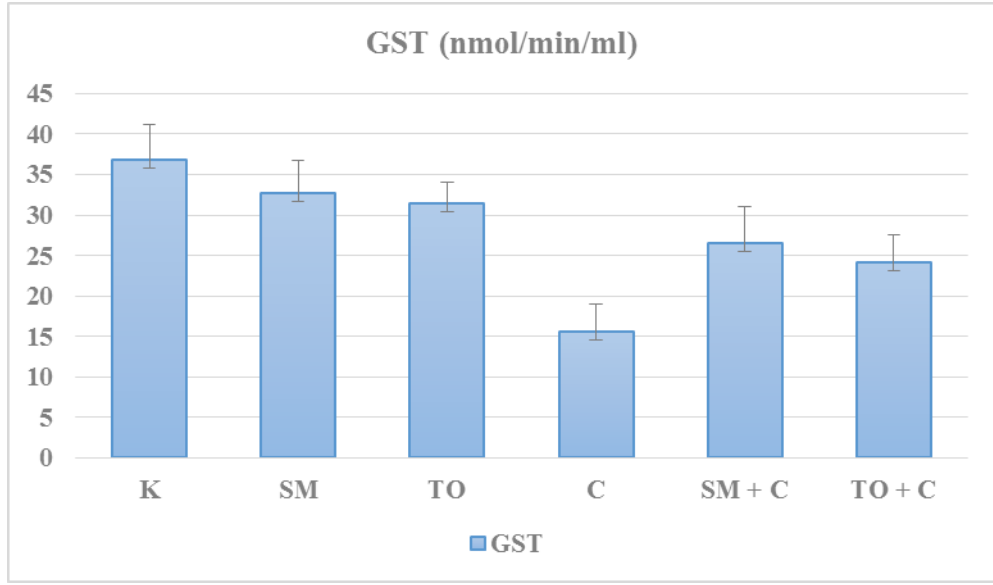
Şekil 12. Deney gruplarına ait karaciğer dokusu GSH düzeyleri

Karaciğer dokusu GP_x enzim aktivitesinin, K grubuna göre bütün gruplarda düşük olduğu, en fazla düşüşün sırasıyla C, TO + C, SM + C gruplarında olduğu ve bu düşüşün gruplar arasında istatistik olarak fark olmadığı bulundu (a, p>0.05).



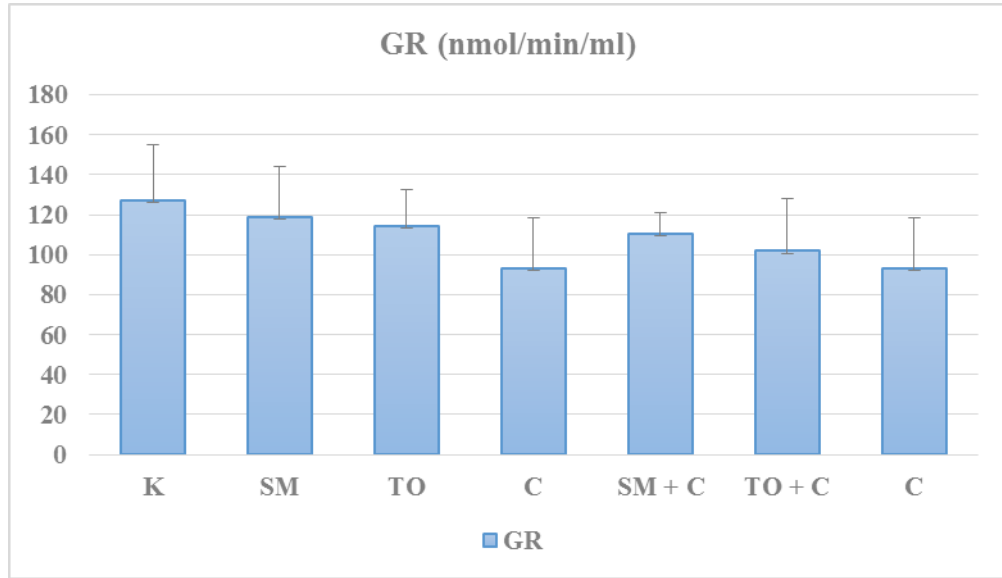
Şekil 13. Deney gruplarına ait karaciğer dokusu GP_x aktiviteleri

Karaciğer dokusu GST enzim aktivitesinin C grubunda diğer gruplara göre en düşük (c, p<0.05) olduğu bu düşüşün kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistik açıdan önem gösterdiği, SM + C ve TO + C gruplarında GST enzim aktivitesinin (sırasıyla ba, cb) C grubuna göre yükselme gösterdiği yinede K grubundan düşük olduğu belirlendi. GST enzim aktivitesi açısından K, SM, TO grupları arasında istatistik olarak fark tespit edilemedi (p>0.05).



Şekil 14. Deney gruplarına ait karaciğer dokusu GST aktiviteleri

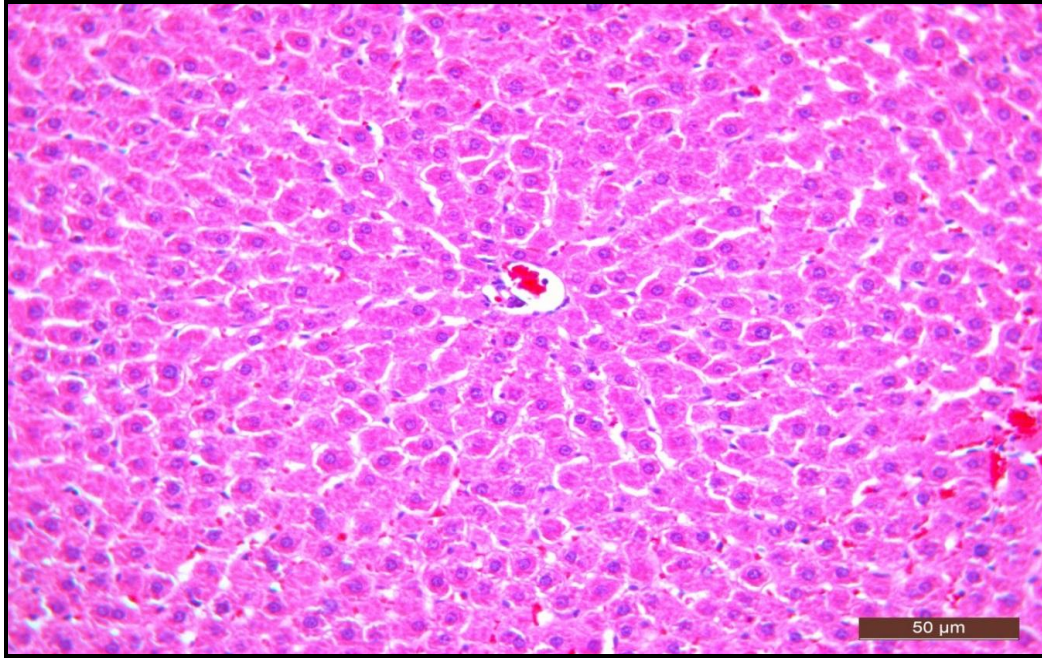
Deneme grupları karşılaştırıldığında, C grubunda karaciğer dokusu GR enzim aktivitesinin en düşük değerde olduğu, fakat gruplar arasında GR enzim aktivitesi açısından istatistik olarak fark olmadığı bulundu (a, $p>0.05$).



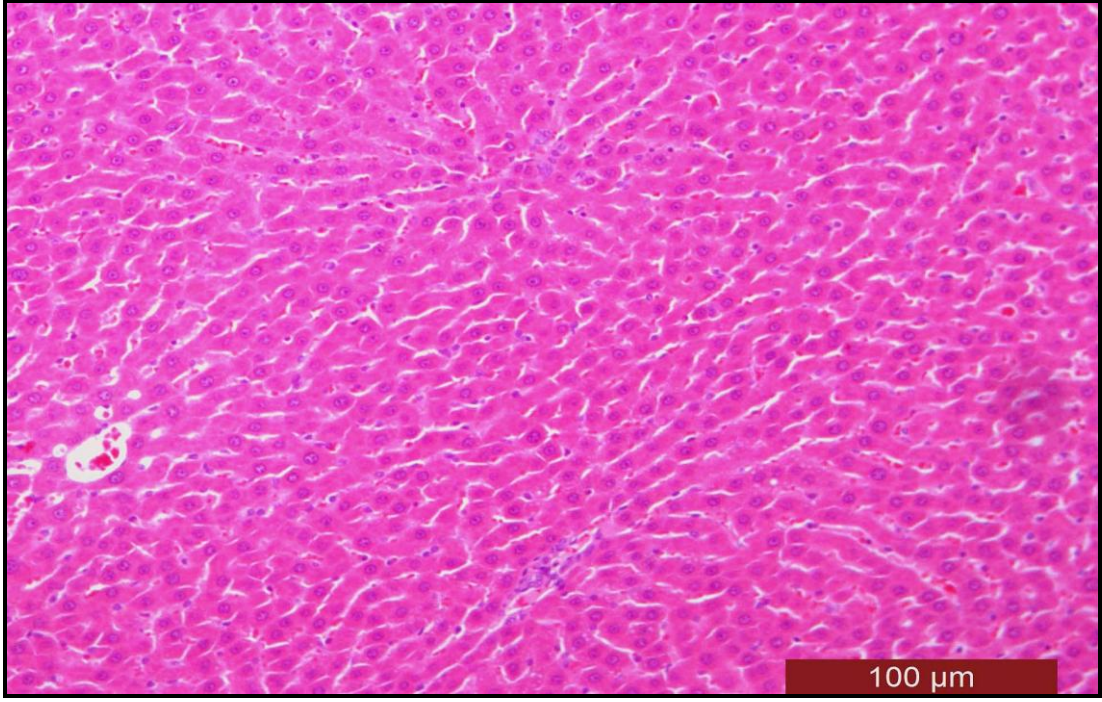
Şekil 15. Deney gruplarına ait karaciğer dokusu GR aktiviteleri

4.3. Histopatolojik Bulgular

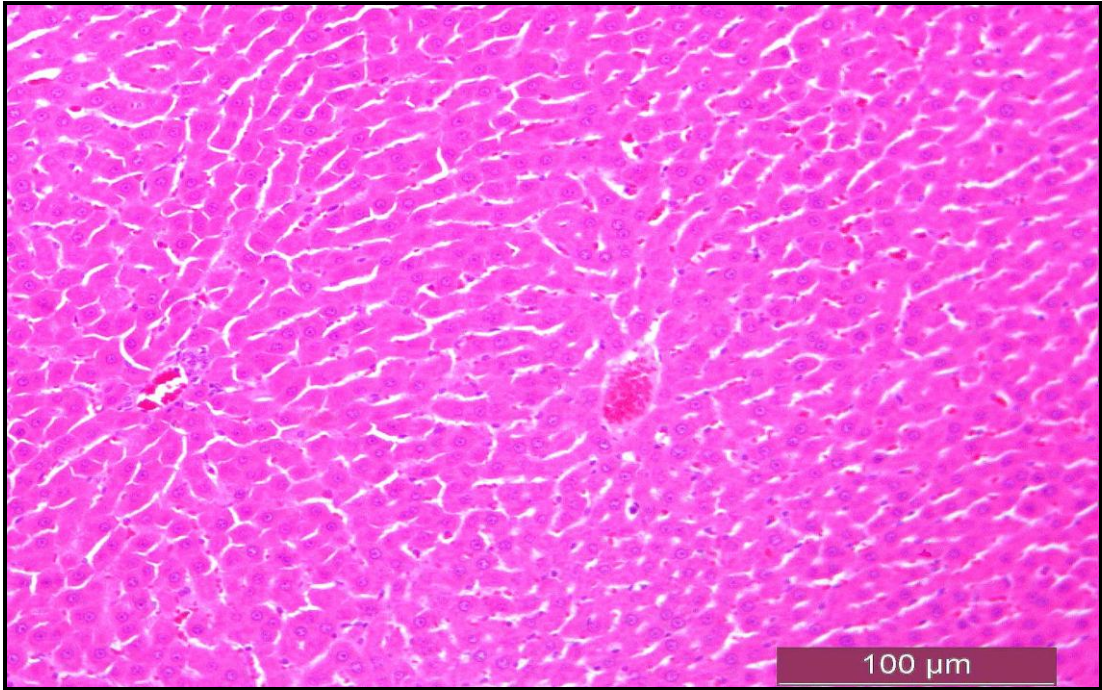
C grubunda ratların karaciğerlerinde portal bölgede şiddetli hidropik dejenerasyon, az sayıda nekrotik hücre, intrahepatik kolestazis, Kupffer hücrelerinde hiperplazi, mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı. Yine bu grupta periportal bölgeden başlayan, lobülleri çevreleyen ince bir fibrozis ve safra kanallarında proliferasyon görüldü (Şekil 19. ve 20). SM + C grubunda ise karaciğerlerin normal histolojik yapıda ve çok az sayıda hepatositlerde hidropik dejenerasyona rastlandı (Şekil 21). TO + C grubunda ise portal bölgede hafif hidropik dejenerasyonlu hücrelere rastlanırken koagülasyon nekrozuna hiç rastlanmadı (Şekil 22). K, SM ve TO gruplardaki ratların karaciğer dokuları incelendiğinde normal histopatolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 16, 17 ve 18).



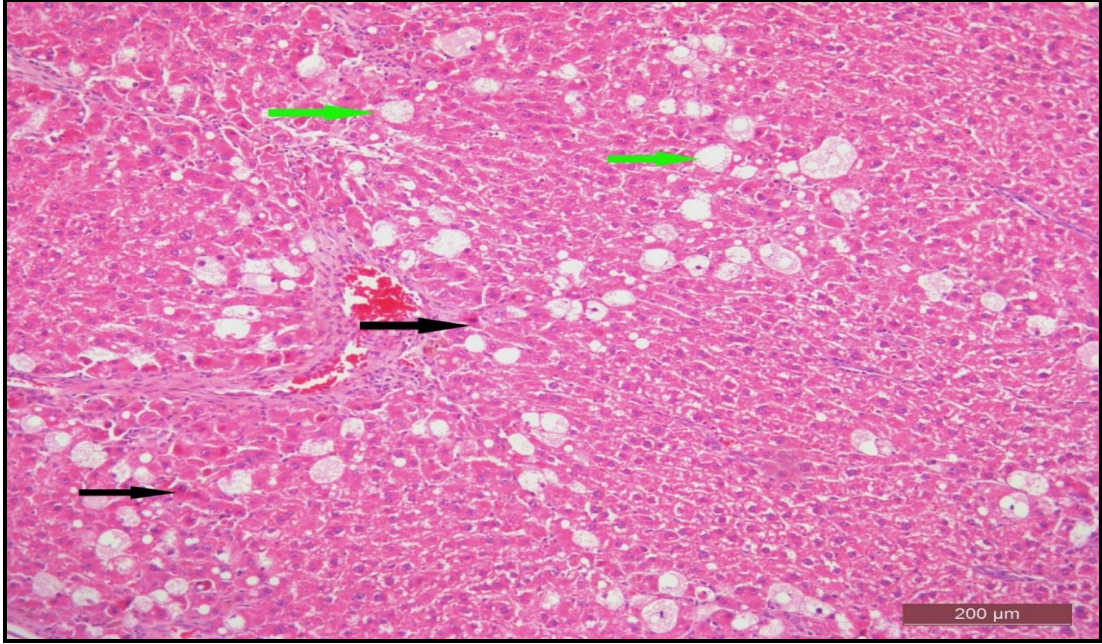
Şekil 16. Kontrol (K) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı. HxE, Bar: 50µm



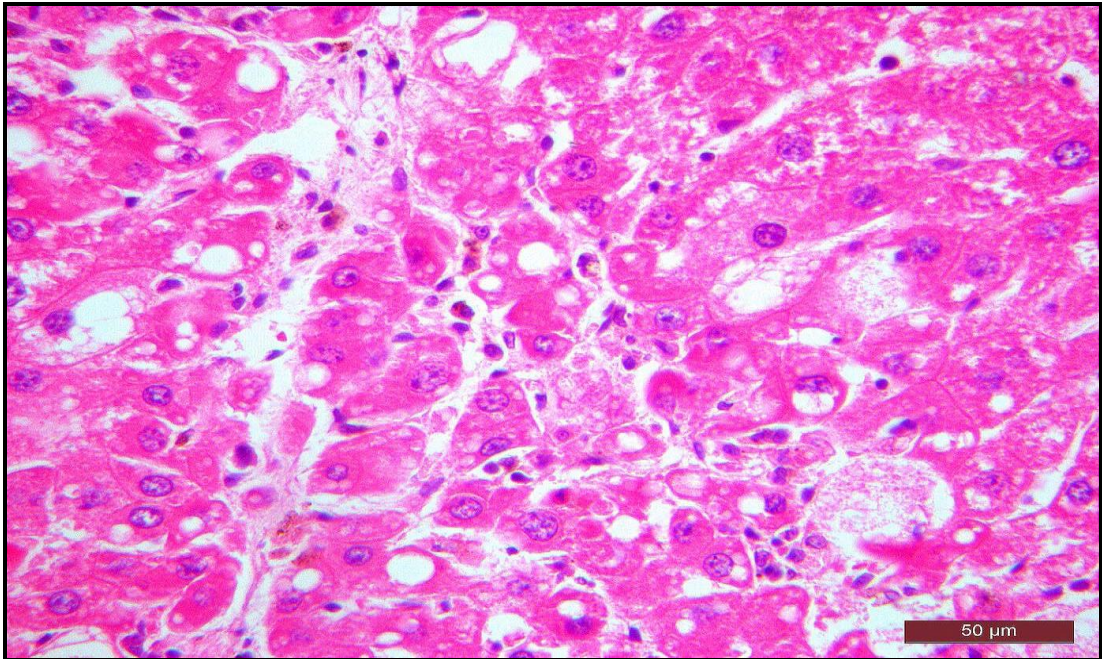
Şekil 17. *Silybum marianum* (SM) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı. H&E, Bar: 100μm.



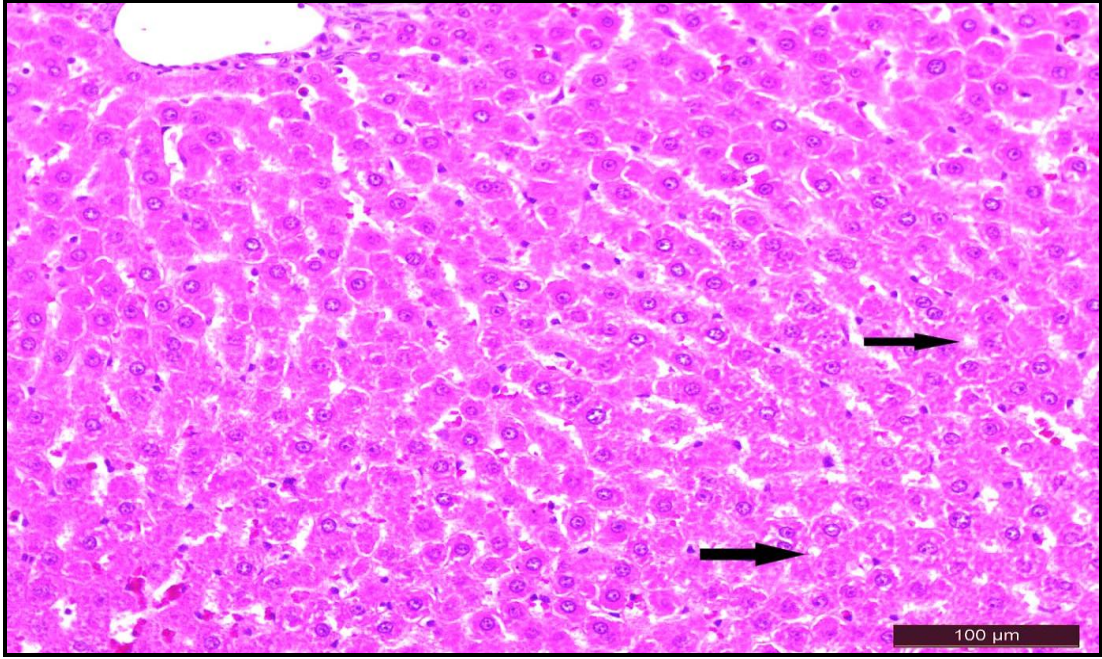
Şekil 18. *Taraxacum officinale* (TO) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı. H&E, Bar: 100μm



Şekil 19. CCl₄ (C) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı. HxE, Bar: 200µm. Portal bölgede şiddetli hidropik dejenerasyon (yeşil ok) ve koagulasyon nekrozu (siyah ok).

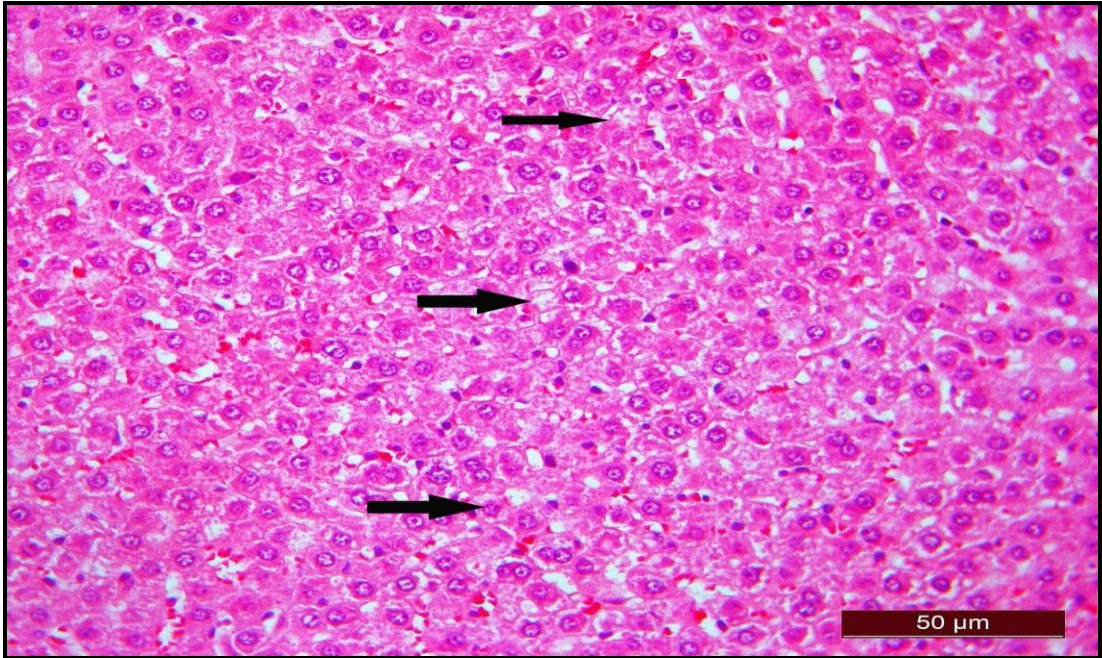


Şekil 20. CCl₄ (C) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı. HxE, Bar: 50µm. Portal bölgede şiddetli hidropik dejenerasyon, koagulasyon nekrozu ve mononükleer hücre infiltrasyonu.



Şekil 21. *Silybum marianum* + CCl₄ (SM + C) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı. HxE, Bar: 50μm.

Çok az sayıda hepatositlerde hidropik dejenerasyona rastlandı (siyah oklar).



Şekil 22. *Taraxacum officinale* + CCl₄ (TO + C) grubu karaciğer dokusu histopatolojik yapısı. HxE, Bar: 100μm.

Karaciğerde hafif hidropik dejenerasyonlu hücelere rastlandı (siyah oklar).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Metabolik olayların düzenlenmesi, immünolojik olaylar, biyolojik değişimler gibi birçok önemli mekanizmaların sırrını içinde bulunduran karaciğer, günümüz şartlarında bile tam olarak çözümlenememiş olan hayati fonksiyonlara sahip bir organdır (Towsend ve Beauchamp, 2001).

Karbon tetraklorür (CCl_4) solunum, sindirim ve deri yolu ile insan vücuduna girebilen renksiz, uçucu aktiviteye sahiptir ve hepatotoksik etkisinden dolayı deney hayvanlarında siroz oluşturmak için kullanılmaktadır. Değişik deney hayvanlarında karaciğer sirozu modeli oluşturmak ve CCl_4 'e vereceği cevabı önceden tahmin etmek zordur (Dashti ve ark., 1989). Fakat CCl_4 'ün tekrarlayan uygulamalarının serbest radikal üretimine neden olarak sirozu indüklediği kesin olarak bilinmektedir (Özoran, 1987; Nadkarni ve Souza, 1988; Dashti ve ark., 1989; Handa ve Sharma, 1990; Poli, 1993; Hernandez ve ark., 1997; Wu ve ark., 1999; Weber ve ark., 2003; Lee ve ark., 2007).

Birçok araştırmacı karaciğer hasarı oluşturmak için deneklere CCl_4 kullanmıştır (Mukai ve ark., 2004; Üstündağ ve ark., 2005; Kuzu ve ark., 2007; Park ve ark., 2008). Karaciğer toksikasyonu oluşturulan çalışmalarda çoğunlukla CCl_4 'ün kullanılma sebebi, oluşan karaciğer hasarının ratlarda ve insanlarda birbirlerine uygunluk göstermesinden dolayıdır (Mansour, 2000; Güven ve ark., 2003; MacDonalds-Wicks ve Garg, 2003).

CCl_4 'ün mitokondriyal monooksijenaz (P450 2E1) sisteminde metabolize edilmesi sırasında meydana gelen serbest radikallere bağlı olarak oluşan lipid peroksidasyonunun, karaciğer hastalıkları ve hücre hasarlarından sorumlu olduğu bilinmektedir (Üstündağ ve ark., 2005). Yapılan çalışmalarda CCl_4 uygulanmış ratlarda oksidatif stres ve karaciğer kupffer hücrelerinin inaktivasyonunun karaciğer fibrozisinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Basu, 2003; Üstündağ ve ark., 2005; Domitrovic ve ark., 2009; Domitrovic ve ark., 2010; Devi ve ark., 2010).

Vücutta fizyolojik ortamda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile bunların koruyucusu olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması, oksidatif strese ve sonuçta doku hasarına neden olmaktadır. Meydana gelen oksidatif stresi belirlemek için en sık kullanılan yöntemler arasında serbest radikallerin lipit, protein ve DNA gibi moleküllerde meydana getirdikleri değişiklikleri belirlemektir. Membran lipitlerinde meydana gelen lipit peroksidasyonu, genellikle manoldialdehit (MDA) ölçülerek değerlendirilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 2000).

Organizma oksidatif hasara karşı, enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem veya moleküllerce korunmaktadır. Bu antioksidanlar ya serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek ya da yaptıkları zararlı etkileri önleyerek etki etmektedir. Hücre seviyesinde etkili olan antioksidan sistemdeki değişimler, glutatyon peroksidaz (GP_x), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ve glutatyon (GSH), vitamin (vit. A, E, C) düzeylerindeki değişimler ölçülerek değerlendirilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 2000; Adewole ve ark., 2007).

Serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin karaciğerin hastalık patolojisinde ve ilerlemesinde rol oynadığı tespit edildiğinden, oksidatif stresle ilişkili karaciğer patolojilerini önlemek için dışarıdan antioksidan özelliğe sahip maddelerin kullanılması önerilmektedir (Yang ve ark, 2013).

Çeşitli bitki ekstratları karaciğer rejenerasyonundaki fonksiyonları ve faydalarını ortaya çıkarmak amacıyla deneysel olarak çalışmalarda kullanılmıştır (Wang ve ark., 2007; Park ve ark., 2007a; Shaker ve ark., 2010; Malki ve ark., 2013; Yang ve ark., 2013).

Flavonoidler, yaygın olarak tanınan ve biyolojik membranlardaki lipit peroksidasyonunu inhibe edici özelliğe sahip doğal antioksidanlardır (Young ve ark., 2006).

Bu çalışmada, karaciğer dokusu üzerindeki karbontetraklorür (CCl₄) toksisitesine karşı flavonoid içeren *Silybum Mariaum* ve *Taraxacum Officinale* bitki

ekstratlarının koruyucu etkisi biyokimyasal ve histopatolojik yönden karşılaştırılmalı olarak değerlendirildi.

Karaciğer fonksiyon bozuklukları veya hasarı karaciğer fonksiyon testleri ile belirlenmektedir. ALT, AST, ALP gibi enzimlerin aktivitelerinin ölçümü ile gerçekleştirilen bu değerlendirme, karaciğerdeki hücre hasarı ve kolestaz hakkında da bilgi vermektedir. Bu enzimler, hasar görmüş karaciğer hücrelerinden sızarak kana karışırlar ve karaciğer hasarının tespitinde biyokimyasal belirteç olarak kullanılırlar. Karaciğer hastalıklarını değerlendirmekte kullanılan bu sonuçlar karaciğer hastalığını, hastalığın tedavisini takip etmek ve karaciğer rezervini ölçmek için de kullanılabilirler (Karagül ve ark., 2000; Govri ve ark., 2008; Yang ve ark., 2013).

Laktat dehidrogenaz (LDH), karaciğerin biyokimyasal çalışmalarında sıklıkla kullanılan sitoplazmik bir enzimdir. LDH aktivitesinde belirgin artış kanserde, hepatosellüler nekrozda veya hemoliz ile birlikte olan karaciğer hastalıklarında saptanabilmektedir (Günşar, 2003; Akarca, 2007).

Deneysel olarak intraperitoneal yolla (ip) CCl₄ kullanılarak karaciğer toksikasyonu oluşturulan bir çok çalışmada, toksikasyona paralel olarak serum ALT, AST ve LDH enzim aktivitelerinin arttığı ve artan bu enzim aktivitelerinin karaciğer hasarına karşı spesifik olduğu belirtilmiştir (Oh ve ark., 2003; Galati ve ark., 2005; Tanrıverdi, 2005; Üstündağ ve ark., 2005; Noyan ve ark., 2006; Yang ve ark., 2008; AltınSaat ve Sert, 2008; Göker ve Özmen, 2009; Lida ve ark., 2009; Ilanchezian ve Roshy, 2010; Domitrovic ve ark., 2010; Wallace ve Meyer, 2010).

Shaker ve ark. (2010), CCl₄ kullanarak karaciğer toksikasyonu oluşturdukları ratlara on gün süre ile *Silybum marianum* tohum ekstre özütünü kullandıkları çalışmada, CCl₄ uyguladıkları grupta serum ALT ve AST enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre arttığını, CCl₄ ile birlikte *Silybum marianum* uyguladıkları grupta ise ALT ve AST enzim aktivitelerinin azalmasına karşın, kontrol grubundan yüksek olduğunu belirtmişlerdir. *Silybum marianum* özütünün CCl₄ ün yol açtığı

hasar mekanizmasında rol alan serbest radikallerin oluşum mekanizmasını engelleyerek, karaciğer hasarında iyileştirici yönde etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Yormaz (2010), deneysel parsiyel hepatektomide N asetil sistein, propofol, E vitamini, *Silybum marianum*'un karaciğer rejenerasyonu etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada aynı yaş ve ağırlıkta her grupta 8'er hayvan bulunan toplam 48 adet yetişkin Wistar cinsi rat kullanmıştır. Çalışma gruplarına propofol 25 mg/kg, N-asetil sistein 20 mg/kg, E vitamini 400 mg/kg, *Silybum marianum* 100 mg/kg intraperitoneal olarak uygulamışlardır. Deney sonunda hepatektomi yapılan grupta serum ALT, AST enzim aktivitelerinin istatistik açıdan anlamlı olacak kadar düştüğü ($p<0,05$), özellikle *Silybum marianum*'un, hepatik rejenerasyon üzerine diğer maddelerden daha olumlu etki gösterdiğini tespit etmiştir.

Ratlarda deneysel hepatik rezeksiyon modelinde *Silybium marianum*'un karaciğer rejenerasyon ve anjiogenezis üzerine etkileri isimli çalışmada, deneme sonunda kan örneklerinde AST, ALT, GGT, LDH enzim aktiviteleri ve karaciğer dokusu LPO düzeyi ölçülmüş, gruplar arasında AST, ALT enzim aktiviteleri ve doku LPO değerleri açısından istatistik olarak anlamlı farklılıklar olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Sonuç olarak *Silybum marianum*'un karaciğer rejenerasyonunu artırıcı, anjiogenezis baskılayıcı etkisi olduğu belirtilmiştir (Okar, 2011).

Çin'in 3 şifalı bitkisi olan *A. capillaris*, *L. japonica* ve *S. Marianum* bitkilerinden elde edilen sulu ekstratın, deneysel olarak oluşturulan karaciğer toksikasyonunda potansiyel antioksidan özelliklerin ve hepatoprotektif etkisinin araştırıldığı çalışmada, kontrol grubuna göre CCl_4 uygulanmasının serum ALT ve AST enzim aktivitelerini arttırdığı, yüksek ve düşük doz sulu bitki ekstratı kullanılan gruplarda bu enzimlerin aktivitelerinde önemli düşüşler olduğu, ayrıca *Silybium marianum*'un pozitif kontrolünde ALT aktivitesinin sulu bitki ekstratı gruplarından daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Yang ve ark., 2013).

Park ve ark. (2007a), karbontetraklorür (500ul/kg. p.o.) uygulayarak akut karaciğer hasarı oluşturdukları ratlara, dandelionun (*Taraxacum officinale*) sıcak su ekstratını (DWE) 500mg/kg, 2g/kg oral olarak kullandıkları çalışmada, DWE

uygulaması ile artan serum ALT ve AST enzim aktivitelerinin anlamlı şekilde azaldığını belirtmişlerdir.

D-galoktozamin (650 mg/kg i.p) uygulayarak karaciğer toksikasyonu oluşturulan ratlarda dandelion (*Taraxacum officinale*) su ekstratının (DWE) hepatoprotektif etkisinin araştırıldığı çalışmada, hepatite bağlı olarak, karaciğer için spesifik olan enzim (AST, ALT, ALP) aktivitelerinin, tümör nekroz faktörünün ve oksidatif stres seviyesinin arttığı, DWE ile tedavinin bu etkilerin düzelmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Park ve ark., 2007b).

Başka bir çalışmada, CCl₄ (0,5 mg/kg i.p) uygulanarak karaciğer toksikasyonu üzerine *Scutellariae Radix*'den izole edilen bioaktif bir flavonoid olan baicalinin farklı dozları (25, 50, 100, 200 mg/kg i.p) ve CCl₄ uygulamasından 30 dk. önce ve 2 saat sonra silimarin (200 mg/kg i.p) kullanılmıştır. CCl₄ uygulamasından 24 saat sonra serum ALT ve AST aktivitelerinin belirgin bir şekilde arttığı, bu artışın 50 ve 100 mg / kg baicalin ve silimarin uygulanması ile engellendiği belirtilmiştir (Park ve ark., 2008).

Park ve ark. (2010a) dandelion yapraklarının sulu ekstratlarının (DLWE) farklı dozlarda (0.5 ve 2g/kg) kullanılması ile tek doz 0.5 mL/kg CCl₄'ün neden olduğu (CCl₄/olive oil; bw) hepatik karaciğer enzimlerindeki (AST, ALT, LDH) aktivite artışının azaldığını tespit etmişlerdir.

Park ve ark. (2010b), CCl₄ ile oluşturdukları oksidatif stres ve enflamasyonun üzerine *Taraxacum officinale*'nin iki polisakaritini (TOP1 ve 2), 304 ve 92 mg/kg olarak oral uygulamışlar, CCl₄'ün önemli derecede artırdığı serum AST ve ALT enzim aktivitelerinin TOP ile tedaviden sonra azaldığını bulmuşlardır.

Taraxacum officinale köklerinin etken maddesi olan seskiterpen lakton (SL) ve etanol (ETO) ekstratının CCl₄ kaynaklı hepatotoksositeye karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada, artan serum ALT, AST ve ALP enzim aktivitelerinin SL ve ETO ile tedaviden sonra azaldığı, sonuç olarak seskiterpen laktonların, farelerde

CCl₄ uygulaması ile oluşan akut hepatotoksisiteye karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Manesh ve ark., 2010).

Malki ve ark. (2013), dandelion (*Taraxacum officinale*) yaprağı ekstratının CCl₄ kullanılarak oluşturulan karaciğer harabiyetine karşı hepatoprotektif etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonunda CCl₄ tarafından karaciğer harabiyetinin oluştuğunu gösteren serum marker enzimlerinin (ALT, AST ve LDH) aktivitelerinin arttığını, *Taraxacum officinale* ile tedavi edilen hayvanlarda hepatositlerin normal fonksiyonel yeteneği kazandığını işaret edecek düzeyde bu enzimlerin aktivitelerinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada kontrol (K), *Silybum marianum* (SM), *Taraxacum officinale* (TO), CCl₄ (C), *Silybum marianum* + CCl₄ (SM + C), *Taraxacum officinale* + CCl₄ (TO + C) gruplarında sırasıyla ALT enzim aktiviteleri 37.85 ± 1.99, 35.71 ± 2.78, 37.28 ± 2.44, 94.14 ± 6.68, 60.51 ± 2.44, 66.25 ± 1.98, AST enzim aktiviteleri 112.14 ± 5.40, 92.00 ± 4.76, 95.71 ± 12.68, 213.00 ± 14.20, 137.00 ± 7.10, 144.00 ± 2.49, LDH enzim aktiviteleri 899.92 ± 197.32, 744.74 ± 169.87, 854.371 ± 248.88, 1957.41 ± 45.25, 1298.5 ± 172.58, 1406.44 ± 110.35 olarak tespit edildi.

Bu sonuçlara bakıldığında CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre, serum ALT, AST ve LDH enzim aktivitelerinin istatistik olarak önem gösterecek şekilde arttığı tespit edildi (p<0.001). CCl₄ ile birlikte koruyucu olarak *Silybum marianum* (SM) ve *Taraxacum officinale* (TO) ekstratları verilen gruplarda yükselen bu enzim aktivitesinin C grubuna göre azaldığı (p<0.05), en fazla azalmanın SM + C grubunda olduğu yine de kontrol grubundan yüksek olduğu tespit edildi. SM grubunda AST ve LDH enzim aktivitelerinin, TO grubunda ise AST enzim aktivitesinin kontrol grubundan istatistik olarak önem gösterecek şekilde düşük olduğu (p<0.05), bunun dışında SM ve TO gruplarının bakılan diğer serum parametreleri açısından kontrol grubu ile aynı olduğu bulundu.

Malondialdehit (MDA), çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında oluşmakta ve yaygın olarak lipid peroksidasyonun bir belirteci olarak kullanılmaktadır (Mansour, 2000).

Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'yı ölçerek lipit peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikal oluşumunu ölçerek izlemek mümkündür (Murray ve Droper, 1984). Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda, MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek, membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Mercan, 2004).

Natarajan ve ark. (2006) ve Ajiboye, (2011) yaptıkları çalışmalarda, CCl₄'ün sitokrom p 450 monoooksijenaz sistemi ile katalizlenerek triklorometil (CCl₃•) ve Cl⁻ radikalleri oluşturduğu ve bunun hidroksil radikallerde olduğu gibi lipit peroksidasyonunu başlattığı ve gruplarda CCl₄ uygulamasının MDA düzeyini arttırdığını bildirmişlerdir.

CCl₄ kaynaklı karaciğer hasarında antioksidan maddeler ve antioksidan enzim aktiviteleri, serbest radikal üretiminin inhibisyonunda ve karaciğer hücrelerinin korunmasında önem taşır (Campo ve ark., 2001).

Serbest radikal artışına ve lipit peroksidasyon oluşmasına bağlı olarak meydana gelen ürünlerle kolayca reaksiyona girerek metabolizma için zararlı olan bu ürünlerin ortamdan uzaklaştırılması için görev alan glutatyon, güçlü bir antioksidandır. Glutatyon (GSH) radikal kaynaklı hasara karşı koyarken antioksidan enzimlere substrat olarak görev yapar ve bir radikal tutucusu gibi davranır. Özellikle peroksidaz ve redüktaz enzimlerinin aktivitesi için son derece önemlidir (Ahmad, 1995). Serbest radikal hasarı ve lipit peroksidasyon ile glutatyon düzeylerinin araştırıldığı değişik çalışmalarda, lipit peroksidasyon ürünlerinde artış, glutatyon düzeylerinde azalmalar bulunmuştur (Yagi, 1994).

Glutatyon peroksidaz (GPx), toksik olan H₂O₂ ve hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar. GPx, GR ve GSH ile birlikte detoksifikasyon reaksiyonuna katılır. Ayrıca hem lipit peroksidasyonun başlamasını önler, hem de lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerin metabolizmasını sağlar (Christophersen, 1968; Baudrimont ve ark., 1997).

Glutasyon redüktaz (GR), NADPH yardımıyla okside glutasyonun (GSSG), redükte glutasyona (GSH) indirgenmesini katalize eder. Glutasyonun indirgenmiş halde kalması birçok antioksidan enzim aktivitesi için önemlidir (Halliwell ve Gutteridge, 2000).

Bir multienzim ailesi olan glutasyon transferazlar (GSH-S-transferaz) detoksifikasyon işleminden sorumludur. Alifatik heterosiklik radikaller, epoksitler ve bir çok genotoksik ksenobiotiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize eder (Baudrimont ve ark., 1997).

CCl₄ uygulanarak karaciğer toksikasyonu oluşturulan çalışmalarda, Üstündağ ve ark. (2005), karaciğer dokusunda lipit peroksidasyonunu ve MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığını, Wang ve ark. (2007), karaciğer doku MDA seviyelerinde anlamlı düzeyde arttığını, buna karşın GP_x enzim aktivitesinde düşme tespit etmişlerdir.

Karaciğer sirozu oluşturmak için 6 hafta süre ile haftada 3 kez (0,15 gr/100 gr) CCl₄ ün subkutan uygulandığı ratlarda, lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA ve antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler incelenerek hastalıkla olan ilişkileri araştırılmış, sirozlu grubun karaciğer MDA düzeylerinin kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek (p<0,05), GP_x enzim aktivitelerinin anlamlı şekilde düşük olduğu bulunmuştur (p<0,05). Sonuç olarak; sirozun antioksidant savunma sisteminde değişikliklere ve değişikliklerin de oksidatif stres ve peroksidasyona yol açabileceği sonucuna varılmıştır (Yılmaz ve Bahçecioğlu, 2000).

CCl₄ kullanılarak karaciğer toksikasyonu oluşturulan ratların karaciğerinde piknogenol (Yang ve ark., 2008) ve *Rosa canina*'nın (Kılıçgün ve Altınar, 2009) antioksidan etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, kontrol grubuna göre CCl₄ uygulanan ratların karaciğerinde MDA seviyesinin arttığı, GSH seviyesinin ve GST enzim aktivitesinin azaldığı belirtilmiştir.

Yormaz (2010), deneysel olarak oluşturulan parsiyel hepatektomide, *Silybum marinaum*'un karaciğeri serbest radikallerden koruyarak ve glutasyon üretimini artırarak, karaciğer rejenerasyonu üzerine olumlu etki gösterdiğini bildirmiştir.

Yang ve ark. (2013), CCl₄ uygulanan grupta, kontrol grubuna göre GSH seviyesinin ve GP_x enzim aktivitesinin istatistik olarak önem gösterecek şekilde düştüğü tespit edilmiştir. Silimarin grubu ile *A. capillaris*, *L. japonica* ve *S. Marianum* bitkilerinden elde edilen sulu ekstratın uygulandığı gruplarda GSH seviyesinin normal kontrol grubu seviyesinde olduğunu belirlemiştir. GP_x enzim aktivitesinin ise *A. capillaris*, *L. japonica* ve *S. Marianum* bitkilerinden elde edilen sulu ekstratın uygulanması ile yükseldiği, sadece silimarin grubu ile aynı GP_x enzim aktivitesine sahip olduğu, ayrıca diğer tedavi edilen gruplar ile karşılaştırıldığında silimarin grubunun en yüksek GR enzim aktivitesi gösterdiğini bulmuşlardır. MDA seviyesi bakımından farklı tedavi grupları arasında anlamlı bir fark olmadığını belirterek, geleneksel silimarine alternatif olarak bu bitkilerden elde edilen sulu ekstratın hepatoprotektif potansiyele sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

Park ve ark. (2007a) yaptıkları çalışmada karbontetraklorür ile toksikasyon oluşturulan grup ile karşılaştırdıklarında, dandelionun (*Taraxacum officinale*) sıcak su ekstratını (DWE) uyguladıkları grupta doza bağlı olarak katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve superoksit dismutaz enzim aktivitelerinin arttığını ve ayrıca farelerde CCl₄ kaynaklı akut karaciğer yaralanmalarında DWE'nin koruyucu bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Karaciğer toksikasyonu oluşturulan ratlarda, dandelion su ekstratı (DWE) nin hepatik antioksidan enzim (CAT, GP_x, GR, Mn-SOD) aktivitelerinde hafif yada önemli ölçüde artışa neden olduğu, sonuç olarak dandelionun kimyasal olarak meydana gelen yada viral hepatit için tedavi edici olarak kullanılabilceği bildirmişlerdir (Park ve ark., 2007b).

Park ve ark. (2008) CCl₄ uygulamasından sonra artan karaciğer dokusu MDA seviyesinin, baicalin farklı dozlarının kullanıldığı tüm gruplarda ve silimarin (200 mg/kg i.p) uygulanan grupta azaldığını, ayrıca toksikasyon oluşturulan grupta karaciğer GSH seviyesinin baicalinin 50 ve 100 mg/kg uygulanan gruplarda artarken, silimarin grubunda değişmediğini bulmuşlardır.

Yapılan başka bir çalışmada, CCl₄'e bağlı hepatotoksisiteyle birlikte karaciğer dokusu GSH seviyesinde önemli bir azalma, buna karşın hepatik lipit peroksidasyonunda artma olduğu belirtilmiştir. Etanolik ekstrat (ETO) ve siskiterpen lakton (SL) ile tedavilerin GSH seviyesini arttırarak ve lipit peroksidasyonu nu azaltarak oksidatif stresi önledikleri, böylece akut hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkiye sahip oldukları belirtilmiştir (Manesh ve ark., 2010).

Park ve ark. (2010a), karaciğer toksikasyonu oluşturup dandelion (*Taraxacum officinale*) yapraklarının sulu ekstratının (DLWE) farklı dozlarının koruyucu etkilerini araştırmışlardır. MDA seviyesinin CCl₄ uyguladıkları hayvanların karaciğer dokusunda, DLWE'nin pozitif kontrol ve kontrol grubuna göre istatistik açıdan önem gösterecek şekilde artarken, GSH seviyesinin azaldığı, bununla birlikte GR enzim aktivitesinin değişmediğini tespit etmişlerdir. CCl₄ ile birlikte DLWE'nin farklı dozlarının uygulandığı gruplarda MDA seviyesinin azaldığı, GSH seviyesinin, Mn-SOD ve GP_X enzim aktivitelerinin önem arz edecek şekilde arttığını, fakat GR enzim aktivitesinin yalnızca 0.5 g/kg DLWE uygulanan grupta istatistik açıdan önem gösterecek şekilde yükseldiğini bulmuşlardır. DLWE'nin GSH azalmasını önleyerek ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırarak CCl₄'ün neden olduğu hepatik zarara karşı koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Park ve ark. (2010b), yaptıkları başka bir çalışmada, karaciğerde oluşturulan oksidatif stres üzerine *Taraxacum officinale*'den (TOP) iki polisakaritin (TOP 1 ve 2) inhibitör etkilerini araştırmışlardır. Deneme sonunda tek doz CCl₄ kullanımının hepatik MDA seviyesini arttırdığı, GSH seviyesini azalttığı, SOD ve GR gibi antioksidan enzim aktivitelerini baskılandığını tespit etmişlerdir. TOP ile tedavi ile birlikte yukarıdaki parametrelerdeki değişikliklerin düzeldiğini, ilaveten CCl₄ uygulaması ile değişmeyen GP_X enzim aktivitelerinin, TOP uygulaması ile birlikte istatistik açıdan önem gösterecek şekilde arttığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak TOP'un CCl₄ tarafından oluşturulan karaciğer zararını önlemede ya da iyileştirici ajan olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Sunulan çalışmada, kontrol (K), *Silybum marianum* (SM), *Taraxacum officinale* (TO), CCl₄ (C), *Silybum marianum* + CCl₄ (SM + C), *Taraxacum*

officinale + CCl₄ (TO + C) gruplarında sırasıyla karaciğer dokusu MDA (µM) seviyesi, 0.85 ± 0.13, 0.8 ± 0.12, 0.91 ± 0.18, 1.68 ± 0.14, 1.21 ± 0.47, 1.33 ± 0.22, GSH (µM) seviyesi, 10.87 ± 0.61, 9.75 ± 0.26, 9.49 ± 0.58, 7.07 ± 0.32, 8.6 ± 0.73, 7.76 ± 0.66, GP_X (nmol/min/ml) enzim aktivitesi, 65.02 ± 16.92, 63.53 ± 19.36, 55.15 ± 12.14, 38.19 ± 8.69, 46.67 ± 7.82, 43.02 ± 11.94, GST (nmol/min/ml) enzim aktivitesi, 36.77 ± 4.43, 32.67 ± 4.14, 31.37 ± 2.73, 15.55 ± 3.38, 26.56 ± 4.41, 24.12 ± 3.36, GR (nmol/min/ml) enzim aktivitesi, 127.26 ± 27.88, 118.76 ± 25.16, 114.51 ± 18.31, 93.31 ± 25.17, 110.11 ± 10.60, 101.76 ± 26.29 olarak tespit edildi.

Bu sonuçlara bakıldığında lipit peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyinin CCl₄ verilen grupta kontrol ve diğer deneme gruplarına göre en yüksek olduğu (p<0.001), koruyucu olarak *Silybum marianum* (SM) ve *Taraxacum officinale* (TO) ekstratları verilen gruplarda CCl₄ grubuna göre MDA seviyesinin düştüğü, bu düşüşün SM grubunda daha fazla olduğu yinede kontrol grubundan yüksek olduğu belirlendi (p<0.05). SM + CCl₄ ve TO + CCl₄ gruplarında MDA seviyesinin düşük olması muhtemelen kullanılan ekstratların antioksidan etkileriyle oksidatif stresi azaltmalarının bir sonucudur.

Antioksidan parametreler açısından gruplar değerlendirildiğinde, CCl₄ grubunda karaciğer dokusu GSH düzeyinin ve GST enzim aktivitesinin kontrol grubuna ve diğer deneme gruplarına göre düşük olduğu, koruyucu olarak *Silybum marianum* (SM) ve *Taraxacum officinale* (TO) ekstratları verilen gruplarda, GSH düzeyi ve GP_X enzim aktivitesinin artış gösterdiği, bu artışın SM grubunda daha fazla olduğu, yine de kontrol grubundan düşük olduğu tespit edildi. Diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, GP_X ve GR enzim aktivitesinin CCl₄ grubunda en düşük olduğu, bununda istatistiksel olarak önem göstermediği tespit edildi (p>0.05). GP_X ve GR enzim aktiviteleri açısından bakıldığında en düşük seviyenin C grubunda olduğu, bu enzimler açısından gruplar arasında istatistik olarak fark olmadığı görüldü (p>0.05).

CCl₄'ün sitokrom P450 enzimi aracılığı ile serbest radikalleri yıkımı sonucu karaciğer dokusunda oksidatif hasar ve histopatolojik değişiklikler meydana gelir (Park ve ark., 2010a).

Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda, intraperitoneal yolla uygulanan CCl₄'ün karaciğerde dejenerasyon, nekroz, sinüzoidal dilateston, steatoz ve lobüler inflamasyon gibi histopatolojik hasarlara neden olduğu bildirilmiştir (Yang ve ark., 2008; Domitrovic ve ark., 2010; Manesh ve ark., 2010; Yormaz, 2010; Malki ve ark., 2013; Shaker ve ark., 2010; Yang ve ark., 2013).

Yapılan bu çalışmada da deneysel CCl₄ uygulamasının karaciğerde önemli ölçüde doku hasarına yol açtığı ve belirgin histopatolojik değişiklikler meydana getirdiği belirlendi. CCl₄ uygulanan ratların karaciğer dokusunda hepatositlerde şiddetli hidropik dejenerasyon, koagülasyon nekrozu ve mononükleer hücre infiltrasyonu şeklinde bulgular tespit edilmiştir. Bu durum biyokimyasal parametrelerle desteklenmiştir.

Deneysel olarak daha önce yapılmış olan çalışmalarda, CCl₄ toksisitesi sonucu karaciğerde oluşan oksidatif hasarın önlenmesinde *Taraxacum officinale* (Domitrovic ve ark., 2010; Malki ve ark., 2013) ve *Silybum marianum* (Shaker ve ark., 2010; Yormaz, 2010; Yang ve ark., 2013) bitki ekstratlarının etkili olduğu belirtilmiştir.

Ayrıca CCl₄ kaynaklı karaciğer fibrozu üzerine *Taraxacum officinale*'nin hepatik hücrelerin inaktivasyonu ve rejeneratif yeteneklerini geliştirerek terapötik etkisini gösterdiği belirtilmiştir (Domitrovic ve ark., 2010; Malki ve ark., 2013).

Yormaz (2010), karaciğer rezeksiyonu gibi mortalitesi ve morbiditesi yüksek olan ciddi operasyonların sonrasında, dokunun bütünlüğünü sağlayacak olan rejenerasyon olayında *Silybum marianum* kullanımının faydalı olacağını vurgulamıştır.

Bu çalışmada CCl₄ uygulamasına bağlı olarak karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin SM ve TO ekstratlarının verilmesi ile önemli ölçüde düzeldiği, SM + C grubunda çok az sayıda hepatositlerde hidropik dejenerasyon olduğu, TO + C grubunda ise portal bölgede hafif hidropik dejenerasyonlu hücrelere rastlanırken, koagülasyon nekrozunun hiç olmadığı tespit edildi..

CCl₄'ün oksidatif strese neden olarak, MDA seviyesini arttırdığı, bununla birlikte GSH seviyesi ve glutatyon metabolizması ile ilgili enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olduğu, bu değişikliklerin histopatolojik bulgularla desteklendiği tespit edildi. Ayrıca biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklerin antioksidan özelliğe sahip olan *Silybum marianum* (SM) ve *Taraxacum officinale* (TO) bitki ekstratlarının verilmesiyle düzelme gösterdiği, bunda SM'nin daha etkili olduğu belirlendi.

ÖZET

Karakuş A, Karaciğer toksikasyonunda *Silybum marianum* ve *Taraxacum officinale* ekstratlarının bazı biyokimyasal parametreler ve histopatoloji üzerine etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van 2014. Bu çalışmada, karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan karaciğer toksikasyonu üzerine *Silybum marianum* ve *Taraxacum officinale* bitki ekstratlarının koruyucu etkileri araştırıldı. Çalışmada 66 adet dişi Wistar albino rat Kontrol, *Silybum marianum*, *Taraxacum officinale*, CCl₄, *Silybum marianum* + CCl₄, *Taraxacum officinale* + CCl₄ grubu olmak üzere 6 gruba ayrıldı. *Silybum marianum* ve *Taraxacum officinale* bitki ekstratları 100 mg/kg/gün gavaj yolu ile CCl₄ ise 1.5 ml/kg (ip) uygulandı. Yirmi günlük deneme süresi sonunda, CCl₄ uygulanan grupta serum ALT, AST, LDH enzim aktiviteleri ile karaciğer doku örneklerinde MDA seviyesinin arttığı, GSH seviyesi ve GST enzim aktivitelerinin azaldığı tespit edildi (P<0.05). Mikroskopik incelemede ise CCl₄'ün karaciğerde hepatositlerde şiddetli hidropik dejenerasyon, koagülasyon nekrozu ve mononükleer hücre infiltrasyonuna neden olduğu belirlendi. CCl₄ ile birlikte *Silybum marianum* ve *Taraxacum officinale* bitki ekstratları verilen hayvanlarda serum ALT, AST, LDH enzim aktivitelerinin düştüğü, karaciğer dokusu MDA seviyesi azalırken GSH seviyesi ve GST enzim aktivitesinin arttığı tespit edildi. CCl₄ toksisitesinin neden olduğu histopatolojik değişikliklerin *Silybum marianum* ve *Taraxacum officinale* bitki ekstratlarının uygulanması ile düzeldiği görüldü. Bu değişikliklerin oluşmasında *Silybum marianum* ekstratının daha etkili olduğu belirlendi. Toksikasyon sonucu karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişikliklere karşı kullanılan bitki ekstratlarının düzeltici etki göstermesi ve bunun biyokimyasal olarak bakılan parametreler tarafından desteklenmesi; endojen ve/veya ekzojen kaynaklı karaciğer toksikasyonuna karşı *Silybum marianum* ve *Taraxacum officinale* ekstratlarının koruyucu ve tedaviyi destekleyici olarak kullanılabilceği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Karaciğer, karbon tetraklorür, oksidatif stres, *Silybum marianum*, *Taraxacum officinale*.

SUMMARY

Karakuş A., The effect of the *Silybum marianum* and *Taraxacum officinale* extracts in liver toxication on some biochemical parameters and histo-pathology. Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Biochemistry Department, PhD Thesis, Van 2014. In this work, the protective effect of the extracts of the plants *Silybum marianum* and *Taraxacum officinale* on the liver damage induced by carbon tetrachloride (CCl₄) was researched. 66 female Wistar albino rats were divided into six groups: Control, *Silybum marianum*, *Taraxacum officinale*, CCl₄, *Silybum marianum* + CCl₄, *Taraxacum officinale* + CCl₄. The *Silybum marianum* and *Taraxacum officinale* plant extracts were administered as 100 mg/kg/day by gavage. The CCl₄ was administered as 1.5 ml/kg (ip). At the end of the 20-day trial period, in the serums obtained from the animals, in the CCl₄ group it was found that the MDA level increased in the liver tissue samples as well as in the ALT, AST and LDH enzyme activities. It was also found that the GSH level and the GST enzyme activities decreased (P<0.05). The microscopic evaluations showed that the CCl₄ caused a violent hidropik degeneration, coagulation necrosis and mono-nuclear cell infiltration in the hepatositler in the liver. In the animals which were administered the CCl₄ and the *Silybum marianum* and *Taraxacum officinale* plant extracts together, it was found that the serum ALT, AST and LDH enzyme activities decreased, and that the MDA level decreased in the liver tissue, and that the GSH level and GST enzyme activities increased. It was observed that the histo-pathological changes caused by the CCl₄ toxicity were corrected by applying the *Silybum marianum* and *Taraxacum officinale* plant extracts. It was determined that the *Silybum marianum* was more effective. The plant extracts which were used against histo-pathological changes in the liver caused by toxication showed a corrective effect, which were supported biochemical parameters. It was concluded that the *Silybum marianum* and *Taraxacum officinale* extracts can be used as protective and supportive of treatment against liver toxication which has an endogenous and/or exogenous origin.

Keywords: Liver, carbon tetrachloride, oxidative stress, *Silybum marianum*, *Taraxacum officinale*.

KAYNAKLAR

- Acartürk R (1996). Şifalı bitkiler flora ve sağlığımız. Orman genel müdürüğü vakfı, Ankara.
- Adewole SO, Salako AA, Doherty OW, Naicker T (2007). Effect of melatonin on carbon tetrachloride- induced kidney injury in wistar rats. *African Journal of Biomedical Research*, 10, 153-164.
- Ahmad S (1995). Antioxidant mechanisms of enzymes and proteins (S. Ahmad Editor), oxidative stress and antioxidant defences in biology. *Chapman and Hall America*, 238-265.
- Ajiboye TO (2011). In vivo antioxidant potentials of *Piliostigma thonningii* (Schum) leaves: Studies on hepatic marker enzyme, antioxidant system, drug detoxifying enzyme and lipid peroxidation. *Human and Experimental Toxicology*, 30, 1, 55-62.
- Akarca US (2007). Karaciğer fonksiyon testi yüksekliğine tanısal yaklaşım. 9. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, 147- 149.
- Akkuş İ (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya Mimoza Yayınları, (1.Baskı), 1-84.
- Aktay G, Deliorman D, Ergun E, Ergun F, Yeşilada E, Çevik C (2000). Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *Ethnopharmacology*, 73, 121-129.
- Altınsoat Ç, Sert NN (2008). Gebe ve gebe olmayan sıçanlarda karbon tetraklorürün (CCI4) bazı biyokimyasal değerler üzerine olan etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14, 2, 237-242.
- Amim MM, Sawhney SS, Jassl MS (2013). Comparative antioxidant power determination of *Taraxacum officinale* by FRAP and DTPH Method. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 4, 221.
- Anonim (2014a). http://www.itemfraunhofer.de/reni/trimming/img_1/liver_m_1.jpg Erişim Tarihi: Mayıs 2014.
- Anonim (2014b). http://www.itemfraunhofer.de/reni/trimming/img_1/liver_m_1.jpg Erişim Tarihi: Mayıs 2014.
- Anonim (2014c). <https://www.google.com.tr/search?q=Silybum+marianum>. Erişim Tarihi: Mayıs 2014
- Anonim (2014d). <https://www.google.com.tr/search?q=taraxacum+officinale>. Erişim Tarihi: Mayıs 2014

- Arıncı K, Elhan A (2001). *Anatomi*. Güneş Kitapevi, 1, 390, Ankara.
- Basaga HS (1990). Biochemical aspects of free radicals. *Biochemistry and Cell Biology*, 68, 989-98.
- Basu S (2003). Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189, 113-127.
- Baudrimont I, Ahouandjivo R, Creppy EE (1997). Prevention of lipid peroxidation induced by ochratoxin A in vero cells in culture by several agents. *Chemico-Biological Interactions*, 104, 29-40.
- Bayşu Sözbilir N, Bayşu N (2008). *Biyokimya*. Güneş Tıp Kitapevleri, 1. Baskı. Ankara.
- Blumenthal M, Busse W, Goldber A, Gruenwald J, Hall T, Riggins W, Klein S (1998). The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines, American Botanical Council and Integrative Medicine Communications. *Medicine Communications*, TX, 685–698.
- Blumenthal M (2000). Herbal medicine expanded commission e monographs. *Integrative Medicine Communications*, 257-263.
- Burak M, Çimen Y (1999). Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 19, 296-304.
- Burtis CA, Ashwood ER (1999). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. W.B., Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
- Campo GM, Squadrito F, Ceccarelli S, Calo M, Avenoso A, Campo S (2001). Reduction of carbon tetrachloride-induced rat liver injury by IRFI 042, a novel dual vitamin E-like antioxidant. *Journal of Free Radical Research*, 34, 379-93.
- Chisari FV, Ferrari C (1995). Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annual Review of Immunology*, 13, 29-60.
- Christophersen BO (1968). Formation of monohydroxy-polyenic fatty acids from lipid peroxides by a glutathione peroxidase. *Biomembranes*, 164, 35-46.
- Czinner E, Hagymási K, Blázovics A, Kéry Á, Szöke É, Lemberkovics É (2000). In vitro antioxidant properties of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 437-443.
- Das SK, Mukherjee S (2012). Biochemical and immunological basis of silymarin effect, a milk thistle (*Silybum marianum*) against ethanol-induced oxidative damage. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 22, 5, 409-413.

- Dashti H, Jeppsson B, Hagerstrand I, Hultberg B, Srinivas U, Abdulla M, Bengmark S (1989). Thioacetamide and carbon tetrachloride induced liver cirrhosis. *European Surgical Research*, 21, 83-91.
- Davis PH (1982). Flora of Turkey and the east aegean islands. *Edinburg University Press*, Edinburg.
- De Groot H, Rauen U (1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effect of flavanoids. *Fundam, Clinical Pharmacology*, 12, 3, 249-255.
- Devi MR, Sivasubramanian N, Gupta VRM, Sree GPB, Telrandhe UB (2010). Hepatoprotective activity of *Ficus mollis* (Vahl) leaf extract on CCl₄ induced hepatic damage in Wistar albino rats. *Biological and Chemical Sciences*, 1, 4, 338-343.
- Domitrovic R, Jakovac H, Tomac J, Sain I (2009). Liver fibrosis in mice induced by carbon tetrachloride and its reversion by luteolin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 241, 311-321.
- Domitrovic R, Jakovac H, Romić Z, Rahelić D, Tadić Z (2010). Antifibrotic activity of *Taraxacum officinale* root in carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 130, 569–577.
- Dringen R, Pawlowski PG, Hirrlinger J (2005). Peroxide detoxification by brain cells. *Journal of Neuroscience Research*, 79, 157-65.
- Dursun N (2001). Veteriner Anatomi II. Medisan Yayınevi, 7.Baskı, 63-70, Ankara.
- Düzcan B (2010). Karahindiba (*Taraxacum officinale*) bitkisinden süperoksit dismutaz ve peroksidaz enzimlerinin karakterizasyonu. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya.
- Fahmy SR, Hamdi SAH, Abdel-Salam HA (2009). Curative effect of dietary freshwater and marine crustacean extracts on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 3, 2118-2129.
- Fraschini F, Demartini G, Esposito D (2002). Pharmacology of silymarin. *Clinical Drug Investigation*, 22 1, 51-65.
- Fortea MI, Lopez-Miranda S, Serrano-Martinez A, Carreno BJ, Nunez-Delgado E (2009). Kinetic characterisation and thermal inactivation study of polyphenol oxidase and peroxidase from table grape (Crimson Seedless). *Food Chemistry*, 113, 1008–1014.
- Foulis PR, Sandford BH, Gottfried M (1988). Drug induced morphologic changes in the liver. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 18, 215-228.

Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A (2008). Curcumin protects the rat liver from CCl₄ caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Molecular Pharmacology*, 73, 399-409.

Galati EM, Mondello MR, Lauriano ER, Taviano MF, Galluzzo M, Miceli N (2005). Opuntia ficus indica (L.) Mill. fruit juice protects liver from carbon tetrachloride-induced injury. *Phytotherapy Research*, 19, 796-800.

Gowri Shankar NL, Manavalan R, Venkappayya D, David Raj C (2008). Hepatoprotective and antioxidant effects of Commiphora berryi (Arn) Engl bark extract against CCl₄-induced oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3182-5.

Göker B, Özmen R (2009). Sıçanlarda ısırğan otu (*Urtica dioica* L.) yaprağı ile beslenmenin akut karbon tetraklorür uygulamasına bağı gelişen karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 23, 2, 77-80.

Gutteridge JMC (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41,12, 1819-1828.

Günşar F (2003). Karaciğer enzim profilindeki değişikliklerde yaklaşımlar. *Güncel Gastroenteroloji*, 7, 3, 192-203.

Güven A, Maraşlı N, Kaya N (2003). Changes in the lipid peroxide status of geese in chronic carbon tetrachloride poisoning. *Indian Veterinary Journal*, 80, 508-510.

Halliwell B, Gutteridge JMC (2000). Free Radical in Biology and Medicine Third ed. *Oxford University Press*, Oxford, 160-165.

Handa SS, Sharma A (1990). Hepatoprotective activity of andrographolide from *Andrographis paniculata* against carbontetrachloride. *Indian Journal Medicine Research*, 92, 276-283.

Harish R, Shivanandappa T (2006). Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*. *Food Chemistry*, 95, 180-185.

Hernandez R, Diaz M, Lopez V, Lopez F, Yanez L, Virdio S, Aranda A (1997). Balance between oxidative damage and proliferative potential in an experimental rat model of CCl₄ -induced cirrhosis, Protective role of adenosine administration. *Hepatology*, 26, 1100-1110.

Hsiao G, Lin YH, Lin CH, Chou DS, Lin WC, Sheu JR (2001). The protective effects of PMC against chronic carbon tetrachloride - induced hepatotoxicity in vivo. *Pharmaceutical Bulletin*, 24,11, 1271-1276.

Ilanchezian R, Roshy JC (2010). Hepatoprotective and hepatocurative activity of the traditional medicine ketaki (*Pandanus odoratissimus* Roxb.) - An experimental evaluation. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 5, 6, 212-218.

Jensen SJK (2003). Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure* (Theochem), 666-667, 387-392.

Junqueira LC, Carneiro J (2003). Basic Histology 10th Edition. New York. *McGraw Hill Companies Incorporated*, 332-344.

Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T (2000). Klinik Biyokimya. *Medisan Yayınları*, 45, Ankara.

Kılıçgün H, Altiner D (2009). Karbontetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda *Rosa canina*'nın (Kuşburnu) in vivo antioksidan etkisi. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 30, 2, 10-16.

Kutlu T (2006). Neonatal kolestaz tanımı ve etyopatogenezi. *Güncel Pediatri* 4, 1, 119-121.

Kuzu N, Metin K, Dagli AF, Akdemir F, Orhan C, Yalniz M, Ozercan IH, Sahin K, Bahcecioglu IH (2007). Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. *Mediators Inflamm*, 36381.

Lee KJ, Choi JH, Jeong HG (2007). Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and cafestol on carbontetrachloride induced liver damage in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2118-2125.

Li D, Friedman SL (1999). Liver fibrogenesis and the role of stellate cells : New insights and prospects for therapy. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 14, 618-633.

Lida C, Fujii K, Koga E, Washino Y, Kitamura Y, Ichi I, Abe K, Matsura T, Kojo S (2009). Effect of alpha-tocopherol on carbon tetrachloride intoxication in the rat liver. *Archives of Toxicology*, 83, 5, 477-483.

Luna L (1968). Manual of Hstologic Staining Methods; of the Armed forces Institute of Patology.

MacDonalds-Wicks L.K, Garg M.L, (2003). Vitamin E supplementation in the mitigation of carbon tetrachloride induced oxidative stress on rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 211-218.

Malki LA, Golayell MKA, Elnaga GA, Beshri HA (2013). Hepatoprotective effect of dandelion (*Taraxacum officinale*) against induced chronic liver cirrhosis. *Academic Journals*, 7, 20, 1494-1505.

Manesh A, Jeyachandran R, Cindrella L, Thangadurai D, Veerapur VP, Muralidhara Rao D (2010). Hepatocurative potential of sesquiterpene lactones of *Taraxacum officinale* on carbon tetrachloride induced liver toxicity in mice. *Acta Biology Hungaria*, 61, 2, 175-90.

Mansour MA (2000). Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine aganist hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice. *Life Sciences*, 66, 26, 2583-2591.

Memişoğulları R (2005). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.

Menteş G, Ersöz, B, Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW (1993). Harper'ın Biyokimyası. 22 Baskı, İstanbul.

Mercan U (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 12, 91-96.

Meriçli AH (1984). Türkiye'nin değişik bölgelerinde yetişen *silybum marianum* türlerinin meyvelerinin flavonolignan bileşikleri yönünden incelenmesi. *Doğa Bilim Dergisi*, 8, 2, 203.

Miliauskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plantextracts. *Journal of Food Chemical*, 85, 231-237.

Mrino DM, Gala F, Borbone N, Zollo F, Vitalini S, Visioli F, Iorizzi M (2007). Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluatio of antioxidative activity. *Phytochemistry*, 68, 13, 1805-1812.

Mukai T, Mera K, Nishida K, Nakashima M, Sasaki H, Nakamura J (2004). Pharmacokinetics of phenol red in rat models of liver damage prepared by liver targeting of carbon tetrachloride. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27, 4, 595-597.

Murray RKJ, Droper HH (1984). Comperative studies on different methods of monoaldehyde detennination. *Methods in Enzmology*, 105, 299-305.

Nadkarni GD, Souza NB (1988). Hepatic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis in rats. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology*, 40, 42-45.

Natarajan SK, Thomas S, Ramamoorthy P, Basivireddy J, Pulimood AB, Ramachandran A, Balasubramanian KA (2006). Oxidative stress in the development of liver cirrhosis: A comparison of two different experimental models. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 21, 947-957.

Navarro-Gonzalves JA, Garcia-Benayas C, Arenas J (1998). Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. *Clinical Chemistry*, 44, 679-681.

Nelson DL, Cox MM (2004). Lehninger Principles of Biochemistry. Fourth Edition. *Freeman and Company Faculty of Agriculture*, Tamagawa University, 25, 13-22.

Noyan T, Kömüroğlu U, Bayram İ, Sekeroglu MR (2006). Comparison of the effects of melatonin and pentoxifylline on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in mice. *Cell Biology and Toxicology*, 22, 381-391.

Ody P (1999). Simple healing with herbs, herbal treatment for more than 100 common ailments. *Hardcover*, 123-124.

Oh WY, Pyo S, Lee KR, Lee BK, Shin DH, Cho SI, Lee SM (2003). Effect of *Holotrichia diomphalia* larvae on liver fibrosis and hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 175-180.

Okar MB (2011). Ratlarda deneysel hepatik rezeksiyon modelinde *Silybium marianum*'un karaciğer rejenerasyon ve anjiogenezis üzerine etkileri. Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara.

Özgülven M, Koçak R (1989). VIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı. Cilt II İstanbul, 279-283.

Özoran Y (1987). Hücre Zedelenmesi ve Adaptasyonu. Güneş Kitabevi, Ankara, 9-10.

Park C, Zhou Y, Song YS (2007a). Hepatoprotective effect of dandelion (*Taraxacum officinale*) against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in sprague-dawley rats. *The FASEB Journal*, 21, 862-868.

Park JY, Kim JJ, Park CM, Noh KH, Song YS (2007b). Hepatoprotective activity of *Taraxacum Officinale* Water Extract against D-galactosamine-induced hepatitis in rats. *The FASEB Journal*, 21, 847-857.

Park SW, Lee CH, Kim YS, Kang SS, Jeon SJ, Son KH, Lee SM (2008). Protective effect of baicalin against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice. *Journal Pharmacology Science*, 106, 1, 136-143.

Park CM, Cha YS, Youn HJ, Cho CW, Young SS (2010a). Amelioration of oxidative stress by dandelion extract through CYP2E1 suppression against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in sprague-dawley rats. *Phytotherapy Research*, 24, 1347-1353.

Park CM, Youn HJ, Chang HK, Song YS (2010b). TOP1 and 2, polysaccharides from *Taraxacum officinale*, attenuate CCl₄-induced hepatic damage through the

modulation of NF- κ B and its regulatory mediators. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1255-1261.

Poli G (1993). Liver damage due to free radicals. *British Medical Bulletin*, 49, 3, 604-620.

Robbins SL, Cotran RS, Kumar V (2000). Basic Pathology. 6th Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia 516-519.

Saller R (2001). The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*, 61, 2035-2063.

Sancak B, Cumhuri M (2004). Fonksiyonel Anatomi. 3.baskı, 226-232, ODTÜ yayıncılık, Ankara.

Scandalios JG (2002). The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences*, 27, 483-486.

Schutz K, Carle R, Schieber A (2006). Taraxacum – a review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 313–323.

Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S (2010). Silymarin, the antioxidant component and Silybum marianum extracts prevent liver damage. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 803- 806.

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

Simanek V, Walterova D, Vicar J, Urbanikova J, Kren V, Modrianski M, Skottova N, Ulrichova J (2001). Silymarin, extract from the milk thistle (*Silybum marianum*) – medicine or a nutraceuticals. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 50, 66–69.

Solomon EP (1997). İnsan Anatomisi ve Fizyolojisine Giriş. Birol Kitabevi, İstanbul.

Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235, 4792, 1043-1046.

Sturgill MG, Lambert GH (1997). Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function. *Clinical Chemistry*, 43, 8, 1512–1526.

Şentürk H, Kolankaya D, Şahin Y (2010). Renal iskemi reperfüzyonu sırasında sıçan böbreğinde oluşan oksidatif stres hasarına silimarin etkisi. Çankaya University, *Journal of Science and Engineering*, 7, 59–74.

Tanker M, Tanker N. (1998). Farmakognozi. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara. 213-214.

Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M (2004). Farmasotik Botanik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 88, 281, 324-325.

Tanrıverdi G (2005). Karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulmuş karaciğer hasarında değişik dozlardaki nikotinamidin protektif etkisinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Taylor CR, Cote AJ (1994). Immunomicroscopy: A diagnostic tool for the Surgical Pathologist. 2. nd Ed, Saunders Company, Philadelphia, USA.

Townsend MC, Beauchamp RD (2001). Liver. In: Meyers WC, Chan RS (Eds). Sabiston Textbook of Surgery 16 th. WB Saunders Company, Philadelphia. 997-1059.

Tümgör G, Arıkan Ç, Aydoğdu, S (2005). Çocukluk çağının tanınmış problemleri kolestatik hastalığı: ilerleyici ailevi intrahepatik kolestaz. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48, 355-360.

Üstündağ B, Bahçecioglu İH, Şahin K, Gülcü F, Düzgün S, Özeran İH, Gürsu MF (2005). Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCl₄) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19, 4, 263-271.

Üstüner MC (2006). Karaciğerde tümör oluşmasına neden olan dietilnitrozamin ve 2-asetilaminofloran uygulanmış sıçanlarda demetoksiviridin ve 1- α -hidroksi demetoksiviridin'in etkileri. ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 89.

Wallace AD, Meyer SA (2010). Hepatotoxicity, Chapter 13, A text book of modern toxicology. Editor Hodson E, Fourth Edition, 277-290.

Wang C, Ma F, Liu J (2007). Protective effect of salvianic acid on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. *Biological Pharmaceutical* 30, 1, 44-47.

Weber LW, Boll M, Stampfl A (2003). Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews Toxicology*, 33, 105-36.

Wood ES, Simith CA (1991). Molecular and Cell Biochemistry. Chapman and Hall, Hong Kong.

Wu J, Danielsson A, Zern MA (1999). Toxicity of hepatotoxins: new insights into and therapy. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 8, 585-607.

Yagi K (1994). Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic disease, free radicals in diagnostic medicine. Ed. Armstrong D Plenum, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 366, 165-169.

Yang Y, Ahn T, Lee J, Moon CJ, Kim SH, Jun W, Park SC, Kim HC, Kim JC (2008). Protective effects of pycnogenol on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in sprague-dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1, 380-387.

Yang CC, Fang JY, Hong TLg, Wang TC, Zhou YE, Lin TC (2013). Potential antioxidant properties and hepatoprotective effects of an aqueous extract formula derived from three Chinese medicinal herbs against CCl₄-induced liver injury in rats. *International Immunopharmacology*, 15, 106-113.

Young JM, Xiaodong W, Marilya EM (2006). Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. *Toxicology in Vitro*, 20, 2, 187-210.

Yılmaz S, Bahçecioğlu İH (2000). Karbontetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzim ve pirüvat kinaz aktiviteleri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24, 25-25.

Yormaz S (2010). Deneysel parsiyel hepatektomide N asetil sistein, propofol, E vitamini, *Silybum marianumun* karaciğer rejenerasyonu etkilerinin karşılaştırılması. Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş.

Zeybek N, Zeybek U (1994). Farmasötik Botanik. Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi.

Zheng W, Wang SY (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5165-5170.

ÖZGEÇMİŞ

Mersin'in Gülnar ilçesinde 1979 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini Mersin'de tamamladı. 2000 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Biyoloji bölümünü bitirdi. 2005 yılında Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Öğrenimini tamamladı. 2010 yılında Hakkari Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'na Öğretim Görevlisi olarak atandı. 2011 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı'nda Doktora Öğrenimi görmeye hak kazandı.

EKLER

Ek-1: YYU Hayvan DeneYleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Başvuru Onay Belgesi

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAşTIRMA BAşVURU ONAY BELGESİ

Araştırmanın Adı	Karaciğer Toksikasyonu Oluşturulan Ratlarda <i>Silybum marianum</i> ve <i>Taraxacum officinale</i> Ekstratlarının Bazı Biyokimyasal Parametrelere ve Histopatoloji Üzerine Etkisi
Araştırmanın Yürütücüsü	Prof. Dr. Yeter DEĞER
Yardımcı Araştırcılar	Doktora Öğr. Ali KARAKUŞ
Kurumu	Veteriner Fakültesi
Araştırmanın Tahmini Süresi	20 Ay
Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan 66 Adet
Destekleyecek Kuruluş (lar)	YYÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı
Başvuru Tarihi	23.09.2013

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2013/10-...	Tarih:03.10.2013
	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Prof. Dr. Yeter DEĞER sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği /oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırcılarda değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) DeneY hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ	
BASKAN Prof. Dr. İdris TÜREL	BASKAN YARDIMCISI Prof. Dr. Hasan ÜLKER
ÜYELER	
Prof. Dr. Murat DEMİREL	Prof. Dr. Duran BOLAT
Doç. Dr. Fazıl ŞEN	Doç. Dr. Fatma İLHAN
Doç. Dr. Sıddık KESKİN	Yrd. Doç. Dr. Birkan Taha ÖZKAN
Yrd. Doç. Dr. Fağh GARÇA	Yrd. Doç. Dr. Atilla DURMUŞ
Yrd. Doç. Dr. Barış Atalay USLU	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU
Vet. Hek. Yrd. Doç. Dr. Yıldıray BAŞBUĞAN	Orhan SOFUOĞLU (Sivil Üye)

*Bu form YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.

Ek-2: YYU Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi



T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ

YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı	Karaciğer Toksikasyonu Üzerine Silybum Marianum ve Taraxacum Officinele Ekstratlarının Bazı Biyokimyasal Parametreler ve Histopatoloji Üzerine Etkisi
Title of the Research	Effect of <i>Silybum marianum</i> and <i>Taraxacum officinale</i> Extracts on Some Biochemical Parameters and Histopathology on Liver Toxicity
Araştırmacı(lar) Investigator(s)	Yürütücü / Chief investigator : Prof.Dr.Yeter DEĞER Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s): Ali KARAKUŞ
Araştırmanın Başlama Tarihi / Research Starting Date:	23.09.2013
Araştırmanın Bitiş Tarihi / Research Completion Date:	08.07.2014
Proje Süresi / Total Time of Project:	20 Ay / 20 Months
Proje No / Project Number:	SBE-D038
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / Funding institution(s) (if available):	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı/ Scientific Research Projects Department of Yüzüncü Yıl University
Destek Şekli ve Miktarı / Type and amount of funding:	15 000 TL
Karar:	Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 17/07/2014 tarih ve 2014/09 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 17/07/2014 (decision number 2014/09).
	Başkan / Chair Prof. Dr. İdris TÜREL Üyeler / Members
Prof. Dr. Duran BOLAT	Prof. Dr. Hasan ÜLKER
Prof. Dr. Sıddık KESKİN	Doç. Dr. Fazıl ŞEN
Doç. Dr. Fatma İLHAN	Doç. Dr. Atilla DURMUŞ
Doç. Dr. Barış Atalay USLU	Doç. Dr. M. Fatih GARÇA
Yrd. Doç. Dr. Birkan Taha ÖZKAN	Vet. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN
Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	Orhan SOFUOĞLU (Sivil Üye)